

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: **elisa@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. Cambio en la estrategia para la lucha contra la lepra	407
TRABAJOS CIENTÍFICOS Y COLABORACIONES	
Casística de pacientes de enfermedad de Hansen evaluados y estudiados en Pabellón Padre Ferrís, Sanatorio San Francisco de Borja. Fontilles. – <i>Dra. Beatrice Ratto de Boracchia</i>	409
Evolución de las lesiones óseas en enfermos de Hansen en alta terapéutica: a propósito de 3 casos. – <i>Dr. J. R. Gómez Echevarría, Fátima Moll Cervera, M.^a Olárizu Díez Orive</i>	415
El dolor neuropático en la lepra. – <i>Dres. Maija Haanpää, Diana N. J. Lockwood, Aki Hietaharju</i>	423
Ensayo colorimétrico de hibridación en microplacas para la detección de <i>Mycobacterium leprae</i> 16S rRNA en muestras clínicas. – <i>Yoseph Haile, Judith J. Ryon</i>	441
NOTICIAS	
Curso Residentes Tercer Año Dermatología Novartis	455
Máster en Salud Internacional y Medicina Tropical	456
ÍNDICE DE REVISTAS	
Bacteriología e Inmunología.	457
Patología, Fisiopatología y Bioquímica.	466
Lepra Experimental.	468
Clínica y Diagnóstico.	469
Terapéutica.	470
Cirugía, Fisioterapia y Rehabilitación Física.	475
Epidemiología. Prevención y Control.	477
Psicología, Educación y Rehabilitación Social.	484
Generalidades e Historia.	484
Otras Micobacterias	486

EDITORIAL

CAMBIO EN LA ESTRATEGIA PARA LA LUCHA CONTRA LA LEPROA

El observador ajeno, pero interesado, recibe en los últimos tiempos información contradictoria sobre el "estado de la cuestión" ¿se ha conseguido eliminar la lepra? ¿Cómo es que se registran más de 600.000 nuevos casos cada año? ¿Cómo, con cifras de prevalencia en muchas zonas superiores al 1/10.000, algunos países han suspendido su programa de lucha contra la lepra, amparándose en que han alcanzado el objetivo de que la prevalencia en todo el país no llega a ese 1/10.000 y que, por tanto, según la Organización Mundial de la Salud, ha dejado de ser un problema de salud pública?

En consecuencia, uno se pregunta ¿dónde estamos?, ¿qué hay que hacer? Fontilles, y todos los otros miembros de la Federación Internacional de Lucha contra la Lepra (ILEP), están revisando su estrategia de trabajo. Los hechos son incuestionables: cada año se detectan nuevos casos y si estos casos no se tratan adecuadamente, el daño de la enfermedad se seguirá expandiendo. Se necesita pues, y sobre todo, que la detección temprana sea fortalecida y adecuadamente estructurada. Todos los miembros de ILEP consideran que no es el momento de lanzar las campanas al vuelo por indudables éxitos, sino que es el momento de replantearse qué hay que hacer.

En esta línea, recientemente en Londres, con motivo del Foro Técnico de la Federación, se discutió y fijó como principio de la estrategia en esta situación que la misión de todos es tratar de mantener la lepra en la agenda de la comunidad sanitaria y que no pase, como ha sido el caso en España. Creyendo que la tuberculosis está erradicada, se bajó la guardia y en este momento tenemos una casuística de 16 por 100.000 habitantes. (Es decir una prevalencia superior a lo que la OMS para la lepra considera un problema de salud pública.) De acuerdo con esta preocupación, se ha incorpo-

rado a la futura estrategia el compromiso de apoyar la integración de los servicios sanitarios derivados de la enfermedad de Hansen en el sistema general de asistencia sanitaria, al margen del cada vez mayor e intenso trabajo de cada uno de los miembros apoyando económicamente y con personal técnico los proyectos que por más de 62 millones de euros anuales se llevan a cabo para reducir el número de enfermos en 93 países.

Max Ebstein

TRABAJOS CIENTÍFICOS Y COLABORACIONES

CASUÍSTICA DE PACIENTES DE ENFERMEDAD DE HANSEN EVALUADOS Y ESTUDIADOS EN PABELLÓN PADRE FERRÍS SANATORIO SAN FRANCISCO DE BORJA – FONTILLES

BEATRICE RATTO DE BORACCHIA*

RESUMEN

Se llevó a cabo un estudio de casuística en casi el total de los pacientes ingresados en el Sanatorio San Francisco de Borja, Fontilles. Primero se estudiaron las reacciones del paciente y de la familia; actitudes y compromisos. Segundo, se estudió la aceptación al tratamiento, la actitud a la internación hospitalaria y la reacción familiar al tratamiento específico. Tercero, se estudian específicamente la conducta y reacciones psíquicas y emocionales en los pacientes. Cuarto, se estudió si había o no problemas de personalidad y/o psiquiátricos existentes antes y/o aparecidos después del diagnóstico de lepra.

Como conclusión, se hace correlaciones a la psicopatología como consecuencia de la enfermedad de Hansen, así como neurosis existentes, resentimiento, estrés, aversión a la enfermedad, depresiones, suicidio y otras formas, reacciones sociales, estigma y rechazo. También reacciones como resultado de la estimulación psicointelectual y del tratamiento farmacológico durante la hospitalización, especialmente de los pacientes pasivo-dependientes, pseudo narcisistas, paranoides y esquizofrénicos; y de estos últimos su afinidad con la lepra.

SUMMARY

A study was carried out on almost all the patients of the Sanatorium San Francisco de Borja, Fontilles. First were studied all the reactions of the patients and their families; compromises and attitudes. Second was studied acceptance to hospital intervention, attitude and family reaction to the specific treatment. Third were studied all specific reactions, emotional and psychological, of all the patients. Fourth were studied all the possibilities of the patients having or having not, personality and/or psychiatric disorders existing before or appeared after they were diagnosed of leprosy.

* Médica Diplomada en la Universidad de Buenos Aires, Argentina. Psiquiatra Diplomada en la Univ. de Toronto, Canadá. Consultante-asesora médica psiquiatra del Sanatorio San Francisco de Borja, Fontilles, Alicante. Profesorado del Curso Internacional de Leprología.

As a conclusion was made psychopathological correlations as a consequence of Hansen's disease as well as pre-existent neurotic, resentments, stress, fear of the disease, depressions, suicide and other forms of social reactions, stigma and rejection.

Also were studied patients' reactions as a result of psychointellectual stimulation and pharmacological treatment during hospitalization, specially of passive-dependent, pseudo narcissists, paranoid and schizophrenic patients and their latest affinity with leprosy.

REACCIÓN DEL PACIENTE AL RECIBIR EL DIAGNÓSTICO DE LEPROA

Sin excepción, todos los pacientes sufrieron un shock emocional, independientemente de su edad. Aunque algunos de ellos eran aún niños, muy rápido comprendieron que estaban "enfermos" de un "mal incurable y contagioso", viéndose potencialmente rechazados por la sociedad. Los más adultos sufrieron reacciones más severas. La actitud que desarrollaron a continuación fue de "miedo" y "enojo"; reacción muy humana al saberse infectado por la enfermedad de Hansen.

REACCIÓN DE LA FAMILIA

La reacción familiar puede dividirse en tres partes: un grupo reaccionó mal, con un sentido de desesperación y temor al contagio optando por rechazar al enfermo y tratando de ubicarlo fuera de la casa familiar lo antes posible.

Otro grupo tuvo una reacción menos dramática y trataron de ayudar al paciente alternándolo con hospitalización y tratamiento médico.

El tercer grupo fue más benevolente y aceptó la situación en forma más humana, dándole soporte emocional y psíquico, como así vigilar y seguir orden médica para el tratamiento. Los tres grupos sufrieron la aprehensión a la enfermedad y el miedo derivado a lo desconocido, pero casi todos se comprometieron de una forma u otra a que el paciente recibiera la debida atención médica, especialmente aquellos que recibieron informe y explicaciones acerca de la enfermedad de Hansen, su tratamiento y pronóstico.

ACEPTACIÓN DEL TRATAMIENTO

El 99% de los pacientes aceptó el tratamiento, algunos con dudas y mucha incertidumbre y con temor a los medicamentos específicos. Los que fueron hospitalizados sufrieron una gran variedad de reacciones psico-emocionales y también severas reacciones físicas durante el tratamiento específico.

Todas las familias aceptaron el plan de tratamiento con la gran esperanza de que sus familiares enfermos recobrarán la salud lo antes posible. Cooperaron con el facultativo y también aportaron estímulo positivo independiente del grupo social al que pertenecían. Otros se desligaron del paciente, abandonándolos a los cuidados

asistenciales (Miedo?, Reyección?), con las desastrosas implicaciones psico-emocionales para el paciente, como así todos los problemas sociales e interactivos.

CONDUCTA Y REACCIONES PSICO-EMOCIONALES DE PACIENTES CON LEPROSA

La sensación devastante se observó de forma rápida y la psicopatología se presentó de forma variada.

Un 70% de los pacientes estudiados adoptó una conducta sumisa y de aceptación. Del 30% restante, un 22% reaccionó ambiguamente, objetando y aceptando el tratamiento indiscriminadamente. El 0.8% restante adoptó una conducta reacia y rebelde, verbalizando en que no creían en el tratamiento ni en los medios hospitalarios. Estos pacientes fueron muy difíciles de tratar, pero la mayoría sufrió cambios de conducta y parecer a medida que el tratamiento continuaba, adoptando una posición más dócil y más creyente. Un 0.5% de este último grupo, rehusó ser tratado, pero la presión social, familiar y médica fueron parámetros que hicieron posible su tratamiento.

PROBLEMAS DE PERSONALIDAD EXISTENTES Y OTROS APARECIDOS DESPUÉS DEL DIAGNÓSTICO

Como es bien sabido, el enfermo de lepra es también una "persona" con todas las pautas psíquicas y emocionales pertenecientes al "individuo". Lo que se llama "Personalidad pre-morbida" es nada más que el tipo de personalidad y todas las variantes que existen y que pueden combinarse en un individuo. También forman parte de ellas el componente afectivo, que en gran forma influencia la personalidad y viceversa. Una sinopsis de los tipos de personalidad se debe enunciar para poder comprender luego las reacciones patológicas del enfermo de lepra. Los tipos de personalidad se pueden definir como: reservada, indiferente, fría, crítica, menos inteligente, concreta, afectada por emociones, inestable y fácilmente reactiva, flemática, relajada, obediente, conformista, prudente, sobria, seria, taciturna, irresponsable, rígida, responsable, obstinada, realista, obcecada, flexible, confiada, desconfiada, envidiosa o no, difícil de tratar, práctica, cuidadosa, convencional, regulada por realidades externas, natural, fuerte, sentimental, plácida, confidente, serena, conservativa, respetuosa o no, tolerante o no, tradicional, dependiente del grupo, interpretativa, determinada, protocolar, sigue sus únicas ideas, torcida, frustrada y mal o bien intencionada. La posibilidad de variantes es interminable, pero es esta variedad la que hace al individuo. Dentro de estos tipos de personalidad debemos definir los tipos patológicos que son los que se pondrán o no de manifiesto dentro de las reacciones patológicas del paciente de lepra. Los desórdenes de la personalidad se pueden definir en: antisocial, evitativa, de borde, dependiente, histriónica, múltiple, narcisista, obsesiva-compulsiva, orgánica, paranoide, pasiva-agresiva, sadista-masoquista, esquizoide, esquizo-típica, negativista y detrimental, depresiva y neurótica.

PSICOPATOLOGÍA A CONSECUENCIA DE ENFERMEDAD DE HANSEN

En los pacientes estudiados en este grupo, las reacciones psico-patológicas cubren una gama variada. La patología más común está dentro de la reacción de estrés. El shock inicial produce una desorganización del equilibrio psico-emocional, es una reacción de alarma a algo nuevo y difícil de aceptar. A esto le siguen las reacciones de ansiedad y temor por saberse afectado de algo no controlable por el individuo y que también moviliza la gama de todas las neurosis existentes o no en cada individuo.

Otra reacción patológica son las depresiones, resultado del enojo internalizado al saberse afectado de lepra. Existe una reacción profunda de resentimiento, el "¿por qué yo?", que comúnmente se acopla al sentimiento afectivo de depresión que puede llegar a alcanzar formas muy severas y crónicas. El sentimiento afectivo de depresión en sus variadas formas se encontró en un 87% de los pacientes hospitalizados; la mayoría trató la depresión con una actitud de negatividad, como si no existiera, tratando de negarse a sí mismo la posibilidad de reconocer sus sentimientos, con el consiguiente problema de no poder abordar la realidad en que sucumbían, agravando así los sentimientos depresivos y la aversión a la enfermedad. Estas depresiones se pueden dividir en: destructivas, reactivas, severas, moderadas, menores, con tendencia al suicidio y con rasgos psicóticos (pertenecientes al sistema dopaminérgico). El paciente de lepra, en general e independientemente de su personalidad pre-morbida, reacciona en forma moderada y/o distímica. En algunos se observó una marcada cronicidad (no tratados) con una actitud histriónica y/o más o menos de aceptación, como si lo que ellos sentían era parte del cuadro clínico general de la enfermedad de Hansen coloreada con reacciones conformistas y/o indiferente. En muchos de los pacientes se obtuvo la verbalización de haber "deseado morir" y en muy pocos, 0.9%, la idea de suicidio. El deseo de escapar a la realidad que les apesaba fue un síntoma casi constante en el 91% de los pacientes con depresión. Todas las depresiones distímicas y sus diferentes niveles se encontraron en su forma aguda y crónica en el 98.6% de los pacientes, que en muchos de ellos forman parte del cuadro de neurosis acoplado a la depresión. Dentro del grupo de pacientes se diagnosticó psicopatología psicótica, esquizofrenia y procesos psico-esquizo-afectivos, y paranoia sólo en 3 pacientes. Por historial clínico, estos pacientes podrían haber estado afectados psíquicamente antes de contraer lepra o se desencadenó el proceso psicopatológico después de que ellos conocieran estar afectados de lepra. Estos pacientes mostraron todos los síntomas de las psicosis de este tipo con las variantes afectivas del proceso. En dos pacientes se observaron síntomas de paranoia, combinados con afecto despectivo y proyectando sentimientos de rechazo; también se observaron en estos rasgos depresivos crónicos moderados, influyendo y magnificando las ideas paranoides. En un paciente afectado de esquizofrenia y en tratamiento de diálisis renal, el proceso psicológico fue tal que en varias ocasiones verbalizó su deseo de morir y/o suicidarse, a tal punto que evitaba asistir a diálisis con el objeto de terminar con su vida y así ocurrió sin poder evitarlo aun

con tratamiento psiquiátrico. Quiero hacer notar que P. Lowinger, en 1959, describe extensamente una "afinidad" de la esquizofrenia a pacientes con lepra, haciendo notar que los sistemas dopaminérgicos y serotoninérgicos pueden estar alterados por algún tóxico neuronal debido a la presencia del *Mycobacterium leprae*, (bacilo de la lepra). Dentro de las condiciones mentales degenerativas, se encontraron entre los pacientes dos casos de demencia de Alzheimer y tres de pre-senilidad, todos afectados también por depresiones moderadas y crónicas. Como se puede observar, todos los pacientes, de una forma u otra, presentaron reacciones psicoemocionales, donde las depresiones, distimias y reacciones psicóticas fueron las más comunes. El ámbito familiar presentó una reacción variada hacia el familiar-paciente, y también por ellos mismos, siendo algunos positivos y dando soporte psicoemocional al familiar y otros en forma negativa rechazando y/o ignorando las necesidades del familiar leproso con el consiguiente abandono del mismo y por la respuesta de temor al contagio. Los pacientes ingresados en el Sanatorio tuvieron reacciones de tiempo diferentes para integrarse y aceptar su condición y modo de vida, pero la esperanza de la mejoría-curación es muy importante para el individuo para rechazar el tratamiento.

REFERENCIAS

1. BALINA, L.M.: *Psicología social en lepra*. Leprología, 18; 1973, págs. 56-59.
2. BEHERE, P.B.: *Psychological reactions to leprosy*. Leprosy in India, 53; 1981, págs. 266-273.
3. BIHUA CHEN, et al.: *Cuidado psicológico en pacientes de lepra*. "Psychological care of leprosy patients". China Lepr. J., vol III, núm 3 (1987), pág. 158.
4. DASHENG ZHOU, et al.: *Análisis de la personalidad en pacientes de lepra*. "Personality analysis of leprosy patients". China Lepr. J., vol. 4, núm. 3 (1988), págs. 145-148.
5. GONZÁLEZ DEL CERRO, S.M.A.: *Estigma y Lepra*. Revista argentina de dermatología, vol. 70, núm. 1 (1989), págs. 36-43.
6. GOURGEROT, H.: *Nouvelle pratique dermatologique*. de Javier et Col., III, (1936), pág. 879, Masson, Paris.
7. JACOB & MEGGENDORFER: *Üba einen fall von lepra mit Psychose (lepra-psychose?)*. Arch. Dermatol. Y Syphiles; 1921, pág. 361.
8. KUMAR, J.H.R.; VERGHESE, A.: *Psychiatric disturbances among leprosy patients: an epidemiological study*. Int. J. Lepr., 48 (1980), págs. 431-438.
9. LOWINGER, P.: *Leprosy and Psychosis*. American Journal of Psychiatry, 116, (1959), págs. 32-37.
10. MAGGENA, W.; CLANOVSKY, A.: *Relación del enfermo de lepra con el mundo sano*. Lepr. Vol. XII, núm. 1, págs. 43-45.
11. MAGGENA, W.; DE PAUL, F.R.: *Resistencia de un grupo de enfermos de lepra ante la introducción de un grupo de investigadores*. Lepr., vol. XII, núm. 1, págs. 48-53.

12. MANZI, R.O.; MANZETTI, A.A.; LEFEURE, H.: *Psicología social en enfermos internados crónicamente*. Leprología, 15 (1970), págs. 12-20.
13. MARCO MERENCIANO, F.: *Esquizofrenias paranoides*. En Miguel Servet, 1942, Barcelona. Sp.
14. MARCO MERENCIANO, F.; GUILLÉN PRATS, J.: *Coexistencia de lepra y esquizofrenia*. Lepra, Fontilles, 1944, vol. 1, pág. 13.
15. PÉREZ DE FRANCISCO, C.: Lepra y locura. Der. Rev. Méx., vol. XVII, núm. 2-3, págs. 233-236, 3 refer.
16. REE, GITTI.: *Lo psicossomático de la lepra*. "Psychosomatics of leprosy". Papua New Guinea Med. J. (1980), 231, págs. 41-45. – Excerpt. Méd. Lepr., vol. 3, núm. 8 (1981), pág. 173.
17. SALONIAO, A.: *Ligeras consideraciones acerca de tres casos de tentativa de suicidio en leprosos*. Arquiv. Mineiros Leprología, 1947, VII, núm. 1.
18. SEREISKI & FRUMKIN: *Zur frage über psychosen bei lepra* Zeitschr. Neur d psychiatrie, 1925, pág. 615.
19. TELLO, E.: *Las discapacidades psico-sociales de la Hanseniasis*. Archiv. Argentinos de dermatología, T. XXXV, núm. 5, págs 289-294.
20. WELLISCH, D.K.: *Implementation of psychosocial services in managin emotional stress*. Conca, 53 (1984), págs. 828-832.

EVOLUCIÓN DE LAS LESIONES ÓSEAS EN ENFERMOS DE HANSEN EN ALTA TERAPÉUTICA: A PROPÓSITO DE 3 CASOS

JOSÉ RAMÓN GÓMEZ ECHEVARRÍA¹, FÁTIMA MOLL CERVERA¹,
M.^a OLÁRIZU DÍEZ ORIVE²

RESUMEN

En el presente artículo los autores intentan explicar cómo a pesar de que la lepra en la actualidad es una enfermedad que, con un diagnóstico precoz y con un tratamiento adecuado, tiene cura sin dejar ninguna secuela, para aquellos enfermos en los que ya existe una afectación neurológica, van a quedar unas lesiones tróficas que les van a acompañar durante el resto de su vida.

Sin embargo, y a pesar de los grandes avances realizados en los últimos veinte años, estas lesiones óseas en miembros inferiores en enfermos en alta terapéutica siguen constituyendo un gran problema en el control de la enfermedad.

SUMMARY

Although leprosy with any early diagnosis can be completely cured without any remaining disabilities, in patients with neural affection, at the moment of diagnosis, the trophic lesions will remain for the rest of their lives. Specially important are the bone lesions on the lower extremities of patients who have completed treatment. These lesions are a major problem for the control of this disease.

INTRODUCCIÓN

Desde 1982, y con la poliquimioterapia recomendada por la organización Mundial de la Salud, se ha conseguido la destrucción en poco tiempo de la micobacteria causante de la enfermedad, y, con ello, la desaparición de la clínica dermatológica, otorrinolaringológica, la desaparición de las lesiones viscerales específicas... también se consigue la ruptura de la cadena epidemiológica, con la disminución del riesgo de contagio.

Sin embargo, y a pesar de estos grandes avances, siempre que no exista un diagnóstico precoz y un adecuado control de la enfermedad, las lesiones neuroló-

¹ Sanatorio San Francisco de Borja. Fontilles (Alicante). España.

² Hospital Santiago Apóstol. Vitoria (Álava). España.

gicas pueden ser irreversibles y sus secuelas alterarán el correcto funcionamiento diario del paciente.

Debemos recordar que la enfermedad de Hansen, además de afectar a piel y vísceras, afecta también al sistema nervioso periférico, siendo los principales troncos nerviosos periféricos lesionados, los nervios cubital, mediano y radial en miembros superiores, los nervios ciático poplíteo externo y tibial posterior en miembros inferiores y las ramas más periféricas del nervio facial y el nervio trigémino en la cara, pudiendo además verse afectadas otras ramas periféricas diferentes. Este daño neurológico conlleva a una alteración de sensibilidad (térmica, dolorosa y táctil), a una pérdida en la fuerza muscular y a unas alteraciones tróficas, tanto en piel, como en folículo pilosebáceo, músculos, fascia muscular, tendones, huesos, articulaciones..., que serán el principal obstáculo para que el paciente lleve una vida completamente normal después del alta terapéutica, pues suelen ser irreversibles y necesitar cuidados de enfermería y ortopédicos durante largos períodos de tiempo e, incluso a veces, de por vida.

A nivel óseo y, secundariamente a estas lesiones neurotróficas, van a aparecer influidos por factores metabólicos, vasculares, infecciosos y mecánicos, una serie de lesiones secundarias que se van a manifestar por:

1. Reabsorciones óseas-acroosteolisis.
2. Osteoartritis.
3. Fracturas espontáneas.
4. Lesiones combinadas, que pueden llevar a anquilosis, luxaciones o subluxaciones.

Además, en estos pacientes con lesiones cutáneas abiertas, que precisan de curas diarias, que en muchas ocasiones se realizan no de la forma sanitaria más adecuada, pueden existir complicaciones infecciosas por otros gérmenes, ya sea en partes blandas o directamente sobre el hueso, que nos van a llevar a osteomielitis agudas y crónicas, periostitis y pioartritis.

Como propio de la enfermedad se puede describir también el tarso disociado o articulación de Charcot, siendo ésta una alteración neuropática que procede de la alteración sensitiva-motora de la musculatura intrínseca del pie y que acaba por una desestructuración completa de la articulación tibio-peroneo-astragalina, llegando incluso a veces a un apoyo incorrecto sobre maléolo externo o sobre la parte inferior de tibia y peroné, con la consiguiente lesión cutánea en forma de úlcera maleolar o perforante plantar.

A continuación se describen tres casos clínicos, con sus respectivos informes clínicos y radiológicos de pacientes que, tras ser dados de alta terapéutica por inactividad clínica y bacteriológica, desarrollaron una serie de lesiones tróficas tanto a nivel cutáneo como óseas, que está marcando de forma importante el desarrollo de las actividades en su vida cotidiana.

1.º CASO:

- *Datos Clínicos:*

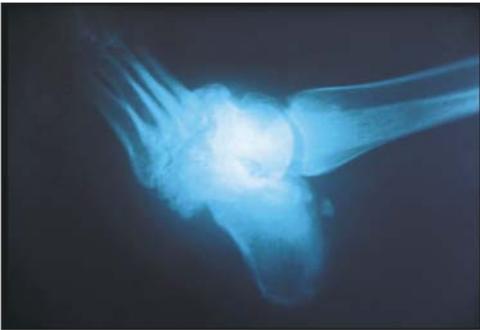
E. C. M.: Mujer de 73 años de edad, diagnosticada de Lepra Lepromatosa. Debuta con la enfermedad a los 15 años, con máculas eritematosas diseminadas. Posteriormente presentó múltiples leproreacciones. Con 58 años de enfermedad, fue tratada con monoterapia (D.D.S), con alta terapéutica desde hace 8 años.

- *Evolución radiográfica:*



Rx 1978:

Amputación de falange distal del II dedo y acroosteolisis de falange distal del V dedo.



Rx 2000:

Amputación del V dedo y acroosteolisis distal del resto de los dedos.

Cambios osteolíticos con destrucción del metatarso así como de astrágalo y calcáneo, evolución hacia articulación de Charcot.



Rx 2001:

Empeoramiento de la articulación de Charcot con luxación y aplastamiento del astrágalo con destrucción de la articulación tibio-peronea-astragalina.



Imagen 1: Aspecto clínico del miembro inferior izquierdo Caso 1.

• *Descripción de Signos y Síntomas actuales en miembros inferiores:*

En el momento del estudio radiográfico, a nivel clínico el miembro inferior izquierdo de la paciente presenta atrofia muscular de la musculatura antero-lateral de la pierna. En el aspecto cutáneo, hay una úlcera maleolar en la parte externa y varias fisuras por debajo del maléolo externo y en el maléolo interno.

Se observa reabsorción parcial de las falanges I a IV, mutilación completa del V dedo y articulación de Charcot.

2.º CASO:

• *Datos Clínicos:*

M. S. G: Mujer de 56 años de edad, diagnosticada de Lepra Lepromatosa. Inicia con la enfermedad a los 10 años, con alteración de la sensibilidad térmica y quemaduras como consecuencia de la misma. Fue tratada con monoterapia (D.D.S) y ocasionalmente con rifampicina.

• *Evolución radiográfica:*



Rx 1994:

Amputación y lisis de falanges, pero la imagen radiográfica del tobillo es normal.



Rx 1995:

Desde el año 1994 a 1995, gran progresión de la enfermedad, observando osteoporosis marcada, acroosteolisis en púas de peine y articulación de Charcot.



Rx 2003:

Las alteraciones descritas en el año 1995 no varían significativamente, siendo esta radiografía superponible a las de años anteriores.



Imagen 2: Aspecto clínico del pie derecho Caso 2.

• *Descripción de Signos y Síntomas actuales en miembros inferiores:*

En este caso no existe atrofia de la musculatura antero-lateral de la pierna derecha, pero sí hay un perforante plantar en la extremidad anterior del metatarso de dicho pie, pues es ahí donde se descarga todo el peso del cuerpo. Existe acortamiento y luxación de todos los dedos del pie y articulación de Charcot.

3.º CASO:

- *Datos Clínicos:*

M. M. H: Varón de 54 años, diagnosticado de Lepra Lepromatosa en 1975. Debuta con alteraciones sensitivas y pérdida de fuerza muscular en mano izquierda. Ha sido tratado con monoterapia (D.D.S) y ocasionalmente con clofazimina y rifampicina.

- *Evolución radiográfica:*



Rx 1992:

Osteoclasia a nivel de falanges del IV dedo. Tobillo no afectado.



Rx 1997:

Acroosteolisis de la falange distal del III y IV dedo, y amputación de las falanges del II dedo.



Rx 2003:

Marcado aumento de la acroosteolisis y probable osteomielitis y artritis por contiguidad de la articulación metatarso-falángica del I dedo.



Imagen 3: Aspecto clínico del pie derecho Caso 3.

• *Descripción de Signos y Síntomas actuales en miembros inferiores:*

Musculatura antero-lateral de la pierna izquierda conservada, hiperqueratosis indicativa de antiguo perforante plantar en articulación metatarso-falángica del I-II dedos. Acortamiento de los dedos III, IV y V y mutilación completa del II dedo. Este caso no presenta articulación de Charcot.

CONCLUSIONES

Con la finalidad de prevenir las lesiones óseas descritas mediante los estudios radiográficos, destacamos:

1. La importancia de un diagnóstico precoz, antes de la afectación la enfermedad al sistema nervioso periférico.
2. Prescripción de la poliquimioterapia según pauta de la Organización Mundial de la Salud para enfermos multibacilares y paucibacilares.
3. Educación sanitaria al paciente para que, ante cualquier signo de lesión neurológica, acuda al centro de referencia para el estudio y tratamiento adecuado.
4. Tratamiento adecuado con corticoesteroides o a nivel quirúrgico del daño neural instaurado recientemente.
5. Si el paciente acude con lesión neurotrófica, se le deberá realizar educación sanitaria y si es posible apoyo en medios materiales para evitar la mala evolución de las mismas.
6. En estos pacientes con lesión neurotrófica instaurada es de gran importancia el apoyo ortopédico. Dependiendo de la situación social en la que estemos, los materiales y/o medidas a utilizar variarán, pero siguiendo unas conductas adecuadas siempre aportarán importantes beneficios para el paciente.

A pesar de los grandes avances obtenidos en los últimos veinte años en la lucha contra esta enfermedad, de los cuales se han beneficiado millones de pacientes en todo el mundo, debemos recordar que muchos de ellos, ya de alta terapéutica, inactivos clínica y bacteriológicamente, siguen presentando importantes lesiones residuales que van a alterar su vida diaria.

BIBLIOGRAFÍA

1. CASTILLA PERTÍÑEZ, R.: *La osteopatía hanseniana neurotrófica*. Tesis doctoral; 1975.
2. CHMABRIYA, B. D.; SHARMA, N. C.; BANSIL, N. K., y AGRAVALL, G. B.: *Bone changes in leprosy*. Indian J. of Leprosy, vol. 39; núm. 2; 1971; 231-243.
3. GÓMEZ, J. R.; GIMENO, V.; DíEZ, M.^a O.: *Manifestaciones radiológicas en enfermos de lepra inactivos clínica y bacteriológicamente hace más de 10 años*. Revista de Leprología-FONTILLES. Vol. XXII, núm. 3. Sep-Dic. 1999.
4. GÓMEZ, J. R.; MOLL, F.: *Afectación Neurológica en la enfermedad de Hansen*. Revista de leprología-FONTILLES. Vol. XXIII, núm.4. Ene-Abr. 2002.
5. MUT, T.: *Lesiones óseas en la lepra*. Memoria del 6.º Congreso Internacional de Leprología. Madrid, 1953.
6. TERCICIO DE LAS AGUAS, J.: *Lesiones ósteo-articulares de la lepra*. Fontilles Rev. Lepr., vol. XXI, núm. 2; 1997; 195-219.
7. TERCICIO DE LAS AGUAS, J.: *Patología del pie en la Lepra*. Fontilles. Rev., vol. XIX, núm. 5, 1994; 543-555.

EL DOLOR NEUROPÁTICO EN LA LEPRA

DRES: MAIJA HAANPÄÄ*, DIANA N.J. LOCKWOOD**
y AKI HIETAHARJU***

RESUMEN

El dolor neuropático crónico en los pacientes de lepra ya tratados no es objeto de mucha atención. En este artículo se revisan los conceptos, características clínicas y el diagnóstico del dolor neuropático, y se exponen los posibles mecanismos patofisiológicos, dificultades de tratamiento y necesidades de investigación en esta área.

SUMMARY

Chronic neuropathic pain in treated leprosy has received scant attention. In this article the concept, clinical features and diagnosis of neurophatic pain are reviewed. The possible pathophysiological mechanism, treatment challenges and research needs in this area are discussed.

INTRODUCCIÓN

La lepra es una enfermedad granulomatosa crónica, causada por el *Mycobacterium leprae*, que se manifiesta sobre todo por su afectación por los nervios periféricos y piel (1). Aunque el índice de prevalencia de esta enfermedad ha disminuido casi un 85% a lo largo de los últimos 15 años, todavía sigue siendo la causa más frecuente de neuropatía tratable en el mundo (2), a pesar de los actuales programas de erradicación (3-6). Esto contradice algunas presunciones ante-

* Pain Clinic, Department of Anaesthesia and Intensive Care Medicine and Department of Neurosurgery, Helsinki University Central Hospital, Helsinki, Finland

** Department of Infectious & Tropical Diseases, London School of Hygiene & Tropical Medicine, London, UK.

*** Pain Clinic, Department of Neurology and Rehabilitation, Tampere University Hospital, Tampere, Finland.

Correspondence to: A. Hietaharju, Department of Neurology and Rehabilitation, PO Box 2000, 33521 Tampere, Finland. Tel.: +358-3-247-5111, Fax: +358-3-247-4351, e-mail: hietahar@koti.soon.fi.

Este trabajo es una reproducción de Lepr. Rev., vol.75, núm. 1, marzo 2004, págs. 7-18.

rios de que el dolor neuropático no se presentaba en lepra. En este artículo se revisan la afectación neural y el concepto y diagnóstico de dolor neurogénico y neuropático. También se debaten los posibles mecanismos del dolor neuropático y se esbozan algunas de las líneas de investigación para mejorar este campo.

LA AFECTACIÓN NEURAL EN LA LEPRA

Los distintos tipos de lepra se asocian con distintos patrones de afectación neural, tanto patológico como clínico. En la forma tuberculoide, hay destrucción masiva con fuerte infiltrado linfocitario, produciendo un epineurium fibrosado y sustitución del endoneurium por granuloma epitelioides. El compromiso neurológico está limitado. La mononeuropatía normalmente es consecuencia de compresión del nervio por un granuloma (2). También pueden originarse abscesos neurales con caseificación.

En la lepra lepromatosa hay una invasión silente y asintomática de las células Schwann con degeneración tardía espumosa. La desmielinación, deterioro y destrucción del axis cilíndrico son las características dominantes con posterior degeneración Wallerian (7). A pesar de la masiva cantidad de bacilos sólo hay una pequeña respuesta inflamatoria. Posteriormente tiene lugar la fibrosis del nervio y queda hialino (8, 9). Las manifestaciones nerviosas cutáneas más superficiales y por tanto más templadas son las puertas predilectas para la colonización micobacteriana y subsiguiente afectación neural, con una primera localización algo difusa y posteriormente con una pérdida sensorial tipo guante o calcetín (2). Esta afectación neural depende de la temperatura, explicando por qué las palmas de las manos y las plantas de los pies se libran en la primera fase de la enfermedad así como la conservación de los reflejos en los tendones largos y articulaciones.

La formación de pequeños granulomas es característico de la lepra borderline y las zonas granulomatosas pueden contener células Schwann de aspecto normal, pero muy bacilíferas (10). La combinación de carga bacilífera lepromatosa y respuesta de afectación neural tuberculoide produce diseminación de la afectación neural en la lepra borderline. Las neuritis agudas se originan principalmente durante las reacciones de reversión, el edema del granuloma celular epitelioides comprime las células Schwann restantes, causando una rápida pérdida funcional en un nervio ya comprometido. La afectación puede estar compuesta por la formación de más granulomas. Los pacientes con lepra borderline desarrollan múltiples mononeuropatías en el sistema nervioso periférico con compromiso motor y sensorial además de la afectación de los nervios de la piel (1). La consecuencia clínica más grave del deterioro neural intracutáneo es la pérdida sensorial total en las extremidades (11).

CONCEPTO DEL DOLOR NEUROPÁTICO

El dolor crónico es el que persiste después de la resolución de una lesión aguda. El dolor crónico comprende: el dolor nociceptivo, el dolor neuropático y

Plasimine

Mupirocina 2%

15 g / 30 g

Antibiótico tópico para el tratamiento de las infecciones bacterianas cutáneas

Amplio espectro
Superior a tratamientos orales
No resistencias cruzadas

Composición: Pomada 2%. Cada gramo contiene: Mupirocina (D.C.I.) 20 mg. Excipientes: Polietilenglicoles c.s.p. 1 g.

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 ligación específica y reversible a la isoleucil-IRNA 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 bacterioestática; 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 grampositivos pero las altas concentraciones alcanzadas en piel tras su administración tópica permiten incluir también gramnegativos en su espectro. Entre los microorganismos sensibles se incluyen: Aerobios grampositivos: *Staphylococcus aureus* (incluyendo cepas productoras de betalactamasas y cepas meticilin resistentes), *Staphylococcus epidermidis* y otros estafilococos, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus viridans*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*. Aerobios gramnegativos: *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 manifiesten 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 en 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 teratogénicos. 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. **Presentaciones, PVP y conservación:** Tubo de 15 g de pomada PVP IVA 4 % M.R. 859,- ptas. Tubo de 30 g de pomada PVP IVA 4 % M.R. 1.700,- ptas. *Licencia-Beecham. Conservar a temperatura ambiente (inferior a 25 °C). La pomada restante al final del tratamiento debe desecharse.



en el fondo
marca la diferencia

**DECLARADO
POR LA OMS**

Medicamento
Esencial

ISDIN
25
ANOS línea G

el dolor de etiología desconocido. El dolor nociceptivo se inicia por la activación de receptores nerviosos cutáneos, de los músculos, cara y órganos viscerales (12). Estos nociceptores responden a la causa de afectación y actúan como un sistema protector frente al estímulo lesivo. De acuerdo con las definiciones de la Asociación Internacional para el Estudio del Dolor (IASP), el dolor neuropático es un estado doloroso iniciado o causado por una lesión primaria o disfunción en el sistema nervioso periférico o central (CNS) (Tabla 1) (13). El término neuropático es empleado a veces si la disfunción que origina dolor es reversible. Por tanto, el dolor neuropático, siempre indica anomalía permanente. Los estudios de dolor neuropático se diferencian de acuerdo al lugar de la lesión central o de origen CNS (p.ej: dolor tipo central post-infarto cerebral, o dolor por lesión de médula espinal), de origen periférico o sistema nervioso periférico (p.ej. polineuropatías dolorosas, secuelas dolorosas de lesiones neurales periféricas) o una combinación

Tabla 1. Terminología del dolor y sensoriales

Nociceptor	Un receptor sensible frente al estímulo por un agente nocivo o un estímulo que si se prolonga puede llegar a ser nocivo.
Dolor nociceptivo	Dolor causado por la irritación de los nociceptores mediante un estímulo nocivo.
Dolor neuropático	Dolor iniciado o causado por una lesión primaria, disfunción en el sistema nervioso (irreversible).
Dolor neurogénico	Dolor iniciado o causado por una lesión primaria, disfunción o perturbación transitoria en el sistema nervioso central o periférico (reversible).
Parestesia	Sensación anormal, espontánea o provocada.
Disestesia	Sensación anormal, desagradable, espontánea o provocada.
Alodinia	Dolor producido por un estímulo que normalmente no causa dolor.
Hiperalgnesia	Aumento de las respuestas a estímulos que son normalmente dolorosos.
Hipoalgnesia	Disminución del dolor frente a un estímulo normalmente doloroso.
Hiperanestesia	Sensibilidad incrementada frente a la estimulación, excluyendo los órganos de los sentidos.
Hipoanestesia	Sensibilidad disminuida frente a la estimulación, excluyendo los órganos de los sentidos.

(neuralgia post-herpética o afectación de raíces nerviosas). Sin embargo, no hay que olvidar que esta división es sólo neuroanatómica; el fenómeno patofisiológico siempre comprende los mecanismos central y periférico, incluyendo los estados de dolor periférico neuropático.

La prevalencia del dolor neuropático varía con las zonas lesionadas y los grupos de pacientes: sólo el 5% de los pacientes con lesión nerviosa de tipo traumática padecen dolor (14), mientras que el 75% de los pacientes con siringomielina presenta dolor de tipo crónico (15). Se describe el motivo por el que lesiones nerviosas similares son dolorosas en algunos pacientes y en otros no. Los estudios en animales indican que el riesgo de desarrollar dolor neuropático después de una afectación neural periférico, puede presentar una base genética (16).

Debido a los múltiples mecanismos patofisiológicos, el potencial papel de los factores genéticos en las distintas fases y estado de dolor no está actualmente determinado.

No se conocen con exactitud los mecanismos implicados en el dolor neuropático. La plasticidad del sistema nervioso, p. ej., su capacidad de tener cambios funcionales y estructurales en respuesta a distintos procesos o enfermedades es un tema clave en el desarrollo de estudios de dolor neuropático. Se han descrito varios tipos de mecanismos periféricos en modelos animales y en lesiones del sistema nervioso periférico (17). Se ha detectado actividad neural animal en fibras primarias aferentes y en la raíz posterior del ganglio nervioso y se relaciona al menos parcialmente con el incremento en la cantidad de canales de sodio en la membrana celular neural. Estas descargas anormales se denominan ectópicas, ya que no se originan en los nociceptores. Otros mecanismos periféricos incluyen interacciones fibrosas-patológicas, ya que se forman conexiones anómalas entre aferentes individuales y la sensibilización del nociceptor caracterizado por una descarga continuada en los nociceptores, aun en ausencia de estimulación por agentes nocivos (17). Un incremento en la sensibilidad de las terminaciones, también significa que los estímulos débiles, anteriormente no nocivos, ahora puedan activar los nociceptores y causar dolor (18). Los estudios en humanos sobre la función de los nervios periféricos presentan un incremento en la actividad y la sensibilización de los pacientes con una condición crónica dolorosa (19).

Otra característica típica del dolor neuropático es la relativa debilidad de los mecanismos inhibitorios centrales. Las rutas inhibitorias descendientes desde el cerebro y mesencéfalo modulan la transmisión de señales en la asta posterior de la médula espinal. En la modulación están comprometidos tanto los sistemas monoaminérgicos como adrenérgico (20). También tiene lugar una sensibilización a nivel del SNC, donde la activación de los receptores N-metil-D-aspartato (NMDA), desempeña un papel primordial. Sensibilización central significa que el dolor proviene de un incremento del dolor en las unidades de procesamiento centrales, incluyendo el inicio espontáneo de los impulsos (18). Todo esto conlleva inevitablemente a una reorganización anatómica e hiperexcitabilidad de las neuronas nociceptivas centrales (17). La presencia de una sensibilización central, vía fibras aferentes no-nociceptivas, puede ser doloroso. La apoptosis parece inducir la sensibilización neural y la pérdida de mecanismo inhibitorio y su irreversibilidad esta en concordancia con el carácter crónico de muchos estados de dolor neuropático (21).

La afectación del sistema nervioso o disfunción solamente conlleva a la producción de dos tipos de fenómenos: negativo y positivo. Ambos fenómenos dependen del sistema afectado. Por tanto, los pacientes con dolor neuropático siempre presentan una variedad de síntomas sensoriales y motores negativos y positivos, así como de tipo autonómico (12). La hipoanestesia por ej, es un fenómeno sensorial negativo, mientras que el dolor, parestesias y disestesias son fenómenos sensoriales positivos. El dolor puede contener diversos elementos. Puede ser de tipo: continuo, frecuentemente con quemazón o dolor; intermitente o lacerante. El dolor puede ser espontáneo (independiente de estímulos) o provocado por distintos estímulos (estímulo dependiente). Cuando el dolor es provocado por un estímulo que normalmente no provoca dolor, se llama alodinia. La alodinia mecánica se subdivide en dos tipos: dinámica y estática, provocado por estímulos táctil o por ligera compresión respectivamente, y la alodinia térmica se subdivide en aludinia fría y caliente. Si un estímulo doloroso causa un dolor exagerado se define como hiperalgesia.

DOLOR NEUROPÁTICO EN LA LEPROSIS

Como la lepra origina pérdida de la sensibilidad se presupone que el dolor es poco frecuente. Sin embargo, el dolor neural periférico, disestesias y parestesias pueden complicar los afectados de lepra tanto durante como después del tratamiento. La información sobre el consumo de analgésicos por estos pacientes con dolor neuropático, facilita información sobre la extensión del problema. En un estudio sobre 235 pacientes de lepra en Malasia, el dolor neuropático era el principal motivo de consumo de analgésicos. En 46 pacientes (19.5%), la administración total de analgésicos superaba los 2 kilos. El intervalo de consumo variaba entre 2 o más de 20 años (22).

DOLOR EN EL SISTEMA NERVIOSO PERIFÉRICO

Uno de los primeros síntomas en la lepra puede ser el dolor agudo en uno o varios nervios. El dolor es un síntoma frecuente en las reacciones y neuritis, debido a la compresión del nervio edematoso e inflamación en los túneles fibroósicos (2, 23, 24). Las neuritis de los nervios cutáneos también pueden ser muy dolorosas (25). Los abscesos en los nervios periféricos se presentan en todos los tipos de lepra, de troncos nerviosos y nervios dérmicos (26). Se asocian frecuentemente con el dolor agudo severo. Este dolor de tipo agudo, normalmente es reversible en los pacientes de lepra, por ej., puede mitigarse con esteroides y otras medidas terapéuticas como medicamentos anti-inflamatorios e inmovilización o intervención quirúrgica. Cuando el dolor en estos casos no es un fenómeno irreversible, es más apropiado el concepto de dolor neurogénico.

Al progresar el dolor desde el término neurogénico a neuropático, pasa a ser crónico e irreversible. Se pierde el significado biológico del dolor; ya no nos informa sobre la afectación tisular progresiva y continua. Aunque ha sido recono-

cido por algunos leprólogos, el dolor crónico en la lepra ha recibido muy poca atención en la literatura médica. Hietaharju et al. (3) informaron sobre el dolor neuropático de tipo moderado a severo en 16 pacientes con lepra multibacilar tratada. En 10 pacientes, el dolor se distribuía en forma de "guante y calcetín" y en 2 pacientes se irradiaba a lo largo de un nervio específico. El tipo de dolor era de tipo palpitante en 9 pacientes, de oclusión 3, punzante en 3, cortante en 2, y de tipo electro-shock en 2. La presencia de dolor era continuo en el 50% de los pacientes.

En una reciente evaluación efectuada sobre 303 pacientes de un centro de referencia brasileño, 174 (57%) pacientes presentaban dolor neuropático (5, 6). En 84 pacientes (48%), el dolor se manifestó como de estallido. El dolor afectaba a una o más áreas de los nervios periféricos; nervio cubital en 101 (58%) pacientes y el nervio tibial (28%) 48 pacientes. Hubo una distribución polineuropática de tipo guante en (27%) 47 pacientes y de tipo calcetín en otros 47 pacientes. En el momento de la evaluación, el dolor estaba presente en 47 (27%) pacientes.

ALTERACIONES SENSORIALES

Se dispone de poca información sobre las alteraciones sensoriales, parestias, disaestias o alodinia en pacientes con lepra. En un estudio de Hietaharju et al. (3), 4 pacientes presentaron sensación tipo fluctuante, considerada como dolorosa y desagradable, por ej., disestesia. La disestesia presentó una distribución de guante y calcetín en dos de los pacientes: a lo largo del nervio cutáneo femoral en uno y en ambas piernas, por la mitad del fémur, en el otro paciente. Se presentó alodinia, es decir, dolor ante estímulos que normalmente no presentan dolor en 2 pacientes. En ambos casos, al examinarlos clínicamente se detectó engrosamiento y dolor en la exploración de los nervios (femoral cutáneo, nervio safena interno y tibial posterior) sin formación de abscesos (4).

SUPUESTA PATOGÉNESIS DE DOLOR NEUROPÁTICO EN LOS PACIENTES DE LEPPRA

Hietaharju et al. (3), detectaron que las anormalidades sensoriales más frecuentes eran la afectación severa del estímulo táctil y del dolor mecánico y térmico, indicando un deterioro en las fibras, A β , A δ y C en el punto doloroso. Los casos con pérdida sensorial asociada con dolor, sugieren una disaferentación periférica, por ej. dolor debido a la pérdida de aporte sensorial al sistema nervioso central, como ocurre en los distintos tipos de lesiones de los nervios periféricos. Sin embargo, en una proporción significativa de pacientes con dolor, la función sensitiva se hallaba aceptablemente conservada, sugiriendo otros mecanismos patofisiológicos.

De manera que se pueden enumerar distintos mecanismos patofisiológicos que conllevan al dolor neuropático persistente en los pacientes con lepra. En primer lugar, estos pacientes pueden presentar neuropatía de las pequeñas fibras sensitivas (SFSNS). Durante la fase precoz de la lepra, la sensación térmica y do-

lorosa están significativamente disminuidas, seguido por la pérdida de la sensibilidad táctil y de presión (2). Esta cascada de acontecimientos en el deterioro sensorial, sugiere un compromiso precoz de las pequeñas fibras por la invasión micobacteriana. El dolor y la disestesia son los síntomas más comunes de la SFSN, tanto adquirida como idiopática (27). En estos pacientes, el análisis morfométrico de los nervios cutáneos por inmunohistoquímica ha puesto de relieve la ausencia o reducción significativa de las fibras nerviosas intraepidérmicas (28). Esta reducción en cantidad de fibras intraepidérmicas se observa en otras afecciones como consecuencia de neuropatías selectivas de pequeñas fibras o como componente de un proceso que compromete fibras pequeñas y grandes. Ejemplo de esto son las neuropatías diabéticas (29), la enfermedad de Fabry (30), el lupus eritematoso sistémico (31) y la infección por HIV (32).

Otra posible explicación para el dolor neuropático en los pacientes de lepra sería el impacto de episodios previos de reacciones, neuritis e inflamación que puede fibrosar el nervio con el consiguiente riesgo de compresión (33). Algunos pacientes pueden presentar una neuritis crónica que se manifiesta clínicamente mediante dolor. No se han descrito las relaciones histopatológicas del nervio periférico en este tipo de pacientes. Lockwood et al. (34) han evidenciado que las proteínas de *M. leprae* y antígenos lipídicos están presentes en piel y nervio en el momento de las reacciones de reversión severas. Los antígenos persistentes podrían ser la causa de las neuritis tardías crónicas. La inflamación a lo largo de los troncos nerviosos originan actividades ectópicas en los nervios, y por tanto los episodios inflamatorios, anteriores o actuales, representan una fuente de sensibilización central que puede manifestarse como dolor neuropático crónico (35). La neuropatía vasculitis tardía, por precipitación de antígenos persistentes, es poco frecuente en la lepra (36). Las neuropatías por vasculitis como el HIV y enfermedades reumáticas son dolorosas.

En la fase aguda, las condiciones descritas previamente son combinaciones de tipo de dolor nociceptivo y neurogénico. Los pacientes con dolor de tipo irreversible permanecerán con dolor neuropático crónico y afectaciones sensoriales permanentes. No se conoce cuántos nervios periféricos afectados con dolor agudo se recuperan completamente y con qué frecuencia permanece el dolor de tipo neuropático crónico. Tampoco se conocen los perfiles de anomalías sensoriales en pacientes con dolor neuropático.

DIAGNÓSTICO DEL DOLOR NEUROPÁTICO

El diagnóstico de un posible dolor neurogénico o neuropático debe ser un proceso lógico que combine la información del historial médico, hallazgos clínicos y, si resulta necesario, métodos adicionales para identificar el sitio de infección y su causa. Con problemas reversibles como compresiones neurales o procesos inflamatorios locales, un diagnóstico precoz y correcto proporciona la posibilidad de un tratamiento curativo.

El punto clave de un diagnóstico es una historia médica correcta. Hay que determinar el inicio y el progreso de los síntomas, así como las asociaciones tem-

porales con las actuales enfermedades. Hay que preguntar sobre posibles traumas y exposiciones ante agentes tóxicos.

La localización del dolor es sencilla, empleando la gráfica sobre dolor; el paciente señala la distribución de distintos tipos de dolor sobre un diagrama o mapa anatómico corporal. La intensidad del dolor se mide escala análoga visual (VAS) (por ej. la escala Likert, de 0 a 10) o escala verbal (por ej. ligero-moderado-severo-intolerable). Para el VAS se utiliza una línea recta de 10 cms sobre un papel marcado en la parte izquierda como no dolor y en la derecha como dolor insoportable (37). Para utilizar el VAS simplemente se pide al paciente que señale o marque sobre el papel la intensidad de dolor que siente. El VAS es uno de los más antiguos y simples y mejor valorado medidor para evaluar el dolor, pero puede resultar difícil para algunos pacientes. Se puede codificar aparte de la intensidad (por ej, el componente sensorial del dolor), lo desagradable (por ej, el componente afectivo) por medio de una escala verbal que expresa molesto-desagradable-aflicción.

El dolor neuropático severo puede provocar insomnio, afecta el ánimo y deteriora la capacidad funcional y calidad de vida. Hay que evaluar estos aspectos en su historial médico, por ej., qué tipo de deterioro funcional causa el dolor al paciente o cómo ha cambiado el dolor la vida del paciente. Hay que evaluar tratamientos previos y las respuestas del paciente al dolor. Para el dolor neuropático, los analgésicos (por ej, NSAID y paracetamol) son inefectivos.

Se requiere una exploración clínica exhaustiva para diagnosticar o descartar un dolor como neuropático e incluye la evaluación de los signos sensoriales, motores y autonómicos. En el dolor neuropático, la localización del dolor y las alteraciones sensoriales deben estar correlacionadas neuroanatómicamente, por ej.: deben relacionarse con la distribución del nervio lesionado o como en el caso de las radiculopatías, los límites dermatológicos. Se aconseja efectuar primero el examen neurológico principal y finalizar con el sensorial. Con una torunda de algodón podemos evaluar la sensibilidad táctil, la sensación de pinchar con un palillo o agitador de madera, la evaluación térmica mediante objetos calientes y fríos y la sensibilidad vibratoria mediante un diapasón (128 Hz). Hay que anotar en el examen las respuestas sensoriales de intensidad, calidad, espaciales y temporales, ya que todas pueden presentar anomalías (Tabla 2) (38).

Tabla 2. Las aberraciones cuantitativas, cualitativas, espaciales y temporales más frecuentes en el examen sensorial del dolor de los pacientes (adaptado de Hansson) (38).

Cuantitativo	Cualitativo	Espacial	Temporal
Hipoanestesia	Alodinia	Deslocalización	Latencia anormal
Hiperanestesia	Parestesia	Radiación	Secuelas anormales
Hipoalgesia	Disestesia		Conjunto anormal
Hiperalgesia			Habituaación
			Adaptación anormal

Los casos con una evidente etiología como la neurología post-herpética no requieren más exámenes. Sin embargo, en algunos casos individuales, puede ser necesario emplear métodos de laboratorio, neurofisiológicos o de imagen para determinar las causas de los síntomas. Si hay que cuantificar las funciones sensorial de modo más detallada, se puede emplear la somatosensibilidad cuantitativa (QST). La QST puede definirse como el análisis de la percepción en respuesta a estímulos externos de intensidad controlada. Se detectan y determinan los umbrales de detección y dolor aplicando estímulos de intensidad ascendentes o descendentes sobre la piel. La sensibilidad mecánica para los estímulos táctiles se evalúan con cabellos de von Frey o monofilamentos Semmes-Weinstein, (39), sensación de pinchazo con diversas agujas de peso graduado (40) y la sensibilidad vibratoria por vibrometría electrónica (41). La percepción y dolor térmico se miden con una sonda que funciona mediante el principio de Peltier (42).

Los monofilamentos Semmes-Weinstein son muy conocidos por los leprólogos. Consisten en 20 monofilamentos de diámetros calibrados ascendentes que originan una fuerza específica sobre la piel (0.0045-447 gr). Los filamentos se aplican en magnitud ascendente y descendente y se anota la aparición y desaparición de los umbrales mediante un sistema de subidas y bajadas en el grosor de los filamentos. Se pueden aplicar dos o tres estímulos sucesivos durante 1-5 a 3 segundos y a intervalos de 5 segundos por filamento. El umbral de detección se definen como el estímulo más débil.

La evaluación de la sensación de pinchazo mediante un aparato con agujas de pesos determinados también se puede emplear en condiciones de campo (40). Consiste en 12 agujas desechables de calibre 23 de peso variable (0.2-5.2 gr). Se aplica perpendicularmente y con suavidad para que la sensación de pinchazo se produzca sólo por el peso de la aguja sobre la piel. El procedimiento es igual al de medir umbrales táctiles. El umbral de pinchazo se define como la aguja más ligera que de manera constante (al menos 3 estímulos) produce una sensación aguda. El equipo técnico para efectuar las respuestas térmicas y vibratorias son demasiado caras para las condiciones de campo.

Durante las primeras fases de un proceso anormal como la neuropatía diabética, la QST puede identificar cambios subclínicos (43) y en cualquier síndrome de dolor neuropático, la QST puede evaluar la magnitud y el tipo de anomalías sensoriales (por ej, si hay hipo o hipersensibilidad a distintos estímulos). La QST también tiene sus limitaciones. Los tests son largos y no siempre fáciles de aplicar en la práctica clínica. Hay que destacar distintas fuentes de riesgos en la ejecución e interpretación de los resultados. Para una revisión más detallada de la QST, se recomienda el libro de la IASP (44).

TRATAMIENTO DEL DOLOR NEUROPÁTICO

En algunos pacientes con dolor neuropático, los síntomas pueden ser leves y el diagnóstico y origen del dolor pueden remitir sin recurrir a medicamentos. Si el dolor altera la vida cotidiana del paciente, hay que intentar introducir un trata-

miento médico. Un alivio del 50% ha sido la referencia de oro empleado en el meta-análisis para calcular el NNT (número necesario para tratar) (45). Con datos de 2.700 pacientes participantes en un estudio de fase III, Farrar et al. comparó la escala numérica de 11 pacientes de Likert (NRS) y una medida validada, Impresión Global sobre el cambio (PGIC), reportados por el paciente. Una reducción en el dolor del 50% en el NRS corresponde a una muy buena mejoría en PGIC, incluso hasta una reducción del 30% en el NRS es clínicamente importante (46). Por tanto, una reducción del 50% en el alivio del dolor puede ser demasiado riguroso. En el trabajo clínico, hay que evaluar en cada visita o llamada telefónica, la intensidad del dolor y grado del alivio, comparado con la fase inicial.

Tabla 3. Mecanismo de acción de los medicamentos con eficacia comprobada para el dolor neuropático en ensayos controlados aleatorios.

Medicamentos	Mecanismos de acción
Antidepresivos tricíclicos	Bloqueo de la receptación de la norepinefrina y serotonina.
Carbamazepina	Bloqueo de los canales de sodio.
Tramadol	Bloqueo de la receptación de norepinefrina y serotonina: agonistas μ opioide.
Gabapentina	Bloqueo de los canales de calcio (?)
Lamotrigina	Bloqueo de los canales de sodio. Inhibición de la liberación de glutamato.
Oxycodona	Agonista μ - opioide.
Lidocaina Tópica	Bloqueo de canales de sodio en las terminaciones nerviosas libres.

El tratamiento farmacológico dependerá de la disponibilidad de medicamentos por parte del paciente, otras enfermedades y medicaciones asociadas, su motivación y el coste de las mismas. Los medicamentos eficaces frente al dolor neuropático presentan diversos mecanismos de acción, lógicos en vista a los mecanismos patofisiológicos (Tabla 3). De entre ellos, los más indicados en los países en desarrollo son: los antidepresivos tricíclicos y anti-convulsivos.

ANTIDEPRESIVOS TRICÍCLICOS (TCA)

Los antidepresivos tricíclicos constituyen la base principal del tratamiento del dolor neuropático. Su eficacia ha quedado evidenciada en estudios aleatorios controlados (45, 47) y empleado las estimaciones NNT resultando ser los medicamentos más efectivos para el dolor neuropático. En la neuropatía diabética, la NNT para los TCA es de 3 (47). No hay grandes diferencias entre ellos, pero la nortriptilina es mejor tolerada que la amitriptilina (48). La mitigación del dolor es

independiente del efecto sobre el ánimo, su inicio es más rápido y se puede conseguir alivio con dosis menores.

Se inicia el tratamiento farmacológico con dosis bajas, 10-25 gr por la noche, y se incrementa entre 10-25 gr a los 3-7 días hasta una dosis adecuada para el alivio total del dolor, con una dosis máxima tolerada de hasta 150 mgr/día. Para evitar somnolencias, se debe administrar por la noche y temprano. Al incrementar la dosis, esta se puede dividir en dos, siendo la de la noche la dosis mayor.

Como el paciente suele presentar alteraciones del sueño, el primer efecto secundario es un sueño apacible. Se pueden evaluar los efectos del medicamento a las 2 semanas, sin variar la dosis.

Los efectos secundarios más frecuentes son: cansancio, sequedad de boca, estreñimiento, molestias urinarias e hipotensión ortoestática. También se pueden presentar alteraciones de las funciones sexuales y anatómicas. En un meta-análisis de los antidepresivos tricíclicos para dolor de tipo crónico, la NNT para efectos adversos leves fue del 3.7 (significa que uno de cada 3.7 pacientes con antidepresivos tricíclicos presenta efectos secundarios menores). La NNT para efectos secundarios graves (interrupción del tratamiento) fue de 22 (45). Los pacientes con glaucoma, hiperplasia prostática y enfermedad cardiovascular, deben ser tratados con precaución.

CARBAMAZEPINA

Es el medicamento de elección para el dolor tipo lacerante como la neuralgia del trigémino. También resulta efectivo para el dolor neuropático en otras enfermedades (45). Se emplean las mismas pautas que en la epilepsia, por ej. empezar con 100 gr en el momento de acostarse e incrementar la dosis 100 gr después de los 3-5 días. La dosis de mantenimiento en el dolor neuropático es entre 400-600 mgr/día, divididos en 2 dosis cuando se administran preparaciones de liberación controlada y en 3 dosis en las presentaciones corrientes. La evaluación de la respuesta clínica es en base a criterios clínicos, pero en caso de presentarse efectos secundarios a bajas dosis de carbamazepina o la falta de respuesta con dosis adecuadas, puede resultar útil determinar la concentración sérica de principios activos. Hay que controlar los recuentos sanguíneos y los niveles de transaminasas, sobre todo al iniciar el tratamiento. Los efectos adversos más comunes son cansancio, vértigo e hiponatremia. No hay que descartar posibles interacciones inducidas de enzimas hepáticas con gran cantidad de medicamentos, incluyendo los anticonceptivos orales.

GABAPENTINA

La gabapentina ha resultado efectiva en los ensayos aleatorios controlados para la neuropatía diabética (49) y neuralgia post-herpética (50). Se administran 3 veces al día y la dosis diaria para el tratamiento del dolor está comprendida entre 900-3600 mgr/día. La dosis inicial es de 300 mgr al acostarse y se puede au-

mentar la dosis en 300 mgr en 1-3 días. La respuesta al tratamiento se puede evaluar a los 2 días de haber instaurado la dosis óptima. Los efectos secundarios más frecuentes son: vértigo, cansancio y edema.

LAMOTRIGINA

Ha quedado demostrada la eficacia de la lamotrigina tanto en el dolor neuropático central como periférico (51, 52). Hay que incrementar muy lentamente la dosis para evitar la aparición de eritema. No se requiere el control del laboratorio y las reacciones adversas con origen en el sistema nervioso central son menos frecuentes que con los agentes antiepilépticos convencionales. Como el ajuste de la dosis es lento, su uso queda restringido a casos en que otros medicamentos más accesibles han fracasado.

OPIOIDES

El tramadol ejerce su acción tanto vía receptores opioides como por los sistemas mediante serotonina y noradrenalina. El tramadol, considerado uno de los opioides más débiles, causa por este motivo menos problemas de dependencia y tolerancia que otros principios activos del grupo (ha quedado demostrada su eficacia en el dolor polineuropático y en la neuralgia post-herpética) (53, 54). Las reacciones adversas más frecuentes incluyen náuseas, vértigo, cansancio y cefaleas. Hay que tener en consideración las posibles interacciones con la serotonina.

Se ha considerado que los opioides puros no actúan sobre el dolor neuropático de la lepra pero posteriormente se ha observado que un grupo de estos pacientes sí experimentan mejorías con estos medicamentos. La administración oral de oxycodona ha resultado efectiva tanto en la neuralgia post-herpética como en el dolor neuropático diabético. (55, 56). Las dosis administradas eran relativamente pequeñas 20-80 mgr/día. Los efectos secundarios más frecuentes son: cansancio, estreñimiento y prurito. La situación de los opioides en el tratamiento del dolor neuropático sigue sin estar totalmente delimitado, ya que sólo se beneficia de sus efectos un reducido grupo de pacientes. Además por el riesgo de dependencia hay que seleccionar a los pacientes y controlarlos periódicamente.

INVESTIGACIONES FUTURAS

Esta revisión ha puesto de manifiesto el problema del dolor neuropático en la lepra. Sin embargo, se requieren más estudios para evaluar la dimensión del problema, los mecanismos patológicos subyacentes y la evaluación de posibles tratamientos (3, 5).

Primero, se necesitan estudios epidemiológicos multicéntricos para determinar la prevalencia del problema del dolor neuropático entre los pacientes de le-

pra. Hay que incluir todos los tipos de lepra para determinar si el dolor queda limitado a algún subgrupo y también la evaluación de su intensidad, acción desagradable y calidad de vida.

Segundo, se necesitan estudios clínicos para evaluar y caracterizar los perfiles de las anomalías sensoriales acompañadas o no de dolor (Tabla 1), y el análisis de los cambios cuantitativos, cualitativos, espaciales y temporales de la sensibilidad (Tabla 2).

Por último, ensayos para caracterizar los hallazgos neuropatológicos en los pacientes de lepra con/sin dolor y ensayos clínicos aleatorios y controlados con placebo para evaluar la eficacia del tratamiento sintomático del dolor neuropático.

La información proporcionada por estos estudios y ensayos facilitaron la comprensión y control del dolor crónico observado en pacientes de lepra y contribuía al cuidado después de la curación.

BIBLIOGRAFÍA

1. SABIN, T.D.; SWIFT, T.R.; JACOBSEN, R.R.: *Leprosy*. In: Dyck PJ, Thomas PK, Griffin JW, Low PA, Podusco JF (eds) *Peripheral neuropathy*, Saunders, Philadelphia, 1993; 2: 1354-1379.
2. NATIONS, S.P.; KATZ, J.S.; LYDE, C.B.; BAROHN, R.J.: *Leprous neuropathy: an American perspective*. *Semin Neurol*, 1998; 18: 113-124.
3. HIETAHARJU, A.; CROFT, R.; ALAM, R., ET AL.: *The existence of chronic neuropathic pain in treated leprosy*. *Lancet* 2000; 356: 1080-1081.
4. HIETAHARJU, A.; CROFT, R.; ALAM, R.; HAANPÄÄ, M.: *Chronic neuropathic pain in leprosy*. In: Devor M, Rowbotham MC, Wiesenfeld-Hallin Z (eds) *Proceedings of the 9th World Congress on Pain, Progress in Pain Research and Management*, vol.16. IASP Press, Seattle, 2000, pp. 717-723.
5. STUMP, P.; BACCARELLI, R.; MARCIANO, L. ET AL.: *Prevalence and characteristics of neuropathic pain and consequences of the sensory loss in 303 patients with leprosy*. Abstracts of the 10th World Congress on Pain, August 17-22, 2002, San Diego, California, USA. IASP Press, Seattle, 2002, p.93.
6. STUMP, P.R.N.A.G.; BACCARELLI, R.; MARCIANO, L.H.S.C., ET AL.: *Prevalence and characteristics of neuropathic pain in 303 patients with leprosy*. 16th International Leprosy Congress, Salvador, Bahia, Brazil, 2002.
7. PEARSON, J.M.H.; WEDDELL, A.G.M.: *Perineurial changes in untreated leprosy*. *Lepr Rev*, 1975; 46: 51-67.
8. JOB, C.K.; DESIKAN, K.V.: *Pathologic changes and their distribution in peripheral nerves in lepromatous leprosy*. *Int J Lepr*, 1968; 36: 257-270.
9. JOB, C.K.: *Pathology of peripheral nerve lesions in lepromatous leprosy – a light and electron microscopic study*. *Int J Lepr*, 1993; 39: 251-268.
10. JOB, C.K.: *Mechanism of destruction in tuberculoid-borderline leprosy*. An electron-microscopic study. *J neurosci*, 1973; 20: 25-38.
11. BRAND, P.W.; FRITSCHI, E.P.: *Rehabilitation in leprosy*. In: Hastings RC (ed) *Leprosy*, 1st edn. Churchill Livingstone, Edinburgh, London, Melbourne and New York, 1985, pp. 287-319.

12. SERRA, J.: *Overview of neuropathic pain syndromes*. Acta Neurol Scand Suppl, 1999; 173: 7-11.
13. MERSKEY, H.; JA BOGDUK, N. (eds): *Task force on taxonomy of the International Association for the Study of Pain: Classification of chronic pain. Description of pain syndromes and definitions of pain terms*. IASP Press, Seattle, 1994.
14. SUNDERLAND, S.: *Nerves and nerve injuries*. Churchill Livingstone, London, 1993.
15. BOIVIE, J.: *Central pain*. In: Wall PD, Melzack R (eds) Textbook of pain. Churchill Livingstone, Edinburgh, 1999, pp.879-914.
16. LIU, C.N.; RABER, P.; ZIV-SEFER, S.; DEVOR, M.: *Hyperexcitability in sensory neurons of rats selected for high versus low neuropathic pain phenotype*. Neuroscience, 2001; 105: 265-275.
17. ATTAL, N.; BOUHASSIRA, D.: *Mechanisms of pain in peripheral neuropathy*. Acta Neurol Scand Suppl, 1999; 173: 12-24.
18. DEVOR, M.: *The pathophysiology of damaged peripheral nerves*. In: Wall PD, Melzack R (eds) Textbook of pain. Churchill Livingstone, Edinburgh, 1994, pp.79-100.
19. ORSTAVIK, K.; WEIDNER, C.; SCHMIDT, R., ET AL.: *Pathological C- fibres in patients with a chronic painful condition*. Brain, 2003; 126: 567-578.
20. DICKENSON, A.H.; MATTHEWS, E.A.; SUZUKI, R.: *Neurobiology of neuropathic pain: mode of action of anticonvulsants*. Eur J Pain, 2002; 6: 51-60.
21. ZIMMERMANN, M.: *Pathobiology of neuropathic pain*. Eur J Pharmacol, 2001; 429: 23-37.
22. SEGASOTHY, M.; MUHAYA, H.M.; MUSA, A., ET AL.: *Analgesic use by leprosy patients*. Int J Lepr Other Mycobact Dis, 1986; 54: 399-402.
23. KUMAR, K.: *Surgical management of leprosy ulnar neuritis*. Clin Orthop, 1982; 163: 235-242.
24. JOB, C.K.: *Pathology and pathogenesis of leprosy neuritis; a preventable and treatable complication*. Int J Lepr Other Mycobact Dis, 2001; 69: S19-29.
25. THEUVENET, W.J.; FINLAY, K.; ROCHE, P., ET AL.: *Neuritis of the lateral femoral cutaneous nerve in leprosy*. Int J Lepr, 1993; 61: 592-596.
26. KUMAR, P.; SAXENA, R.; MOHAN, L., ET AL.: *Peripheral nerve abscess in leprosy: report of twenty cases*. Ind J Lepr, 1997; 69: 143-147.
27. LACOMIS, D.: *Small-fiber neuropathy*. Muscle Nerve, 2002; 26: 173-188.
28. YASUDA, H.; TERADA, M.; MAEDA, K., ET AL.: *Diabetic neuropathy and nerve regeneration*. Prog Neurobiol, 2003; 69:229-285.
29. KENNEDY, W.R.; WENDELSCHAEFER-CRABB, G.; JOHNSON, T.: *Quantitation of epidermal nerves in diabetic neuropathy*. Neurology, 1996; 47: 1042-1048.
30. SCOTT, L.J.; GRIFFIN, J.W.; LUCIANO, C., ET AL.: *Quantitative analysis of epidermal innervation in Fabry disease*. Neurology, 1999; 52: 1249-1254.
31. OMDAL, R.; MELLGREN, S.I.; GORANSSON, L., ET AL.: *Small nerve fiber involvement in systemic lupus erythematosus: a controlled study*. Arthr Rheum, 2002; 46: 1228-1232.
32. MCCARTHY, B.G.; HSIEH, S.T.; STOCKS, A., ET AL.: *Cutaneous innervation in sensory neuropathies: evaluation by skin biopsy*. Neurology, 1995; 45: 1848-1855.

33. NEGESSE, Y.: *Comment: "silently arising clinical neuropathy" and extended indication of steroid therapy in leprosy neuropathy.* *Lepr Rev*, 1996; 67: 230-231.
34. LOCKWOOD, D.N.J.; COLSTON, M.J.; KHANOLKAR-YOUNG, S.R.: *The detection of M. leprae protein and carbohydrate antigens in skin and nerve from leprosy patients with type 1 (reversal) reactions.* *Am J Trop Med Hyg*, 2002; 66: 409-415.
35. JENSEN, T.S.; GOTTRUP, H.: *Assessment of neuropathic pain.* In: Jensen S, Wilson PR, Rice ASC (eds) *Clinical pain management. Chronic pain.* Arnold, London, 2003, pp. 113-124.
36. BOWEN, J.R.C.; MCDUGALL, A.C.; MORRIS, J.H., ET AL.: *Vasculitic neuropathy in a patient with inactive treated lepromatous leprosy.* *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2000; 68: 496-500.
37. HUSKISSON, E.C.: *Measurement of pain.* *Lancet*, 1974; 2: 1127-1131.
38. HANSON, P.: *Possibilities and potential pitfalls of combined bedside and quantitative somatosensory analysis in pain patients.* In: Boivie J, Hanson P, Lindblom U (eds) *Touch, temperature and pain in health and disease, progress in pain research and management.* IASP Press, Seattle, 1994 vol. 3, pp.13-132.
39. WAYLET-RENDALL, J.: *Sensibility evaluation and rehabilitation.* *Orthop Clin N AM*, 1988;19: 43 – 56.
40. CHAN, A.W.; MCFARLANE, I.A.; BOWSHER, D.; CAMPBELL, J.A.: *Weighted needle pinprick sensory thresholds: a simple test of sensory function in diabetic peripheral neuropathy.* *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 1992; 55: 56-59.
41. GOLDBERG, J.M.; LINDBLOM, U.: *Standardised method of determining vibratory perception thresholds for diagnosis and screening in neurological investigation.* *J Neurol Neurosurg Psychiatry* , 1979; 42: 793-803.
42. FRUHSTORFER, H.; LINDBLOM, U.; SCHMIDT, W.G.: *Method for quantitative estimation of thermal threshold in patients.* *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 1976; 39: 1071-1075.
43. DYCK, P.J.; KARNES, J.L.; O'BRIEN, P.C., ET AL.: *The Rochester Diabetic Neuropathy Study: reassessment of tests and criteria for diagnosis and staged severity.* *Neurology*, 1992; 42: 1164-1170.
44. BOIVIE, J.; HANSON, P.; LINDBLOM, U. (eds): *Touch, temperature and pain in health and disease, progress in pain research and management.* IASP Press, Seattle, 1994.
45. MCQUAY, H.; MOORE, A.: *An evidence-based resource for pain relief.* Oxford University Press, Oxford, 1998.
46. FARRAR, J.T.; YOUNG, J.P. JR.; LAMOREAUX, L., ET AL.: *Clinical importance of change in chronic pain intensity measured on an 11- point numerical pain rating scale.* *Pain*, 2001; 94: 149-158.
47. MCQUAY, H.J.; TRAMER, M.; NYE, B.A., ET AL.: *A systematic review of antidepressants in neuropathic pain.* *Pain*, 1996; 68: 217-227.
48. WATSON, C.P.; VERNICH, L.; CHIPMAN, M.; REED, K.: *Nortriptyline versus amitriptyline in postherpetic neuralgia: a randomized trial.* *Neurology*, 1998;51: 1166-1171.

49. BACKONJA, M.; BEYDOUN, K.; EDWARDS, K.R., ET AL.: *Gabapentin for the symptomatic treatment of painful neuropathy in patients with diabetes mellitus*. JAMA, 1998; 280: 1831-1836.
50. ROWBOTHAM, M.; HARDEN, N.; STACEY, B. ET AL.: *Gabapentin for the treatment of postherpetic neuralgia*. JAMA, 1998; 280: 1837-1842.
51. EISENBERG, E.; LURIE, Y.; BRAKER, C., ET AL.: *lamotrigine reduces painful diabetic neuropathy: a randomized, controlled study*. Neurology, 2001; 57: 505-509.
52. VESTERGAARD, K.; ANDERSEN, G.; GOTTRUP, H., ET AL.: *Lamotrigine for central poststroke pain: a randomized controlled trial*. Neurology, 2001; 56: 184-190.
53. HARATI, Y.; GOOCH, C.; SWENSON, M. ET AL.: *Double –blind randomized trial of tramadol for the treatment of the pain of diabetic neuropathy*. Neurology, 1998; 50:1842-1846.
54. BOUREAU,F.; LEGALLICIER, P.; KABIR-AHMADI, M.: *Tramadol in post-herpetic neuralgia: a randomized, double – blind, placebo-controlled trial*. Pain, 2003; 104: 323-331.
55. WATSON, C.P.; BABUL, N.: *Efficacy of oxycodone in neuropathic pain: a randomized trial in postherpetic neuralgia*. Neurology, 1998; 50: 1837-1841.
56. WATSON, C.P.; MOULIN, D.; WATT-WATSON, J., ET AL.: *Controlled-release oxycodone relieves neuropathic pain: a randomized controlled trial in painful diabetic neuropathy*. Pain, 2003; 105: 71-78.

ENSAYO COLORIMÉTRICO DE HIBRIDACIÓN EN MICROPLACAS PARA LA DETECCIÓN DE *MYCOBACTERIUM LEPRAE* 16S rRNA EN MUESTRAS CLÍNICAS

YOSEPH HAILE* & JUDITH J. RYON**

RESUMEN

Se ha desarrollado un ensayo colorimétrico de hibridación en microplacas para simplificar la detección de *Mycobacterium leprae* en muestras clínicas. La técnica detecta los productos amplificados por un ensayo muy sensible RT-PCR con diana sobre una secuencia especie-específica del rRNA 16S bacteriano. El test detectó hasta 10 bacilos aislados de los nódulos linfáticos de ratones desnudos infectados o biopsias cutáneas humanas. La sensibilidad para el diagnóstico en nuestras clínicas se evaluó en 58 biopsias cutáneas de 58 pacientes de lepra sin tratar. El ensayo detectó amplificados RT-PCR de *M. leprae* en el 100% de las biopsias de pacientes con lepra multibacilar y el 80% de biopsias de pacientes paucibacilares, con una sensibilidad total de 91.3%. El test resultó ser muy específico ya que no se detectaron amplificaciones en las biopsias de pacientes normales o afectados de otras enfermedades distintas a la lepra. La variante colorimétrica es más rápido, sensible y simplifica la detección de los amplificados RT-PCR comparado con el análisis por Southern blot. Puede ser útil para el diagnóstico de los casos difíciles de lepra y como el RNA se degrada rápidamente después de la inactivación celular siendo útil para la evaluación de la respuesta al tratamiento y distinción de recidivas de reacción.

SUMMARY

We have developed a colorimetric microtitre plate hybridization assay in order to simplify detection of *Mycobacterium leprae* in clinical specimens. This system detects the products amplified by a sensitive RT-PCR assay targeting a spe-

* Dirección actual: University of Bergen School of Medicine Center for International Health, P.O. Box 5021, Bergen, Norway.

** Dirección actual: Bloomberg School of Public Health, Johns Hopkins University, 615 North Wolf Street, Baltimore, MD 21205, USA.

Correspondencia: J.J. Ryon (e-mail: jjryon@yahoo.com)

Este trabajo es una reproducción de Leprosy Review. Vol. 75, núm. 1, marzo 2004, págs. 40-49.

cies-specific sequence of bacterial 16S rRNA. The assay detected as few as 10 bacilli isolated from infected nude mouse lymph nodes or human skin biopsies. Sensitivity for diagnosis of clinical specimens was assessed for 58 tissue biopsies from untreated leprosy patients.

The assay detected *M. leprae* RT-PCR products in 100% of biopsies from patients with multibacillary disease and 80% of biopsies from patients with paucibacillary disease, for an overall sensitivity of 91.3%. The test was highly specific as no RT-PCR products were amplified from skin biopsies of normal individuals or patients with skin diseases other than leprosy. The colorimetric assay is faster, more sensitive, and simplifies detection of RT-PCR products compared to Southern blot analysis. It may be useful for diagnosis of difficult cases of leprosy, and, since RNA is rapidly degraded after cell death, it may be appropriate for assessing response to therapy and for distinguishing relapse from reaction.

INTRODUCCIÓN

La lepra continúa siendo un importante problema de salud pública en al menos 15 países (1). Aunque no se conoce con exactitud el número total de casos, la población en riesgo de contraer la enfermedad permanece muy elevado, con aproximadamente 1.6 billones de personas habitando áreas de elevada prevalencia (2). La prevalencia de la enfermedad ha disminuido con la introducción de MDT, pero todavía no hay signos que indiquen que la incidencia esté en disminución y aproximadamente hay 500.000 individuos en tratamiento en 2002 (1).

No disponemos de un método rápido y sencillo para identificar al *M. leprae* en muestras clínicas y el diagnóstico de la enfermedad es básicamente clínico. El *M. leprae* no puede cultivarse en el laboratorio (3), y el diagnóstico se confirma en la visualización al microscopio óptico de bacilos ácido-alcohol resistentes en frotis cutáneo (4). Como la microscopía exige aproximadamente 10^4 organismos/g de tejido, los bacilos ácido-alcohol resistente (AFB) resultan positivos en la mayoría de casos multibacilares, pero normalmente la tinción resulta negativa en los casos paucibacilares. Por tanto, se utiliza sobre todo para la clasificación de multibacilares si se observan bacilos y paucibacilares si no se detectan bacilos. Las técnicas serológicas no son útiles para diagnosticar ya que no detectan la mayoría de casos paucibacilares (5-8) y permanece positiva incluso después del tratamiento de los pacientes multibacilares (6,7). Por tanto un método sensible y específico para la detección del *M. leprae* no sólo simplificaría el diagnóstico de la lepra sino que incluso conllevaría al desarrollo de nuevas estrategias para un tratamiento rápido de la infección *M. leprae* precoz y potencial erradicación de la enfermedad.

Las técnicas moleculares más recientes presentan un mejor potencial para la identificación sensible y específica de los organismos patogénicos (9). Desde que se ha caracterizado la secuencia de varios genes de *M. leprae* éstas se han convertido en las dianas para amplificar DNA o RNA. En general, los diversos grupos

han amplificado DNA codificante de antígenos principales (10-12), o secuencias no antígeno codificantes (13-14). En este trabajo la diana ha sido una secuencia alternativa (15) que puede incrementar sensibilidad de detección. El rRNA 16S contiene secuencias únicas para *M. leprae* (16) y está contenido en un elevado número de copias (1.000-10.000 copias/bacteria). Además, aparentemente la amplificación de RNA se correlaciona mejor con la presencia de bacterias vivas (17).

Aunque nuestra técnica RT-PCR, descrita anteriormente, es sensible y específica (15), la detección de los amplificados PCR mediante gel-electroforesis, Southern blotting, hibridación de sondas es laborioso y complicado (18). Además, es caro y requiere equipamiento normalmente no disponible en los laboratorios clínicos, particularmente en el tercer mundo donde hay más casos de lepra (18,19). En este trabajo, se describe el desarrollo y aplicación de un método para simplificar la detección del *M. leprae* mediante un ensayo colorimétrico de hibridación para capturar y detectar amplificado RT-PCR.

MATERIAL Y MÉTODOS

PACIENTES

Se obtuvieron biopsias mediante técnica punch (3-4 mm) de las lesiones cutáneas de pacientes de lepra nuevos y sin tratamiento previo en el Hospital ALERT de Addis Abeba, Etiopía. El estudio fue aprobado por el Comité de Revisión Ética AHRI/ALERT obteniendo el consentimiento escrito antes de las biopsias. Participaron en el estudio 58 pacientes, con edades comprendidas entre 3-65 años. También se obtuvieron biopsias de 16 pacientes con otras condiciones dermatológicas no lepra y 4 individuos normales.

Un grupo de estas biopsias (39) se dividieron en dos y una mitad se fijó en formalina tamponada para su consiguiente tinción con haematoxilina, eosina y ácido-alcohol, mientras que la otra mitad se preparó para crioparafinado, congelación instantánea y almacenado a -80°C para RT-PCR. La clasificación de lepra tipo paucibacilar ($\text{IB} = 0$, 25 pacientes) o multibacilar ($\text{IB} = 1$, 36 pacientes) se basaba en el resultado de la baciloscopia en el momento de tomar la biopsia. La clasificación histopatológica de las biopsias se efectuó de acuerdo con la escala Ridley-Jopling (9).

PURIFICACIÓN Y RECuento DE *M. LEPRAE*

Mediante centrifugación en gradiente Percoll se aislaron bacterias de nódulos linfáticos de ratones o armadillos *M. leprae* infectados, por el método de Mori et al. (20) mientras que el *M. leprae* se aisló de las biopsias humanas sin gradiente de purificación por el método de Rees (21). Para evaluar la sensibilidad, se hizo un recuento de los bacilos *M. leprae* después de la tinción con Ziehl-Neelsen mediante asas calibradas (15). Las cantidades conocidas de *M. leprae* purificados de nódulos linfáticos de ratón o biopsia humana se diluyeron serialmente en 50 ml de PBS y a los que se les extrajo el RNA, sintetizó c-DNA y aplicó amplificación

PCR con detección colorimétrica. Como control para comprobación de la especificidad de la técnica frente a otras especies micobacterianas se utilizó *M. leprae* obtenido de armadillo.

PRIMERS Y SONDAS

Los primers y sondas se sintetizaron en las instalaciones Core DNA de la Facultad de Medicina John Hopkins, en Baltimore, MD. Los primers P1 y P3 amplifican específicamente el fragmento de 172 bp del cDNA para el rRNA 16S del *M. leprae*, basado en secuencias ya publicadas. Accession no. X5888816. El P2 es un primer de sentido que difiere del P1 en cuatro bases. Se utilizó la amplificación del gen gliceraldehído fosfatoso deshidrogenasa (GAPDH) como control positivo para la integridad de cada muestra RNA. Los primers GAPDH se describieron anteriormente (15). Las secuencias de los primers *M. leprae* se presentan en la tabla 1.

Tabla 1. Secuencias de los primers para *Mycobacterium leprae*

Primer	Posición	Secuencia
<i>M. leprae</i> 16S rRNA P1	DNA 69-91	5'CGG AAA GGT CTC TAA AAA ATC TT 3'
<i>M. leprae</i> 16S rRNA P2	DNA 65-87	5'CGA ACG GAA AGG TCT CTA AAA AA 3'
<i>M. leprae</i> 16S rRNA P3	DNA 218-239	5'CAT CCT GCA CCG CAA AAA GCT T 3'
<i>M. leprae</i> 16S rRNA Sonda	DNA 90-117	5'CGT TCG CCA CTC GAG TAT CTC TAA AAA A 3'

EXTRACCIÓN DE RNA, SÍNTESIS CDNA Y AMPLIFICACIÓN PCR

Se extrajo el RNA utilizando RNA Stat60' (Tel Test "B" Inc., Friends-wood, Texas, USA(15)) y almacenado a -80°C hasta su análisis. El RNA se transcribe a cDNA con AMV transcriptase reversa (25 unidades, Boehringer Mannheim, Alemania) siguiendo instrucciones del fabricante con 1mM Oligo dT (15), (Promega) y 1 Mm de primer anti-sentido. Se eliminaron hexámeros al azar del coctail de mezcla, como se describió anteriormente (15) y después de varios experimentos se detecta una amplificación equivalente sin ellos. Inmediatamente se amplificó el DNA o en caso contrario se congeló a -20°C hasta su utilización en las reacciones PCR. La PCR se llevó a cabo en un volumen total de 50 μl de tampón, siguiendo las indicaciones del fabricante (Boehringer Mannheim), empleando un termociclido automatizado (Hybaid Omni Gene, UK) (15). Los ciclos de amplificación del rRNA 16S del *M. leprae* consisten en calentar hasta 94°C durante 2 minutos, seguido por 40 ciclos de desnaturalización a 94°C durante 2 minutos, a 60°C dos minutos y extensión a 72°C tres minutos y por último una extensión final a 72°C durante 5 minutos. Para la amplificación del gen humano GAPDH, el ciclo consistió en: un calentamiento a 94°C , 3 minutos, hibridación a 60°C durante

1 minuto y extensión a 72 °C durante 2 minutos seguido de 30-35 ciclos de fusión a 94 °C, 1 minuto, hibridación a 60 °C durante 1 minuto y extensión a 72 °C durante 2 minutos seguido por una extensión adicional de 5 minutos. En todas las amplificaciones se incluyen controles positivos de cDNA *M. leprae* (0.21 µg/ml) y controles negativos que contienen todos los reactivos excepto cDNA *M. leprae*.

ELECTROFORESIS EN GEL DE AGAROSA Y SOUTHERN BLOTS

Se procesaron por electroforesis alícuota (18 ml) de los productos RT/PCR, en agarosa al 1.8% y en tampón Tris-borato EDTA y se transfirió el DNA a membranas de nylon tipo Hybond N+ (Amersham) mediante capilaridad (15). Las membranas se entrecruzan en UV y se hibridan las membranas toda la noche a 47 °C con sonda marcada con fluorescina (10 nµg/ml) preparados siguiendo el protocolo del fabricante (ECL – 3'-oligo marcaje y sistema de detección; Amersham, Little Chalfont, UK). Luego se aplican una serie de lavados con 5 X SSC con 0.1% SDS por dos veces a temperatura ambiente durante 5 minutos, con 1 X SSC con 0.1% SDS a 47 °C durante 15 minutos aplicando agitación constante y luego sin agitar durante 15 minutos dos veces. La detección es por quimioluminiscencia siguiendo las indicaciones del fabricante.

ANÁLISIS COLORIMÉTRICO DE HIBRIDACIÓN EN MICROPLACAS

Se adaptó este sistema de detección del método de Nutman et al. (19), después de haber ensayado con otros métodos. Se coaptaron durante la noche placas de micropocillos (Dynatech Microtiter[®], USA) con 50 µl de estreptavidina (100 µg/ml) en tampón carbonato/bicarbonato (Sigma, pH 9.6) a 4 °C. Se lavaron las placas tres veces con Tween PBS (200mM NaCl, 2.7 mM KCl, 10.43 mM NaH₂PO₄H₂O, 1.76 mM KH₂PO₄, pH 7.4, con 0.5% Tween 20) con un sistema de lavado de micropocedon. Después se añadió a cada pocillo 5 µl de producto PCR biotinado en 20 µl de tampón de hibridación (6 X SSPE conteniendo 1.3 M NaCl, 60 mM NaH₂PO₄H₂O, 7.6 mM EDTA (pH 7.4) con solución Denhardt a 5X y 0.02% SDS pH 7.2) a cada pocillo de la microplaca. Después de una incubación durante 30 min a temperatura ambiente, se lava y desnaturaliza con 100 µl de Na OH 1N, a temperatura ambiente durante 1 y 3 minutos, respectivamente. Después de 5 lavados a temperatura ambiente, con PBS/Tween-20, se añadió a cada pocillo sonda marcada con fluoresceína (50 ng/ml) diluida en 50 µl de substrato de hibridación e incubado durante 30 min temperatura ambiente. Las microplacas se lavaron a continuación mediante tres ciclos de lavado con PBS/Tween-20 a temperatura ambiente empleando 0.01 SSPE con 0.1% SDS a temperatura ambiente durante 5 minutos, y después 5 lavados con PBS/Tween-20 también a temperatura ambiente. Se añade a los pocillos anticuerpo anti-fluoresceína conjugado con fosfatos alcalina (50 µl a 1:500 dilución, Boehringer Mannheim, Alemania) en PBS con 0.1% de fracción V (Sigma) y se deja a temperatura ambiente 1 hora.

Después de 5 lavados con PBS/Tween-20 a temperatura ambiente, se añade 50 ml de sustrato (para-nitrofenil fosfato (pNPP), 1 mg/ml, Sigma) a cada pocillo. Las placas se incuban en cámara oscura durante 2 horas o toda la noche antes de medir la DO a 405 nm. Los valores se expresan como densidad óptica neta después de sustraer los valores del blanco del tampón. Las muestras se consideran positivas cuando la DO ajustada es mayor de 3 DS del valor promedio de los controles negativos.

SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD

Se diluyeron cantidades conocidas de *M. leprae* purificado de almohadilla plantar de ratón o biopsias de pacientes, para comprobar la sensibilidad de la técnica colorimétrica y se extrajo el RNA, síntesis cDNA y amplificación por PCR seguido por la evaluación colorimétrica. Además, a cantidades conocidas de amplificado PCR se les aplicó el mismo procedimiento. Se comparó la sensibilidad y especificidad obtenida con este método para el *M. leprae* en pacientes y biopsias control con la técnica Southern blot, electroforesis en gel y tinción BAAR de las mismas biopsias. La capacidad de detección se compara mediante la modificación del cuadrado de McNemar sin corrección para múltiples comparaciones.

RESULTADOS

ANÁLISIS DE NUEVOS PRIMERS Y CONFIRMACIÓN DE LA ESPECIFICIDAD

Hemos sintetizado y evaluado una nueva sonda sentido, P2, para evitar el solapamiento del primer sentido y sonda interna. Presentaba 23 pb de longitud y 4 bases más corriente arriba de la secuencia DNA para el rRNA 16S comparado con el primer descrito anteriormente (renombrado P1 en este trabajo, pero designado P2 previamente). Se amplificó cDNA *M. leprae* transcrito del RNA de hígado infectado de armadillo o biopsia cutánea de paciente de lepra lepromatosa con el nuevo primer sentido (P2) comparado con amplificación utilizando el primer sentido original (P1), cada uno emparejado con el mismo primer anti-sentido (P3). Se obtuvo un amplificado que migraba a la posición esperada del amplificado 172 pb con el primer original, mientras que la nueva secuencia proporcionó un amplificado similar (176 pb). La sonda interna hibridaba con ambos amplificados por Southern blotting como se observa en la Figura 1, indicando que se amplificaron fragmentos muy similares. Para confirmar la especificidad del nuevo primer, realizamos RT-PCR, Southern blotting e hibridación colorimétrica con microplacas con los nuevos primers para amplificar *M. tuberculosis* y las dos especies más relacionadas (*M. avium* y *M. bovis*). Se detectó *M. leprae* pero no otras micobacterias (datos no presentados).

TEST COLORIMÉTRICO

Empleamos una modificación del test de Nutman et al. (19), ya que resultaba ser la más sensible de todas las técnicas ensayadas. Para facilitar la detección, se amplificó cDNA con un primer sentido biotinilado y un primer anti-sentido no-biotinilado y los fragmentos RT-PCR biotinilados se añaden a los pocillos de la microplaca pre-coaptada con estreptavidina después de la amplificación. Las amplificaciones inmobilizadas RT-PCR se desnaturalizaron y las hebras complementarias no-biotiniladas se eliminaron mediante lavados.



Carreras 1 2 3 4 5 6 7 8

Figura 1. Southern blot amplificado RT/PCR obtenido con los primers para 16S rRNA *M. leprae*. Carrera 1: cDNA de hígado de armadillo amplificado con P1+P3; 2. cDNA de paciente lepromatoso amplificado con P1+P3; 3. cDNA de hígado de armadillo amplificado con P2+P3; 4. cDNA de paciente lepromatoso amplificado con P2+P3, 5. Control positivo con P1+P3 y 8. Control positivo con P2+P3.

Las hebras capturadas se hibridan con la sonda oligonucleotídica interna marcada con FITC seguido de un cuidadoso lavado. Se añade un anticuerpo anti-FITC conjugado a la fosfatasa alcalina, seguido de lavados y la adición de sustrato (pNPP) para detectar otros amplificados RT-PCR.

Se efectuó una optimización de la técnica, con respeto al manejo de las sondas, etapa de bloqueo y compactación, concentración del lavado, temperatura y el período mínimo de incubación que proporcionó señal óptima. La hibridación de la sonda fluoresceinada al amplificado RT-PCR es máximo a los 30 minutos a temperatura ambiente. Como se incrementó la especificidad del sistema, disminuyendo la concentración salina de los lavados, se comprobaron distintas concentraciones de SSPE y 0.1% SDS y el SSPE X 0.01 a temperatura ambiente durante 5 min. Es el óptimo para los lavados post-hibridación.

LÍMITE DE DETECCIÓN

Se evaluaron mediante RT-PCR dilución seriada de *M. leprae* de los nódulos linfáticos de ratón desnudo y biopsias humanas, seguido por detección colorimétrica. Se detectaron entre 10-100 micobacterias con esta técnica. También se evaluó la sensibilidad mediante alicuotas diluidos seriados de cantidades conocidas de amplificado RT-PCR, detectándose hasta 5.6 pg de DNA. La técnica Southern blot resultó ser 2 diluciones menos sensible.

SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DE LA TÉCNICA EN LA DETECCIÓN DE *M. LEPRAE* EN BIOPSIAS CUTÁNEAS

Se examinaron mediante la técnica de hibridación colorimétrica en microplaca 58 biopsias cutáneas de pacientes nuevos y sin tratar, 16 biopsias de otros problemas dermatológicos y 4 biopsias cutáneas de individuos normales. Se compararon los resultados obtenidos con los de la baciloscopia obtenida en 6 lugares distintos, tinción BAAR de las biopsias disponibles y electroforesis en gel de agarosa más Southern blotting de los mismos amplificados RT/PCR (Tabla 2). Se detectó rRNA 16S *M. leprae* con la técnica colorimétrica en todas las biopsias de pacientes multibacilares y el 80% de los paucibacilares comparado con la tinción BAAR. Se obtuvieron tinciones BAAR de secciones histológicas en 39/58 biopsias. Al comparar la detección colorimétrica con la tinción BAAR de las biopsias, 2 pacientes con enfermedad PB que presentan BAAR en examen histológico también resultaron positivos mediante la colorimétrica. En total, el 92.3% (31/39) de muestras en las que se efectuó tinción para BAAR, resultaron positivas mediante colorimétrica, y el 100% de las biopsias BAAR positivas detectadas por RT-PCR y 63% (5/8) biopsias, tinción BAAR negativas resultaron positivas por colorimetría. Mediante esta comparación, se constata que se detectó *M. leprae* en más muestras por colorimetría que con los otros métodos, incluyendo análisis Southern blot (Tabla 2). Las diferencias entre las sensibilidades entre esta técnica colorimétrica y otros métodos de detección eran estadísticamente significativos ($P=0.005$ a $P<0.001$) excepto para la comparación con la tinción BAAR ($P=0.078$). No se detectó ningún amplificado RT/PCR de los individuos control ni con Southern blot o ensayo colorimétrico (Figura 2).

Tabla 2. Comparación de la hibridación colorimétrica en microplacas para la detección de amplificación RT/PCR de biopsias cutáneas con otros métodos para la detección de *M. leprae*. NA=no analizado.

Test laboratorio	% de muestras resultado positivo (N.º positivo / n.º casos)			Valor <i>P</i> de Chicadrado
	Diagnóstico clínico			
	Lepra	Otra enfermedad dermatológica	Individuos sanos	
Ensayo colorimétrico RT-PCR	91.3 (53/58)	0 (0/16)	0 (0/4)	-
Southern blot RT-PCR	72.4 (42/58)	0 (0/16)	0 (0/4)	0.005
Agarosa gel RT-PCR	62 (36/58)	0 (0/16)	0 (0/4)	<0.001
Biopsia cutánea BAAR	82.1 (36/39)	0 (0/16)	0 (0/4)	0.078
Baciloscopia BAAR	56.9 (33/58)	NA	NA	<0.001

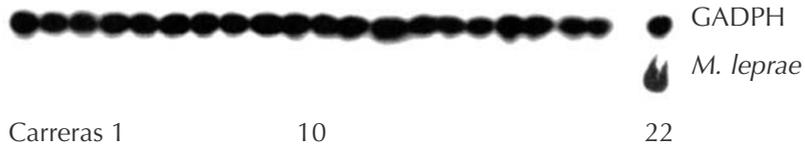


Figura 2. Southern blot de los productos amplificados GAPDH y RT-PCR *M. leprae* de biopsias controles normales y no-pacientes de lepra. Carreras 1-16: no pacientes lepra, 17-20: individuos sanos, 21: control negativo, 22: control positivo.

DISCUSIÓN

En los últimos años se han incorporado técnicas basadas en la amplificación por PCR de *M. leprae* en muestras clínicas (11, 16, 18, 22) y las técnicas de hibridación colorimétrica en micropocillo han constituido una alternativa aceptable para el diagnóstico de distintas enfermedades infecciosas (18, 19). Informamos en este trabajo del desarrollo de una técnica colorimétrica de hibridación específica que emplea como diana la rRNA 16S *M. leprae*.

Modificamos el primer corriente arriba explicado anteriormente para la detección especie-específica del *M. leprae* por Southern blot y aparentemente también es especie-específica. Se obtuvo una marcada intensa, bien delimitada con el nuevo primer y demostramos que tres especies micobacterias distintas ensayadas no se amplificaron. Ambos primers hibridan a una secuencia abundante entre el inserto de 12 pb que está presente en la primera región variable del gen rRNA 16S (16). Este inserto es característico a la secuencia genómica del rRNA 16S *M. leprae* comparado con la secuencia de otras especies bacterias (16,22). Anteriormente en otro estudio ya demostramos que el amplificado PCR con el primer original con el mismo primer P3 no detecta estas especies de micobacterias (15). En este estudio, hemos demostrado que *M. tuberculosis* y las dos especies de micobacterias con la secuencia rRNA 16S más homóloga al fragmento que nos interesó no se amplificaron con este estudio. Claro está que habría que comprobar todas las especies de micobacterias para estar seguros al 100%. Sin embargo, basándonos en los resultados negativos obtenidos en las dos especies más próximas estamos bastante seguros de que son especie-específica.

El límite inferior de detección de esta técnica colorimétrica de hibridación en microplaca por el rRNA 16S *M. leprae* varía entre 10 y 100 bacilos comparado con la técnica de inoculación en almohadilla plantar y biopsias cutáneas humanas. La variabilidad quizás sea consecuencia de los porcentajes de bacilos activados entre las biopsias y es comparable a nuestro estudio anterior que detectó hasta 10 bacilos con una técnica quimioluminiscente basada en hibridación Southern blot (15). En este trabajo no se hallaron diferencias significativas entre el Southern blot y la colorimetría diluciones seriadas de bacilos purificados de tejido de ratón, pero encontramos la técnica colorimétrica más sensible cuando se com-

paraba las muestras del paciente. Además, el sistema de detección en microplaca resultó ser dos diluciones más sensible que el análisis Southern blot al analizar DNA diluido en serie. Otros grupos (19) han encontrado sensibilidades hasta diez diluciones mayores para esta técnica.

Nuestra técnica basada en el RNA presenta una ventaja técnica en cuanto a la sensibilidad sobre protocolos que detectan una sola copia o incluso copias múltiples de genes. Como integrante del grupo de crecimiento lento de las micobacterias (16, 23) el *M. leprae* presenta una sola copia del gen rRNA 16S (23) para aproximadamente 4.000 moléculas de rRNA 16S por célula (24). Sin embargo, otros grupos de trabajo han descrito otras técnicas con sensibilidades similares. Por ejemplo, Woods y Cole (22) afirman que pueden detectar hasta 100 bacilos empleando la secuencia repetitiva del *M. leprae* como diana y Hartskreel et al. (11) afirma poder detectar el DNA correspondiente a una bacteria con los primers para el gen que codifica el antígeno 36 KD.

En este trabajo se confirma la utilidad de este ensayo para detectar *M. leprae* en muestras clínicas. De manera que 56 de 58 (91.3%) de las biopsias de pacientes de lepra sin tratar resultaron positivas con la hibridación colorimétrica en microplaca para el rRNA 16S. 20 de 25 (80%) de las biopsias con lepra tipo paucibacilar y 36 de 36 (100%) en la forma multibacilar resultaron positivas por *M. leprae* cuando se empleó baciloscopia para la detección de micobacterias y tres de cinco biopsias de pacientes clasificados como paucibacilares (histológicamente como BT), resultaron BAAR negativos, mientras que esta tinción no se llevó a cabo en las otras dos muestras. No es probable que estas dos muestras (una clasificada BT y la otra BT con reacción) presentaran bacilos activos.

Cuando se comparó la detección colorimétrica con la tinción BAAR en las 39 biopsias examinadas, 2 de los pacientes con enfermedad PB basada en los frotis cutáneos presentaba BAAR en el examen histológico y también resultaba positiva con nuestra técnica colorimétrica. En total, 92.3% (31/39) de las muestras eran positivas con la tinción BAAR, con 100% de las biopsias BAAR positivas y 63% (5/8) de las BAAR-negativas positivas con nuestro método. La sensibilidad de la técnica colorimétrica resultó ser significativamente mayor ($P=0.005$ a $P<0.001$) excepto la tinción BAAR de las biopsias ($P=0.078$). Probablemente, el menor número de muestras teñidas BAAR limitaron nuestra capacidad para detectar una diferencia significativa y se necesitarían más muestras BAAR para confirmar la mayor sensibilidad del ensayo colorimétrico. Por último, pero no menos importante, la técnica resultó ser muy específica para detectar *M. leprae* en pacientes ya que no detectó los organismos en tejido de individuos controles o afectados de otras enfermedades.

La detección RNA probablemente se correlacione mejor con la presencia de bacilos vivos, ya que el RNA se destruye más rápidamente que el DNA genómico después de la muerte celular (11). De hecho, la amplificación de DNA por PCR se ha utilizado para identificar *M. leprae* en un hueso que data del 600 AD (25). La utilidad del RNA como indicador de viabilidad se revisa en el estudio de Van der Vleit et al. (26). Revelan una fuerte correlación entre las amplificaciones isotérmicas del

RNA del rRNA 16S de *M. smegmatis* y la cantidad de CFU después de tratar los cultivos con varias dosis de rifampicina y ofloxacin. Por el contrario, la amplificación DNA del DNA genómico decodificando el gen rRNA 16S no se correlacionaba con la viabilidad evaluada por el sistema cultivo *in vitro*. Con nuestra técnica se habría de tratar el RNA aislado con DNAsa antes de la síntesis cDNA como informamos anteriormente (15) para asignar solamente la amplificación del RNA.

Se ha determinado que la utilización de detección colorimétrica con estreptavidina para capturar un amplificado PCR biotinilado seguido por la detección con una sonda FITC-marcada, era más sensible que los otros sistemas colorimétricos ensayados anteriormente. Además, el substrato utilizado, pNPP, presentó un índice catalítico relativamente rápido, no es tóxico y bastante estable, lo que constituye todas las ventajas para la detección por ELISA. Algunos grupos de trabajo han informado que los positivos débiles son relativamente difíciles de distinguir después de períodos de incubación cortos sin la ayuda de un lector ELISA para cuantificación. Sin embargo, se puede obviar este problema incubando toda la noche. Los positivos débiles aparecen después de la incubación mientras que los controles negativos no se alteran. Por ejemplo, 13 muestras que resultaban negativas (DO entre 0.001-0.064) después de 2 horas, pasaron de débiles a moderadamente positivos después de la incubación con substrato toda la noche (DO entre 0.299-1.221). Por el contrario, los pocillos con controles negativos amplificados RT-PCR de algunos pacientes de lepra y todas las muestras de pacientes con otras afecciones dermatológicas o controles seguían siendo negativos después de la incubación de toda la noche (DO varía 0.021-0.077).

El rRNA 16S, RT-PCR para *M. leprae* en incubación con técnica colorimétrica en microplaca podría desempeñar un papel importante en los estados epidemiológicos y ayudar al diagnóstico de la lepra. Sin embargo, su utilidad para estudios de cribaje es limitado, por su coste y sofisticación tecnológica como el empleo de un termociclador. La técnica de hibridación colorimétrica es más económica y rápida que la detección por Southern blot. Requiere menos equipo técnico, lo cual es una ventaja en los países menos desarrollados. Los inconvenientes de esta técnica son los múltiples pasos con RT-PCR. Para evitar contaminación por RNAsa se requieren reactivos y agua RNAsa libre. Hay que utilizar guantes desechables y pipetas con puntos estériles para evitar transportar cDNA y hay que emplear zonas separadas para preparar las técnicas PCR y detectar los amplificados para que todos los reactivos empleados en las reacciones mixtas no provoquen contaminación por aerosoles con los amplificados PCR. A pesar de estas limitaciones nuestro ensayo puede ser particularmente útil para el diagnóstico de casos difíciles con pacientes con pocas lesiones y un IB de 0. También para la identificación de bacilos vivos persistentes al finalizar la quimioterapia y en distinguir recidivas de reacciones tardías. Su utilidad en la evaluación de la eficacia del tratamiento, requiere más estudios sobre los cambios en niveles de rRNA de *M. leprae* en el tratamiento y discontinuación de la terapia.

AGRADECIMIENTOS

Los siguientes centros e instituciones apoyaron este estudio: Armauer Hansen Research Institut, American Leprosy Mission, la Associazione Italiana Amici di Raoul Follereau y la Netherlands Leprosy Relief Association. Agradecemos la colaboración del Dr. Beyene Petros durante el desarrollo de este trabajo. Al Dr. Yohannes Negussie por su análisis histopatológico de las biopsias, al hospital ALERT y al Sr. Haimanot G. Xabier por su ayuda en el cultivo de los microorganismos, Mogus Merid por su ayuda en el aislamiento del *M. leprae* de las muestras clínicas y a Genet Amare por la obtención de las muestras de biopsia cutánea.

REFERENCIAS

1. World Health Organization. Weekly Epidemiol Rec, 2000; 77: 1-8.
2. World Health Organization. WHO Expert Committee on Leprosy 6th Report. Technical Report Series 768. WHO, Geneva, 1988, p. 24.
3. CLARK-CURTISS, J.E.; JACOBS, W.R.; DOCHERTY, M.A., ET AL.: *Molecular analysis of DNA and construction of cosmid libraries of M. leprae*. J. Bacteriol, 1985; 161: 1093-1102.
4. BRYCESON, A.D.M.; PFALTZGRAFF, R.E.: *Leprosy, 3rd edn*. Churchill Livingston, New York, 1990, p. 240.
5. LAL, H.; JAIN, V.K.; MITTAL, R.A., ET AL.: *Detection of antibodies to phenolic glycolipid by ELISA in leprosy patients*. Ind. J. Lep., 1993; 65: 95-99.
6. MAHON, A.C.; NURLING, A.; KEBEDE, B., ET AL.: *Urinary phenolic glycolipid-1 in the diagnosis and management of leprosy*. J. Infect. Dis., 1991 ; 163: 653-656.
7. ROCHE, P.W.; BRITTON, W.J.; FAILBUS, S.S., ET AL.: *Serological monitoring of the response to chemotherapy in leprosy patients*. Int. J. Lepr., 1993; 61: 35-43.
8. YOUNG, D.B.; HARNISCH, J.P.; KNIGHT, J.; BUCHANAN, T.M.: *Detection of phenolic glycolipid-1 in the sera from patients with lepromatous leprosy*. J. Infect. Dis., 1985; 152: 1078-1081.
9. RIDLEY, D.S.; JOPLING, W.H.: *Classification of leprosy: a five group system*. Int. J. Lepr., 1996 ; 24: 255-273.
10. DE WIT, M.Y.L.; DOUGLAS, J.T.; MCFADDEN, J.; KLATSER, P.R.: *Polymerase chain reaction for the detection of Mycobacterium leprae in nasal swab specimens*. J. Clin. Microbiol., 1991; 31: 502-506.
11. HARTSKREEL, R.A.; DE WIT, M.Y.L.; KLATSER, P.R.: *Polymerase chain reaction for the detection of Mycobacterium leprae*. J. Gen. Microbiol., 1989; 135: 2357-2364.
12. WILLIAMS, D.L.; GILLES, T.P.; PROTAELS, F.: *Geographically distinct isolates of Mycobacterium leprae exhibit no genotypic diversity by restriction fragment length polymorphism analysis*. Mol. Microbiol., 1990; 4: 1654-1659.
13. WOODS, S.A.; COLE, S.T.: *A family of dispersed repeats in Mycobacterium leprae*. Mol. Microbiol., 1990; 4: 1745-1751.

14. YOON, K.H.; CHO, S.N.; LEE, M.K., ET AL.: *Evaluation of PCR amplification of Mycobacterium leprae specific repetitive sequence in biopsy specimens from leprosy patients*. J. Clin. Microbiol., 1993; 31: 895-899.
15. KURABACHEW, M.; WONDIMU, A.; RYON, J.: *Reverse transcription-polymerase chain reaction detection of Mycobacterium leprae in clinical specimens*. J. Clin. Microbiol., 1998; 36: 1352-1356.
16. COX, R.A.; KEMPESELL, K.; FAIRCLOUGH, L.; COLSTON, M.J.: *The 16S rRNA of Mycobacterium leprae contains a unique sequence which can be used for identification by PCR*. J. Med. Microbiol., 1991; 35: 284-294.
17. KATOCH, V.M.; SHIVANAVAM, C.T.; DATTA, A.K.: *Studies on ribosomal RNA genes of mycobacteria including M. leprae*. Acta leprolog., 1989; 7: 231-233.
18. VAN DER VLIET, G.M.; HERMANS, C.J.; KLASTER, P.R.: *Simple Colorimetric microtiter plate hybridisation assay for detection of amplified Mycobacterium leprae DNA*. J. Clin. Microbiol., 1993; 31: 665-670.
19. NUTMAN, T.B.; ZIMMERMAN, P.A.; KUBOFCEK, J.; KOSTYU, D.D.: *A universally applicable diagnostic approach to filarial and other infections*. Parasitol Today, 1994; 10: 239-243.
20. MORI, T.; MIYATA, Y.; YONEDA, K.; ITO, T.: *Collection method for Mycobacterium leprae from infected armadillo liver*. Int. J. Lepr. Other Mycobact. Dis., 1984; 52: 41-43.
21. World Health Organization. *Laboratory techniques for leprosy*. World Health Organization, Geneva, Switzerland, pp. 65-66, 1987.
22. WOODS, S.A.; COLE, S.T.: *A rapid method for the detection of potentially viable Mycobacterium leprae in human biopsies: a novel application of PCR*. FEMS Microbiol. Lett., 1989; 65: 305-310.
23. TESKE, A.; WOLTERS, J.; BOTTGER, E.C.: *The 16S rRNA nucleotide sequence of Mycobacterium leprae: phylogenetic position and development of DNA probes*. FEMS Microbiol. Lett., 1991; 64: 231-238.
24. ESTRADA, I.C.; LAMG, F.I.; COLSTON, M.J.; COX, R.A.: *Partial nucleotide sequence of 16S ribosomal RNA isolated from armadillo-grown Mycobacterium leprae*. J. Gen. Microbiol., 1988; 134: 1449-1453.
25. RAFI, A.; SPIGELMAN, M.; STANFORD, J., ET AL.: *Mycobacterium leprae DNA from ancient bone detected by PCR (letter)*. Lancet, 1994; 343: 1360-1361.
26. VAN DER VLEIT, G.M.; CHO, S.N.; KAMPIRAPAP, K., ET AL.: *Use of NASBA RNA amplification for detection of Mycobacterium leprae in skin biopsies from untreated and treated leprosy patients*. Int. J. Lepr. Other Mycobact. Dis., 1996; 64: 396-403.

NOTICIAS

CURSOS ESPECIALIZADOS DE LEPROLOGÍA

FONTILLES 2004

CURSO RESIDENTES TERCER AÑO DERMATOLOGÍA NOVARTIS

Durante los días 20-23 de Mayo de 2004 se desarrolló en el Sanatorio de Fontilles el VII Curso de Residentes de Tercer Año de Dermatología organizado por Novartis. Este Curso cuenta con el auspicio de la Academia Española de Dermatología y Venerología. Durante el mismo fueron tratados los siguientes temas:

– **Enfermedad de Hansen.**

Dr. José Ramón Gómez Echevarría y Dr. Pedro Torres Muñoz. Sanatorio de Fontilles.

– **Taller práctico de Micología.**

Dr. José Sánchez Carazo. Hospital General de Valencia y Dr. Javier Pemán. Hospital La Fe de Valencia.

– **Enfoque práctico de la Dermatitis Atópica.**

Dra. Isabel Betloch. Hospital General Universitario de Alicante.

– **Actualización en Psoriasis.**

Dr. Miquel Ribera. Hospital Germans Trias i Pujol de Barcelona.

Al curso asistieron 24 residentes del tercer año de Dermatología que provienen de diferentes Hospitales del Estado Español. El curso se desarrolló de forma muy agradable y debemos agradecer como años anteriores a Novartis su respaldo para su desarrollo.

MASTER EN SALUD INTERNACIONAL Y MEDICINA TROPICAL

Durante los días 29-30 de Abril y 1-2 de Mayo el alumnado del Master en Salud Internacional y Medicina Tropical que se desarrolla en el Hospital de Mar de Barcelona se desplazaron al Sanatorio de Fontilles para conocer la Institución y más de cerca la enfermedad.

La docencia sobre este tema ya se había impartido en el curso en Barcelona por el personal del Sanatorio de Fontilles, Dra. Montserrat Pérez López (asesora científica) y Dra. Fátima Moll Cervera (fisioterapeuta del Sanatorio).

Los alumnos que acudieron a nuestra Institución conocieron de cerca la historia de la misma, estuvieron en contacto con pacientes pudiendo valorar directamente lesiones residuales y repasaron los diferentes aspectos de esta enfermedad.

ÍNDICE DE REVISTAS

Bacteriología e Inmunología

Dres. Atkinson, Sara, E.; Khanolkar-Young, Saroj; Marlowe, Sharon; Jain, Suman; Gopal Reddy, Raj; Suneetha, Sujai; Lockwood, Diana, N. J. — Detección de IL-13, IL-10 e IL-6 en las reacciones tipo 1 (T1R) con prednisolona. — «*Detección of IL-13, IL-10, and IL-6 in the leprosy skin lesions of patients during prednisolone treatment for type 1 (T1R) reaction.*» — Int. J. Lepr., vol. 72, núm. 1 (2004), págs. 27-34.

Resumen:

Se hizo un estudio inmunohistoquímico en las lesiones de la piel de pacientes con reacción leprosa Tipo 1 para buscar la presencia intralesional de L-13, IL-10 e IL-6. Se incluyeron 15 pacientes de Hyderabad, India, con lepra y reacción leprosa Tipo 1. Todos los pacientes estaban recibiendo el tratamiento estándar para este tipo de reacción: dosis diarias decrecientes de prednisolona durante 6 meses. Se tomaron biopsias antes y durante el tratamiento a las semanas 1, 4 y 24 (6 meses). Al inicio del tratamiento, las lesiones de la mayoría de los pacientes mostraron la presencia de IL-13, sin embargo, cuatro semanas después, la expresión de IL-13, IL-10 e IL-6 en las lesiones había disminuido significativamente.

Aunque algunos pacientes mostraron una notoria mejoría clínica en sus lesiones dérmicas en la primera semana de tratamiento, no se observó ningún cambio concomitante en ninguna de las citocinas. Por otro lado, todavía se observó algo de actividad de las citocinas en las lesiones después de seis meses de tratamiento.

Dres. Brennan, Patrick, J.; Vissa, Varalakshmi, D. — Mantenimiento de los genes para síntesis de la pared celular del *Mycobacterium leprae*. — «*Maintenance of genes for Mycobacterium leprae Cell Wall Synthesis.*» — Int. J. Lepr., vol. 71, núm. 4 (2003), pág. 375.

Resumen:

La secuencia del genoma del *Mycobacterium leprae* por S.T. Cole resultó ser un evento comparable a la introducción de la MDT en la década de los ochenta.

De esta información se deduce que el genoma del *M. leprae* ha sufrido una reducción evolutiva. Esta revisión examina la pared celular del *M. leprae* tanto desde la perspectiva de la información bioquímica ya conocida como del análisis *in vitro*.

Dr. Britton, W. J. — Ensayos clínicos con vacunas: desde la lepra a la tuberculosis. — «*On the vaccine trail: from Leprosy to Tuberculosis.*» — Int. J. Lepr., vol. 71, núm. 4 (2003), pág. 371.

Resumen:

El control de la lepra ha mejorado sustancialmente desde la introducción de la multiterapia con disminuciones significativas de la prevalencia de pacientes en tratamiento farmacológico durante la década de los noventa. A pesar de la amplia implementación de la MDT, la incidencia de la lepra evaluada como índice de detección de casos no ha disminuido significativamente en los países endémicos. Esto justifica continuar investigando para comprender la transmisión, respuesta del huésped en la inmunidad protectora frente al *M. leprae*. La inmunización con fines de incrementar la respuesta del huésped frente a la infección *M. leprae* también será un componente importante en el control a largo plazo de la lepra.

Dres. Fukutomi, Yasuo; Matsuo, Masanori; Minagawa, Fumishige; Toratani, Satoshi; McCormick, Gregory; Krahenbuhl, James. — El tratamiento con IL-10 de los macrófagos incrementa la supervivencia intracelular del *Mycobacterium leprae*. — «*IL-10 treatment of macrophages bolsters intracellular survival of Mycobacterium leprae.*» — Int. J. Lepr., vol. 72, núm. 1 (2004), págs. 16-26.

Resumen:

Mycobacterium leprae todavía no se ha podido cultivar en medios artificiales. Como esta bacteria prefiere una existencia intracelular *in vivo*, en este estudio exploramos el crecimiento *in vitro* de *M. leprae* en cultivos de fagocitos o macrófagos, el huésped requiere del bacilo de la lepra. Reconocemos que nuestro diseño experimental conlleva dos problemas: la viabilidad de *M. leprae* en el inóculo, usualmente baja, y el prolongado tiempo de división de la bacteria. Aunque no esperábamos encontrar un incremento sustancial en los números de *M. leprae*, sí pensamos poder observar cambios en su metabolismo midiendo la oxidación del ácido palmítico radiactivo como un marcador de viabilidad. Encontramos que la bacteria se mantuvo metabólicamente activa hasta por 8 semanas en los cultivos de los macrófagos peritoneales de ratón. La adición de IL-10 pero no de TGF, apoyó, directa o indirectamente el metabolismo de *M. leprae* en los macrófagos de ratón. Las condiciones de incubación de los cultivos fueron muy importantes y la temperatura de 31-33 °C fue más permisiva que la temperatura de 37 °C. La tinción para ácido-resistentes y la microscopía electrónica de transmisión revelaron cierto grado de alargamiento de los bacilos bajo las condiciones óptimas de cultivo de los macrófagos.

Dr. Gillis, T. — Utilización de la Bioinformática en la investigación de la lepra. — «*The Use of Bioinformatics in Leprosy Research.*» — American Society for Microbiology división u symposium, Washington Covention Center, Washington D. C., 18-22 May 2003. – Int. J. Lepr., vol. 71, núm. 4 (2003), págs. 376-377.

Resumen:

La bioinformática abarca todos los aspectos de la información biológica y analiza y combina todos los instrumentos de la ciencia informática con el propósito de entender el significado biológico. La combinación de la secuenciación e informatización ha proporcionado una fuerza sin precedentes para poder acumular gran cantidad de información y el inicio de modelos moleculares. La bioinformática es muy atrayente para los estudios de *M. leprae* porque muchos instrumentos convencionales biológicos no están disponibles para investigadores que trabajan con agentes no cultivables.

Tres grandes áreas de la bioinformática (genómica, proteómica y perfil transcripcional) han tenido y debían continuar manteniendo un impacto sobre nuestra comprensión del *M. leprae* y la enfermedad que causa. La genómica ha proporcionado un calco genético para *M. leprae* permitiendo efectuar comparaciones con otros genomas micobacterianos para evaluar las capacidades fisiológicas básicas, sus factores potenciales de virulencia y establecer marcadores moleculares para la resistencia frente a medicamentos y variación de cepas. Los marcadores moleculares nuevos emplean secuencias DNA repetidas para conseguir instrumentos para investigar modelos de transmisión de lepra e identificar factores de riesgo comprometidos en la reinfección versus recidiva de la enfermedad. Los algoritmos para predecir marcos abiertos de lectura y categorizar la localización y función de las proteínas de *M. leprae* han iniciado estudios básicos sobre la secuencia de proteínas así como de las proteínas comprometidas en la invasión neural y proteínas *M. leprae* específicas potencialmente útiles para detectar exposición al bacilo de lepra a través de pruebas intradérmicas o análisis serológico.

Los estudios proteómicos del bacilo de la lepra han sido perjudicados por el bajo rendimiento proteico a partir de bacilos purificados derivados de animales infectados, pero han conseguido establecer un punto de partida para las proteínas muy expresadas de *M. leprae*. La combinación de perfiles transcripcionales con proteómica puede proporcionar nuevas percepciones frente a proteínas previamente perdidas durante la purificación procedente de tejidos infectados y proporcionar nuevos antígenos útiles para el estudio de respuestas inmunológicas durante la infección. Además, estas nuevas proteínas pueden ser evaluadas para ver su capacidad para inducir inmunidad protectora y pueden constituir un nuevo grupo de proteínas con potencial diagnóstico o de vacuna. El perfil transcripcional puede permitir que los investigadores estudien la expresión de los genes del

M. leprae en distintas fases de crecimiento. Por ejemplo, la expresión génica en células en crecimiento como macrófagos y células Schwann puede diferir y, por tanto, revelar aspectos interesantes del tropismo tisular tan característico de *M. leprae*.

La genómica funcional es la integración de las predicciones de la bioinformática con validación a través del análisis biológico experimental. Esta parte de la ecuación sigue constituyendo un gran desafío para los trabajadores del campo de la lepra. Se necesitan estudios genéticos indirectos para estudiar los genes de *M. leprae* en micobacterias cultivables, así como nuevos planteamientos para "introducir dentro" genes de *M. leprae*. Ambos planteamientos, se aprovechan de la bioinformática y deben continuar facilitando nuestra comprensión del bacilo de la lepra en particular y de la relación huésped-parásito en general.

Dres. Groathouse, N. A.; Rivoire, B.; Sang-Nae, Cho; et al. — Polimorfismos en secuencias tándem repetitivas y cortas de *M. leprae* permiten la caracterización epidemiológica de las cepas. — «*Polymorphisms in short tandem repeat sequences of Mycobacterium leprae allow for the epidemiological characterization of strains.*» — Int. J. Lepr., vol. 71, núm. 1 (2003), págs. 379-380.

Resumen:

Hasta el presente, la caracterización de cepas de *Mycobacterium leprae* ha sido un gran obstáculo para el estudio de la epidemiología de la enfermedad. En esta era post-genómica, la disponibilidad de la secuenciación completa del genoma del *M. leprae* constituye una ventaja para analizar fragmentos y secuencias específicas de la bacteria. Nuestro planteamiento para la tipificación molecular del *M. leprae* incluye la detección de un número variable de secuencias repetitivas tándem cortas (STR), procedentes de distintas cepas. La meta concreta de este estudio es identificar distintos puntos polimórficos y combinarlos en un PCR multiplex, que fueran aplicables a biopsias clínicas obtenidas en zonas endémicas del mundo. Esperamos desarrollar una técnica que sea de fácil aplicación y bajo coste.

El primer paso, la localización de regiones del genoma de la cepa Tamil Nadu (TN) que contiene una serie de repeticiones, única, di y tri nucleotídicas se consiguen al utilizar el programa de búsqueda de la base de datos Leproma (<http://genolist.pasteur.fr/leproma/>). Se identificó un panel de 31 puntos distintos en regiones no codificadas que contenían 5 o más unidades repetitivas. De éstas, se seleccionaron algunas. Se obtuvieron primers que flanqueaban los puntos STR individuales y amplificado PCR de longitud parecida para facilitar en el futuro la técnica multiplex. Se utilizaron un total de 6 fuentes de DNA *M. leprae* (cepas humanas obtenidas de armadillo) para la búsqueda de polimorfismos comparando las longitudes STR. Se clonaron los amplificados PCR para facilitar la continua-

ción de la secuenciación del fragmento entero amplificado, incluyendo la zona repetida.

Hasta el momento, hemos confirmado la longitud de cuatro polimorfismos de las distintas fuentes de DNA y sólo falta una secuencia STR. Uno de los repetidos AT, sólo presenta 25 pb y 37 pb en la secuencia STR de distintas fuentes de DNA cuando se compara con el mismo fragmento de 37 pb en la cepa TN. Del mismo modo, una secuencia AT varía entre 20 a 30 pb en los distintos DNA, mientras que sólo presentaba 34 pb en la cepa TN. Una repetición multi-C que es de 20 pb en la cepa TN varía entre 8-14 pb en las cepas *M. leprae*. También se encontró una secuencia repetitiva CG de la misma longitud que la cepa TN en todas las cepas evaluadas.

Nuestros hallazgos revelan claramente que existen polimorfismos en los genomas de distintas cepas de *M. leprae* y que se podrían desarrollar para estudiar su linaje. Se debe enfatizar más el uso de primers marcados 5' para amplificación, detección y análisis de fragmentos amplificados de multiplex de las 6 cepas DNA al secuenciar los geles.

La siguiente fase será la extensión del análisis de algunos de los puntos existentes, seguidos por la inclusión de un mayor número de cepas DNA. La meta final es la producción de un sistema de huellas DNA para *M. leprae* obtenida de las cepas clínicas y proporcionar un instrumento para estudiar otros aspectos de la lepra como la transmisión, virulencia, resistencia a los medicamentos y recidivas.

Dres. Hasan, Z.; Mahmood, A.; Zafar, S.; Khan, A. A.; Hussain, R. — Los paciente de lepra con enfermedad lepromatosa presentan respuestas incrementadas de IL-8 no unidas a las respuesta TNF- α . — «*Leprosy patients with lepromatous disease have an up-regulated IL-8 response that is unlinked to TNF- α responses*» — Int. J. Lepr., vol. 72, núm. 1 (2004), págs. 35-44.

Resumen:

El factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), junto con el interferón gamma (IFN- γ), juega un papel importante en el reclutamiento de linfocitos y en la formación de granulomas en las enfermedades por micobacterias. La lepra lepromatosa está típicamente asociada con una baja o ausente respuesta inmune celular y con nula secreción de IFN- γ . Las quimiocinas tales como IL8, MCP-1, y MIP-1 β , también reclutan neutrófilos y linfocitos en los sitios de infección. En esta investigación estudiamos la expresión de IL-8 en relación al TNF- α y al TGF- β en monocitos de pacientes con lepra lepromatosa (LL) y de controles sanos de áreas endémicas. En los controles endémicos no se observó la expresión espontánea de IL-8, TNF- α y TNF- β , pero BCG y *M. leprae* indujeron la activación de estas citoquinas. Los monocitos de los pacientes lepromatosos, en cambio, expresaron de

manera espontánea, niveles elevados de IL-8 y TGF- β , así como cantidades insignificantes de TNF- β . El estímulo con BCG o *M. leprae* no condujo a un incremento significativo en la secreción de IL-8. BCG, pero no *M. leprae*, fue capaz de estimular la activación de TNF- α en los pacientes con lepra. Las respuestas en TGF- β en los pacientes LL fueron equiparables a las respuestas en IL-8. Esto sugiere una vigorosa y activa respuesta en IL-8 en la lepra LL, que es independiente de la activación del TNF- α . Por lo tanto, en ausencia de la activación de IFN- γ y TNF- α , la IL-8 puede asumir un papel central en el reclutamiento de células en los pacientes con infecciones micobacterianas diseminadas.

Dres. Kang, T. J.; Kim, S. K.; Lee, S. B.; et al. — Comparación de dos técnicas diferentes de amplificación PCR (el gen para la proteína 18-kDa vs. la secuencia repetitiva) en el diagnóstico del *Mycobacterium leprae*. — «*Comparison of two different PCR amplification products (the 18-kDa protein gene vs. RLEP repetitive séquence) in the diagnosis of Mycobacterium leprae.*» — Clin. Exp. Dermatol. 28(4) (2003) 420-424. - Int. J. Lepr., vol. 71, núm. 4 (2003), págs. 405-406.

Resumen:

Se compararon dos sets de primers para determinar el mejor método molecular para diagnosticar lepra. De 67 pacientes de lepra se obtuvieron biopsias y frotis cutáneos y se examinaron mediante PCR (TD) con primers que amplifican a un fragmento de 129 pb de la secuencia repetitiva RLEP o el fragmento 360 bp del gen de la proteína 18-kDa de *M. leprae*. 17/30 (56.7%) de las muestras y 4 de las 37 (10.8%) de las muestras cutáneas resultaron positivas con los primers de la proteína 18-kDa, mientras que 24/30 (80%) de las biopsias y 27/37 (73%) de los frotis cutáneos presentaron amplificación PCR detectable en la secuencia repetitiva RLEP. 21/31 casos (67.7%) con índice bacteriológico cero eran PCR positivos para la secuencia repetitiva RLEP. Estos resultados evidencian que la detección de *M. leprae* mediante PCR con primers para una secuencia RLEP es más sensible y específica que el 18-kDa y que los frotis cutáneos con tinción BAAR. La PCR con RLEP es útil para el diagnóstico de la lepra.

Dres. Maeda, Yumi; Brennan, Patrick, J.; Makino, Masahiko. — Lipoproteínas del *Mycobacterium leprae*. — «*Studies of Lipoproteins of Mycobacterium leprae.*» — Jpn. J. Leprosy, vol. 73, núm. 1 (2004), págs. 15-21.

Resumen:

La secuencia del genoma del *M. leprae* posibilita predecir las posibles lipoproteínas. La secuencia de consenso del extremo N-terminal de la proteína, incluyendo el método de la cisteína molecular a la que se une la molécula lipídica proporciona la clave de la búsqueda. Como tal, se han identificado 20 posibles lipoproteínas de la secuencia genómica del *M. leprae*. Se identificó la lipoproteína

LpK (Accesión n°. ML0603) que codifica a la proteína precursora de 371 aminoácidos. La expresión de la proteína, en *Escherichia coli*, revela una proteína 33 kD y experimentos de manejo metabólico demuestra que la proteína estaba lipídificada. La lipoproteína purificada induce la producción de IL-12 en los monocitos humanos de sangre periférica y quizás implique a la LpK *M. leprae* en la inmunidad protectora frente a la lepra. La búsqueda de dichas lipoproteínas puede proporcionar conocimientos sobre la patogénesis de la enfermedad.

Dres. Ohyama, H.; Takeuchi, K.; Yamada, H.; et al. — Polimorfismos SNP sobre el gen del receptor IL-12 asociados con susceptibilidad frente a la lepra. — «*SNPs on IL-12 receptor gene associated with the susceptibility to leprosy.*» — Int. J. Lepr., vol. 71, núm. 4, pág. 382.

Resumen:

Las células T activadas de pacientes lepromatosos producen cantidades mínimas de gamma IFN aun estando en la presencia de IL-12. El objetivo de este estudio es determinar la baja producción de IFN-gamma en los pacientes de lepra desde el punto de vista inmunológico. Se determinaron los polimorfismos de las regiones 5'flanqueantes tanto IFNG como IL-12 RB2 para comparar las frecuencias de los alelos entre pacientes y donantes sanos, mediante técnicas de secuenciación. Se obtuvieron los siguientes resultados: 1) No se detectaron polimorfismos en la región primitiva de IFNG, 2) Se detectaron varios SNPs en la región flanqueante 5' de IL-12RB2 y SNPs localizados en las posiciones -1035,-1023, -650 y -464, siendo éstos más frecuentes en pacientes LL que TT.

Estos resultados apuntan a que el polimorfismo en la región flanqueante 5' de IL-12RB2 pueden estar implicados en la susceptibilidad hacia la forma de enfermedad.

Dres. Pradhan, V.; Badakere, S. S. y Kumar, U. S. — Aumento de la incidencia de ANCA citoplásmica (cANCA) y otros auto-anticuerpos en pacientes de lepra del oeste de India. — «*Increased incidence of cytoplasmic ANCA (cANCA) and other autoantibodies in leprosy patients from Western India.*» — Lepr. Rev., vol. 75, núm. 1 (2004), págs. 50-56.

Resumen:

Se analizaron las prevalencias de distintos auto-anticuerpos en 75 pacientes de lepra con: 8 pacientes de lepra lepromatosa (LL), 36 pacientes con lepra borderline lepromatosa (BL), junto a 100 controles normales. Algunos auto-anticuerpos como los anticuerpos anti-nucleares (ANA), anti-DNA de única hebra (anti-ssDNA) y anticuerpos citoplasmáticos anti-neutrófilos (ANCA), fueron evaluados en los pacientes de lepra. Cuando se analizan las especificidades del ANCA al

anti-mieloperoxidasa (anti-MPO), anti-proteínosa 3 (anti-PR3) y anti-lactoferrina (anti-LF), se detectó que los patrones de inmunofluorescencia como la ANCA perinuclear (p-ANCA), citoplásmica (c-ANCA) y atípica (X-ANCA) y las especificidades por ELISA a anti-MPO, anti-PR3 y anti-LF variaba en los grupos LL, BL y BT. Sin embargo, se detectó mayor nivel de c-ANCA en el 62·5% de los casos de lepra mientras que la incidencia de p-ANCA y X-ANCA era menor. El grupo LL presenta mayor nivel de auto anticuerpos comparado con los grupos BL y BT, junto a una mayor preponderancia del sexo masculino. También se observan perfiles para anticuerpos poco usuales como "X"-ANCA. El estudio sugiere que la formación de anticuerpos puede ser prevalente y variable a lo largo del espectro de la lepra y parece haber un solapamiento serológico entre la lepra y las enfermedades autoinmunes que puede tener importancia inmunopatológica en los pacientes de lepra con complicaciones.

Dr. Shankarkumar, U. — Asociación HLA en pacientes de lepra de Mumbai, India. — «*HLA associations in leprosy patients from Mumbai, India.*» — *Lepr. Rev.*, vol. 75, núm. 1 (2004), págs. 79-85.

Resumen:

Se ha propuesto una predisposición genética tanto para susceptibilidad hacia la enfermedad como a la respuesta inmune del huésped. En la India, se detecta el 64% de la prevalencia total de la lepra y el 78% de los nuevos casos detectados en el mundo que son 719,330. Se han obtenido resultados convincentes sobre la asociación HLA clase II en la lepra. Sin embargo, la información sobre la asociación HLA clase I es limitada e inconsistente. Se evaluaron la distribución de alelos HLA A, B y C en 103 pacientes de lepra y 101 individuos de control normal por medio de ensayos microlinfocitóticos. Además, se evaluaron por técnicas moleculares PCR-SSOP de alta resolución 32 pacientes multibacilares y 67 controles. Los resultados del estudio fueron: 1) por serología, un incremento significativo en HLA A2, A11, B40 y Cw7, mientras que se detectaba una disminución en A28, B12, B15 y Cw3 al comparar con controles; 2) la subtipificación molecular en pacientes multibacilares presentó un incremento significativo en la frecuencia de HLA A*0203, A*0206, A*1102, B*1801, B*4016, B*5110, Cw*0407 y Cw*0703, mientras que hay una disminución en la frecuencia HLA A*0101, A*0211, B*4006, Cw*03031, Cw*04011 y Cw*0602 se observaron al comparar con los controles; 3) también se encontraban incrementados los haplotipos A*1102-B*4006-Cw*1502 y A*0203-B*4016-Cw*0703; A*11-B*40 está significativamente incrementado en los pacientes multibacilares al compararlos con los controles. Los alelos HLA clase I quizás desempeñan un papel muy importante en la asociación/patogénesis de la enfermedad.

Dr. Williams, D. L. — Confirmando el transcriptoma de *Mycobacterium leprae*. — «*Establishing the Transcriptome of Mycobacterium leprae: A Minimal Gene Set for Survival.*» — American Society for Microbiology division u symposium, Washington Covention Center, Washington D. C., 18-22 May 2003. — Int. J. Lepr., vol. 71, núm. 4 (2003), págs. 374-375.

Resumen:

Se ha secuenciado totalmente el genoma de *M. leprae*. Hay, aproximadamente, 1.604 marcos abiertos de lectura, que codifican proteínas potencialmente funcionales, y 1.104 genes inactivos (pseudogenes). Sin embargo, el mínimo requerimiento para crecimiento intracelular y de supervivencia (transcriptoma) no ha sido definido todavía. Hemos iniciado estudios en este sentido, para determinar el transcriptoma potencial utilizando RT-PCR y microanálisis DNA cruzado de especies con microanálisis DNA de tuberculosis utilizando un test oligonucleotídico comercialmente disponible (Operon Technologies, Alameda, CA) para la evaluación de la expresión génica global con un cDNA por microanálisis DNA *M. leprae*, actualmente no disponible. Para la RT-PCR, se obtuvo RNA de dos cepas distintas de *M. leprae* y se obtuvo cDNA mediante el sistema de la transcriptasa reversa con priming al azar. Se amplificaron los transcriptados de los genes más interesantes de cDNA con primers que hibridan adyacentemente los fragmentos génicos de diversas familias funcionalmente importantes de genes de *M. leprae*. Se han caracterizado los PCR, inicialmente utilizando DNA de *M. leprae* T-53, resultante de los fragmentos PCR analizados por electroforesis en gel. Se efectuó un microanálisis DNA de especies cruzadas utilizando 5 ug totales de RNA de T-53 y 4089 y marcados con Cy3 o Cy5 (fluorocromos) utilizando RT. Se hibridan los cDNA marcados a los portas. Los portas se lavan y escanean con un Axon Scanner. Se cuantifica las intensidades obtenidas de las 2 manchas mediante un programa informático GenePix. Los resultados del RT-PCR y experimentos con especies de reactividad cruzada demuestran que hay genes que codifican una gran variedad de enzimas transcritas en ambas cepas. Incluyen enzimas de síntesis ácido fólico, utilización de hierro, cofactores de biosíntesis, gluconeogénesis, glicólisis, glioxilato bypass, beta oxidación de ácidos grasos, degradación de compuestos fosforados, degradación de DNA, detoxificación y proteínas asociadas a virulencia y síntesis de ácidos micólicos, modificación y maduración de ribosomas, síntesis de RNA, proteínas de stress, proteínas de la ruta de secreción SecA y 25 proteínas que contienen motivos de secreción y/o distintas proteínas con funciones desconocidas. Todos estos datos han proporcionado la primera percepción del transcriptoma del *M. leprae* y han demostrado la homogeneidad de esta especie. Es probable que este análisis facilitarán la identificación de un grupo mayor de genes funcionales de *M. leprae* que nos ayudaran a comprender los requerimientos mínimos para el crecimiento y replicación de este patógeno.

Esta información puede llevar a la identificación de nuevas dianas para medicamentos, antígenos para pruebas intradérmicas e identificar factores que permitan que este patógeno evada el sistema inmune y destruya los nervios periféricos.

Patología, Fisiopatología y Bioquímica

Dres. Aung, Thida; Goto, Masamichi; Kyaw, Kyaw; et al. — Revisión histopatológica en una clínica dermatológica de Yangon, Myanmar. — «*Review of histopathology in a special skin clinic in Yangon, Myanmar.*» — 77 Reunión General de la Asociación Japonesa Contra la Lepra. — Jpn. J. Lepr., vol. 73, núm. 2 (2004), pág. 155.

Resumen:

Se han revisado 21 muestras histopatológicas con diagnóstico clínico de lepra de distintos tipos del espectro. Se analizaron las tinciones Haematoxylina y Eosina (H & E), tinción de Fite e inmunohistoquímica por BCG, PGL-1 y CD68. La conservación de los bloques parafinados no era perfecta, pero los resultados con inmunohistoquímica eran aceptables. La tinción de Fite resultó positiva en 4 casos. Por medio de la inmunohistoquímica, se confirmaron 10 casos más como lepra. Un caso presentó sólo un grado moderado de dermatitis perivascular no específica sugestiva de neuritis. La tinción de Fite reveló bacilos en nervios y perineurium. También se encontraron bacilos en algunas de las células fusiformes tipo fibroblásticas de la dermis, donde también resultaron positivas las tinciones BCG y PGL-1. La inmunohistoquímica CD68 también resultó positiva en algunos casos pero las células fusiformes resultaron negativas. Después de evaluar los hallazgos inmunopatológicos, sugerimos que es una lesión precoz de lepra borderline-lepromatosa. Basados en estos datos, se requiere más investigación sobre la invasión de *M. leprae* en los fibroblastos.

Dres. Kai, Masanori; Maeda, Yumi; Maeda, Shinji; Fukutomi, Yasuo; Kobayashi, Kazuo; Kashiwaraba, Yoshiko; Makino, Masahiko; Ali Abbasi, Mohammad; Zubair Khan; Muhammad; Ali Shah, Pervez. — Seguimiento activo de contactos de pacientes de lepra en países de baja endemia. — «*Active surveillance of leprosy contacts in country with low prevalence rate.*» — Int. J. Lepr., vol. 72, núm. 1 (2004), págs. 50-53.

Resumen:

Se hizo un estudio en Pakistán, donde la meta de la OMS de eliminación de la lepra se logró en 1996, para evaluar la evolución de los pacientes sero-positivos a *Mycobacterium leprae* y sus contactos, y para detectar cepas de *M. leprae* resistentes a las drogas antileprosas.

Se midió la presencia de anticuerpos anti-PGL-I en los sueros de los pacientes y sus contactos para detectar la infección temprana por *M. leprae*. De los 34 pacientes en tratamiento, 4 pacientes con lepra lepromatosa (11.7%) tuvieron anticuerpos anti-PGL-I, además de que 6.8% de los contactos ocupacionales y 23.7% de los contactos convivientes también fueron sero-positivos. Tres casos (1.2%) tuvieron anticuerpos anti-PGL-I con títulos elevados. También se estudió la resistencia de las cepas a dapsona y rifampicina. Cuatro de 18 muestras positivas por la reacción en cadena de la DNA polimerasa (PCR) tuvieron una mutación en el gen *folP*, y una de 10 muestras positivas por PCR tuvo una mutación en el gen *rpoB*.

Estos resultados indican que el análisis serológico de los pacientes puede ser útil para detectar a los individuos de alto riesgo, y que en Pakistán hay cepas resistentes a la quimioterapia.

Dr. Lahiri, R.; Randhawa, B. y Krahenbuhl, J. — Definición de viabilidad del *M. leprae* como herramienta de investigación. — «*Further definition of viability of Mycobacterium leprae as a research resource.*» — *Int. J. Lepr.*, vol. 71, núm. 4 (2003), págs. 381-382.

Resumen:

Se precisa urgentemente un método rápido y fiable para comparar la viabilidad de dos suspensiones de *M. leprae* y hemos demostrado anteriormente que un método por radio-respirometría que evalúe la actividad metabólica del *M. leprae* y su correlación con la técnica de la almohadilla plantar en ratón. En este trabajo, presentamos una técnica basada en dos colores (Syto9 y yoduro de Propidium) para determinar si se puede aplicar un método de recuento directo para la viabilidad del *M. leprae*. Se aplicaron una gran variedad de condiciones experimentales para evaluar esta técnica de viabilidad. También se aplicaron ambas técnicas sobre *M. leprae* entre intracelular tintada con distintos principios activos para evaluar la fiabilidad de ambos métodos para el cribaje de medicamentos contra la lepra. Se utilizaron Rifampicina, Clofazimina, Dapsona, Ofloxacina y Minociclina sobre cultivos de *M. leprae*.

El método de cultivo intracelular resultó ser el más efectivo para detectar los efectos antibacterianos de los medicamentos.

Lepra Experimental

Dres. Chul Kim, Byoung; Kang, Tae-Jin, Chae, Gue-Tae; et al. — Asociación de RIPK2 en la infección para *M. leprae* experimental. — «*Association of RIPK2 in experimental M. leprae infection.*» — 77 Reunión General de la Asociación Japonesa Contra la Lepra. — Jpn. J. Lepr., vol. 73, núm. 2 (2004), pág. 157.

Resumen:

La molécula RIPK2 (receptor-interactivo serina/treonina kinasa 2) es una molécula adaptativa comprometida en la ruta de señalización de los TLRs (Receptores tipo Toll). Sin embargo, no hay informes de asociación entre la expresión RIPK2 y las enfermedades micobacterianas en las que los TCRs desempeñan un papel central sobre la interacción de la infección. Hemos analizado la relación entre infección por *M. leprae* y expresión RIPK2 por RT-PCR.

Este estudio reveló que la expresión RIPK2 está disminuida en la almohadilla plantar y piel, pero este incremento en el hígado, nódulo linfático y bazo del ratón nu/nu infectado con *M. leprae* comparado con los controles murinos nu/nu. Se observa que la IL-12p40, IFN-gamma e IL-18 comprometido en la susceptibilidad del *M. leprae* estaba disminuido en la piel y almohadilla, pero incrementado en el hígado. Estos resultados indican que la expresión de la regulación RIPK2 es específica de tejido en ratones infectados por *M. leprae*. Cuando se infectaron células THP-2 con *M. leprae* activado, la expresión RIPK2 disminuyó de forma tiempo/dependiente. Estos resultados proporcionaron la asociación significativa entre el gen RIPK2 y la infección *M. leprae*.

Dr. Kondo, Shoko. — Afectación ocular en lepra. — «*Ocular impairment in leprosy.*» — Jpn. J. Leprosy, vol. 73, núm. 1 (2004), págs. 23-35.

Resumen:

La lepra causa diversas alteraciones oculares e incluso algunas afecciones después de haber dado de alta al paciente. La afectación primaria es causada por la invasión directa del nervio y tejido ocular por *M. leprae*. La afectación secundaria es la complicación por parálisis neural e inflamación residual. El control de estas afectaciones ha sido uno de los principales objetivos de las leproserías japonesas durante estos últimos años.

Un estudio oftalmológico en las leproserías ha revelado un incremento de las afectaciones oculares con la edad de los pacientes. Las secuelas severas, con alteraciones sensoriales y funcionales requieren la aplicación de tecnologías clínicas avanzadas.

Clínica y Diagnóstico

Dres. Fernández, J. L.; Rangel Mayoral, J. F.; Liso Rubio, F. J. — Un caso clínico de lepra, situación y perspectivas de la enfermedad. — *Aten. Farm.*, vol. 6, núm. 2 (2004), págs. 132-136.

Resumen:

Objetivo: Describir el caso clínico de una paciente diagnosticada de Enfermedad de Hansen o lepra por el Servicio de Dermatología del Hospital Infanta Cristina de Badajoz.

Descripción del caso: Mujer de 25 años, procedente de Matto Grosso (Brasil), que presenta pápulas y placas eritematosas infiltradas universales. Engrosamiento de nervio cubital izquierdo y de los nervios poplíteos, así como sensibilidad cutánea disminuida en amplias regiones. La biopsia cutánea realizada muestra la presencia de abundantes bacilos, hallazgo compatible con lepra lepromatosa. Sus antecedentes familiares incluyen a una tía con esta patología. Siendo el diagnóstico final el de Enfermedad de Hansen, fase borderline. El tratamiento pautado es clofazimina 100 mg/día durante 12 meses, rifampicina 600 mg/día entre 3 y 6 meses según evolución y dapsona 50 mg los 15 primeros días de tratamiento y posteriormente 100 mg/día.

Comentario: La lepra es una enfermedad infecciosa crónica y discapacitante, en torno a la cual ha existido un gran temor. Generó que durante siglos fuese considerada como una enfermedad misteriosa asociada a un cierto tipo de maldición que llevó al aislamiento y al ostracismo de las personas enfermas. En la actualidad, es considerada como una enfermedad poco transmisible (resistencia natural en el 95% de la población), fácilmente diagnosticable, curable y de buen pronóstico si se realiza un diagnóstico precoz y un tratamiento adecuado.

Dr. Golchai, Javad; Zargari, Omid; Maboodi, Arash; Maboodi, Aptin; Granmayeh, Siamak. — Lepra lepromatosa con ulceraciones extensas poco frecuentes y caquexia. ¿Se trata del primer caso de fenómeno de Lucio en Irán? — *«Lepromatous leprosy with extensive unusual ulcerations and cachexia. Is It the first case of Lucio's phenomenon from Iran.»* — *Lepr. Rev.*, vol. 72, núm. 1 (2004), págs. 56-59.

Resumen:

Presentamos el caso de una mujer Iraní de 33 años con lesiones ulcerativas diseminadas asociadas a lepra lepromatosa. Pensamos que la aparición súbita de las lesiones necróticas características, la ausencia de fiebre y otras manifestaciones sistémicas, la necrosis epidérmica y la presencia de grandes números de bacilos ácido-resistentes, este es el primer caso de un paciente con fenómeno de Lucio en el Medio Este.

Dr. Ghorpade, A. — Un caso de lepra borderline tuberculoide reaccional por inoculación mediante tatuaje y presencia de tatuajes edemáticos. — «*Reactional tattoo inoculation borderline tuberculoid leprosy with oedematous tattoos.*» — Lepr. Rev., vol. 75, núm. 1 (2004), págs. 91-94.

Resumen:

Se informa de un caso de lepra borderline tuberculoide (BT) por inoculación con reacción de incremento y edema por tatuaje al iniciar multiterapia (PB MDT) de tipo paucibacilar. Se confirmó el diagnóstico por histopatología. Se obtuvo una buena respuesta con esteroides orales y PB MDT. Sólo hay otro caso similar en la literatura.

Dres. Kar, Bikash Ranjan; Belliappa, P. R.; Ebenezer, Gigi; Job, C. K. . — Lepra de tipo borderline de lesión única. — «*Single lesion borderline lepromatous leprosy.*» — Int. J. Lepr., vol. 72, núm. 1 (2004), págs. 45-47.

Resumen:

Se informa el caso de un paciente que se presenta con una sola lesión en la cara; el examen histopatológico de la lesión fue indicativo de un caso de lepra lepromatosa subpolar. Se enfatiza la importancia de hacer, como rutina, el estudio de linfa cutánea en todos los pacientes con el fin de diferenciar la enfermedad multibacilar de la paucibacilar.

Terapéutica

Dres. Gidoh, Masaichi; Namisato, Masako; Kumano, Kimiko; et. al. — Directrices para el tratamiento de la lepra con quinolonas. — «*Guideline for the treatment of leprosy by new quinolones.*» — Jpn. J. Leprosy, vol. 73, núm. 1 (2004), págs. 65-67.

Resumen:

Actualmente, se administra ofloxacina (OFLX) como sustituto en la MDT para la resistencia a la dapsona, rifampicina o clofazimina. Para la resistencia a la OFLX también es preocupante. El incumplimiento terapéutico o el tratamiento con subdosis óptimas constituyen los principales motivos de resistencia. Hay que aplicar OFLX en tratamiento combinado y a una dosis mínima diaria de 40 mg/OFLX o 200-300 mg de levofloxacina. Se considera que hay resistencia a la quinolona cuando no se ex-

perimenta mejoría clínica y/o en los índices bacterianos después de 6 meses de tratamiento. En estos casos hay que detectar la presencia de genes resistentes.

Dres. Gómez-Reino, J. J.; Carmona, L., Valverde, V. R.; Mola, E. M.; Montero, M. D. y Grupo BIOBADASER. — Tratamiento de la artritis reumatoide con inhibidores del factor de necrosis tumoral puede predisponer a un incremento significativo de riesgo de tuberculosis: informe de un estudio multicéntrico. — «*Treatment of rheumatoid arthritis with tumor necrosis factor inhibitors may predispose to significant increase in tuberculosis risk: a multicenter active-surveillance report.*» — *Arthritis Rheum.* 48(8) (2003) 2122-2127. — *Int. J. Lepr.*, vol. 71, núm. 4 (2003), pág. 387.

Resumen:

OBJETIVO: La seguridad a largo plazo de los agentes terapéuticos que neutralizan factor de necrosis tumoral (TNF). Evidencias recientes revelan una asociación con tuberculosis activa (TB). Iniciamos este estudio para determinar y describir la seguridad a largo plazo de 2 de estos agentes, infliximab y etanercept, en enfermedades reumáticas basado en un sistema de vigilancia nacional después de la comercialización de estos medicamentos.

MÉTODOS: Analizamos toda la información recogida en BIOBADASER (Base de Datos de Productos Biológicos de la Sociedad Española de Reumatología) que se formó en febrero de 2000 por la Sociedad Española de Reumatología. Para estudiar el riesgo TB, se compararon el índice anual de pacientes tratados con estos agentes con el índice de fondo y en un cohorte de pacientes con artritis reumatoide (RA), formado antes de la era del tratamiento anti-TNF.

RESULTADOS: Setenta y uno de los centros participantes presentaron datos sobre 1.578 tratamientos con infliximab (86%) o etanercept (14%) en 1.540 pacientes. Los índices de supervivencia (porcentajes de acumulación de pacientes recibiendo tratamiento) para infliximab y etanercept juntos era del 85% y 81% al año y 2 años respectivamente. Los casos del incumplimiento o adherencia al tratamiento eran fundamentalmente por efectos secundarios. Se diagnosticaron 17 casos de TB en pacientes con infliximab. El índice obtenido de TB con infliximab en pacientes RA era 1.893 por 100.000/año en el año 2000 y 1.113 por 100.000 año 2001. Estos resultados representan un incremento del riesgo significativo comparado con los índices de fondo. Durante los 5 primeros meses del 2002, después de aplicar directrices para la prevención del TB en pacientes con estos medicamentos, sólo 1 nuevo caso de TB fue registrado (en enero).

CONCLUSIÓN: Se asocia la terapia con infliximab con un riesgo incrementado de TB activa y se requieren medidas adecuadas para prevenir y contrarrestar efectos secundarios.

Dres. Marriot, J. B.; Dredge, K. y Dagleish, A. G. — Compuestos derivados de la talidomida (IMiDs) como posibles agentes terapéuticos. — «*Thalidomide derived immunomodulatory drugs (IMiDs) as potential therapeutic agents.*» — *Curr. Drug Targets Immune Endocr. Metabol. Disord.* 3(3) (2003) 181-186. — *Int. J. Lepr.*, vol. 71, núm. 4 (2003), págs. 387-388.

Resumen:

La talidomida es efectiva en el tratamiento de numerosas condiciones, incluyendo lepra y varios cánceres. Los mecanismos exactos de esta acción permanecen desconocidos aunque se sabe que incluyen una actividad anti-factor de necrosis tumoral alfa (TNF)-alpha, actividad co-estimulante célula T, y anti-angiogénica y anti-tumoral. Sin embargo, se experimentó con nuevas estructuras derivadas, diseñadas para mejorar la actividad inmunomoduladora y perfil de efectos secundarios. Actualmente, están siendo caracterizadas y algunas ya están en estudios clínicos de fase I/II. Un grupo se clasificó como Medicamentos Inmunomoduladores (IMiDs). Esta revisión describe las propiedades inmunológicas emergentes, anti-angiogénicas y anti-tumorales de la talidomida y la caracterización y aplicación clínica de sus análogos IMiD. Los resultados de los primeros ensayos revelan que estos compuestos por sí mismos pueden constituir terapias, particularmente para ciertos cánceres. Además, en el futuro se determinará cómo aplicar mejor estos compuestos dentro del contexto clínico. Describimos los diversos estudios clínicos de los principales compuestos que están actualmente incluidos en estudio y especular sobre el potencial y desarrollo futuro de estos compuestos.

Dres. Nasca, M. R.; Micali, G.; Cheigh, N. H.; et al. — Utilización dermatológica y no dermatológica de la talidomida. — «*Dermatologic and nondermatologic uses of thalidomide.*» — *Ann. Pharmacother.* 37(9) (2003) 1307-1320. — *Int. J. Lepr.*, vol. 71, núm. 4 (2003), pág. 388.

Resumen:

OBJETIVO: El objetivo es revisar la literatura publicada sobre la talidomida, con especial énfasis en los conocimientos actuales sobre su mecanismo de acción, nuevas y/o potenciales aplicaciones dermatológicas y no dermatológicas bien delimitadas y posibles efectos adversos y las indicaciones actuales para su administración segura.

FUENTES DE INFORMACIÓN: Revisión de artículos sobre estudios in vitro, referencias de artículos ya publicados, informes de casos y ensayos clínicos procedentes de bases de datos informatizadas mediante MEDLINE y OVID (1966-Enero 2003) y los Registros de los Ensayos Clínicos del Estudio Cochrane (enero 2003). También la información disponible de los libros de resúmenes y abstracts, Internet, o las compañías farmacéuticas.

SELECCIÓN DE ESTUDIOS Y EXTRACCIÓN DE DATOS: Se consideraron todos los artículos como importantes, incluyendo los de lengua no inglesa, para intentar proporcionar al lector tanto la base técnica como práctica de las directrices para la farmacoterapia de la talidomida.

SÍNTESIS DE LOS DATOS: La talidomida presenta acciones hipnosedativas, antiangiogénica, antiinflamatoria y propiedades inmunomoduladoras. Además, inhibe selectivamente la producción de factor de necrosis tumoral alfa y disminuye la expresión de distintos receptores de integración situados sobre la membrana de los leucocitos y otras células de modo dosis/dependiente. Los ensayos controlados revelan la eficacia de la talidomida en gran cantidad de enfermedades, incluyendo el eritema nodosum leprosum, aftosis, enfermedad de rechazo del injerto, prurigo nodularis y prurigo actínico. Los resultados de los estudios de casos únicos o en pequeñas series han sugerido un potencial papel de la talidomida en otras muchas enfermedades dermatológicas y no-dermatológicas. Entre los posibles efectos graves y a veces irreversibles relacionados al uso clínico de la talidomida incluyendo teratogenocidad y neurotoxicidad.

CONCLUSIONES: Aunque tanto la teratogenocidad y neurotoxicidad son efectos adversos muy serios que requieren muchas precauciones, se trata de un medicamento muy efectivo en gran cantidad de enfermedades difíciles de tratar.

Dres. Norman, Gift; Joseph, Geetha; Richard, Joseph. — — Recidivas en pacientes multibacilares tratados con multiterapia hasta negativación a los 20 años de seguimiento. — «*Relapses in multibacillary patients treated with Multi-drug Therapy until smear negativity: findings after twenty years.*» — Int. J. Lepr., vol. 72, núm. 1 (2004), págs. 1-7.

Resumen:

El centro Schieffelin de formación e investigación contra la lepra en Karigiri, India, ha participado en varios estudios de campo de la Organización Mundial de la Salud (OMS). El primer estudio sobre terapia combinada en casos de lepra multibacilar se inició en 1981. El principal objetivo de este estudio fue la evaluación de la eficacia de los regímenes de tratamiento recomendados por la OMS en la prevención de recaídas, especialmente las recaídas en la resistencia a las drogas antileprosas. En este artículo se informa sobre la incidencia de recaídas 20 años después de haberse realizado el estudio de la OMS.

Entre 1981 y 1982, 1067 pacientes con lepra lepromatosa y lepra lepromatosa subpolar se incluyeron en un estudio de campo de la OMS para recibir tratamiento antileproso combinado. Trescientos cincuenta y siete de estos pacientes resultaron positivos para bacilos en linfa cutánea. Durante el seguimiento en 2002, sólo 173 de los pacientes pudieron ser localizados y evaluados. El tiempo promedio de seguimiento fue de 16.4 ± 1.83 años. Dos pacientes tuvieron recaídas a los 14 y 15 años,

respectivamente, después de haber completado el tratamiento, siendo la tasa de recaída de 0.07 por 100 persona/años de seguimiento. Las pruebas de susceptibilidad realizadas en uno de los pacientes revelaron que los microorganismos fueron sensibles a todas las drogas de la poliquimioterapia.

Dr. Rea, T. H. — Reacción de reversión 16 años después de iniciar el tratamiento antimicrobiano. — «*Reversal reaction occurring 16 years after beginning antibacterial treatment.*» — *Lepr. Rev.*, vol. 75, núm. 1 (2004), págs. 86-90.

Resumen:

Las reacciones de reversión (reacciones tipo I) o reacciones de hipersensibilidad de tipo retardado (DTH) son causas importantes de morbilidad en los pacientes de lepra, especialmente por su propensión a la afectación neural. Las reacciones de reversión pueden ser la causa de la enfermedad, puede presentarse en asociación con tratamiento antimicrobiano, o presentarse después de haber completado el tratamiento. Su incidencia varía entre grupos considerablemente, pero en asociación con el tratamiento la incidencia es más frecuente el primer año y a partir de ahí disminuye cada año. Hay informes sobre la incidencia de reacciones de reversión 7 años después de iniciar el tratamiento. Este trabajo informa del inicio de una reacción de reversión a los 16 años después de iniciar el tratamiento.

Dres. Zhang, Liangfen; Matsuoka, Masanori; Budiawan, Teky; et al. — Prevalencia de lepra resistente en países del sureste de Asia. — «*Prevalence of drug resistant leprosy case in Southeast asian countries.*» — 77 Reunión General de la Asociación Japonesa Contra la Lepra. — *Jpn. J. Lepr.*, vol. 73, núm. 2 (2004), pág. 152.

Resumen:

Introducción: El control actual de la lepra está fundamentado en la multiterapia (MDT). Sin embargo, casos de lepra resistente empezaron a aparecer poco después de la introducción de la dapsona. Aunque la comprobación de la susceptibilidad a la medicación por medio de la técnica de inocular en almohadilla plantar era un impedimento por su laboriosidad y lentitud, la biología molecular ya proporciona medios y técnicas más fiables y fáciles de ejecutar. Hemos estudiado la prevalencia de resistencia a la dapsona y rifampicina en algunos países endémicos detectando mutaciones importantes en los genes *folP* y *rpoB*.

Material y métodos: Se recogieron las muestras durante la baciloscopia, colocando la hoja de bisturí en etanol al 70%. Los moldes de DNA se prepararon y se obtuvieron los fragmentos PCR conteniendo las secuencias de los genes *folP* y *rpoB*, seguido por secuenciación directa. Las muestras analizadas fueron: Sulawesi Norte: *folP*; 88, *rpoB*; 108. Surabaya: *folP*; 50, *rpoB*; 52. Cebu: *folP*; 56, *rpoB*; 56. Las muestras de Cebu se sometieron a inoculación en almohadilla plantar de ratón.

Resultados y discusión: De las 88 muestras de Sulawesi Norte, 1 caso reveló mutación en el gen folP. De las 108 muestras de Sulawesi Norte, 6 casos presentaron mutación en el gen rpoB que origina sustitución del aminoácido relacionado con resistencia a la rifampicina. Además, se observaron mutaciones silentes en 4 casos. Había 3 casos con mutaciones en el gen folP y sin mutación en el gen rpoB. Es destacable la elevada resistencia a la rifampicina donde 3 de 4 casos son de resistencia primaria. Uno de los motivos es la administración de rifampicina para otras enfermedades. La prevalencia de la resistencia a la dapsona en Cebu es menor que en los informes previos. Se discuten los resultados obtenidos en el control de la lepra.

Cirugía, Fisioterapia y Rehabilitación Física

Dres. Aoki, Yoshinori; Fujita, Mika; Tanaka, Hidemoto; et al. — Estudio de discapacidades por medio de una base de datos para la prevención de discapacidades (POD) y prevención del empeoramiento de las discapacidades (POWD) en la lepra en 9 aldeas de Myanmar Central. — «*Disability survey as a baseline data collection for the service of prevention of disability (POD) and prevention of worsening of disability (POWD) of leprosy in 9 townships of Mid-Myanmar.*» — 77 Reunión General de la Asociación Japonesa Contra la lepra. — Jpn. J. Lepr., vol. 73, núm. 2 (2004), pág. 139.

Resumen:

Myanmar era uno de los países donde la lepra era muy endémica. Después de muchos esfuerzos en su control por medio de la MDT /OMS, se consiguió la eliminación a nivel nacional en enero de 2003. La eliminación a nivel sub-nacional (provincial o municipal) se conseguirá a finales del 2004. El número de pacientes RFT acumulados es mayor de 260,000 desde 1991 cuando se introdujo la OMS/MDT. También hay unos 200,000 pacientes que fueron tratados con DDS mono terapia antes de OMS/MDT.

Entre estos pacientes, los que presentan deterioro neural debían ser cuidados por medio de los servicios de discapacidades (POD) y/o prevención del empeoramiento de las discapacidades (POWD) de la lepra. El proyecto conjunto de la Agencia Internacional de Cooperación del Japón (JICA) y el Departamento de Salud, Ministerio de Sanidad, Unión de Myanmar) (DOH) introducirá un servicio de

POD/POWD a nuevos municipios de Myanmar Central como sistema de ensayo. El servicio POD/POWD consiste en: 1) estudio de discapacidades seguido de su ejecución por medio de un plan activo, 2) práctica de auto-cuidados, 3) control de leproreacciones, 4) facilitar calzado, 5) control de úlceras plantares, 6) cirugía plástica del pie caído.

Los objetivos del estudio de discapacidades son: 1) evaluar la magnitud de las discapacidades entre los PAL (Persona Afectada de Lepra) en el municipio, 2) Identificar las necesidades individuales para la rehabilitación física y proporcionar información básica para la planificación e implementación de medidas POD/POWD.

Los procedimientos son: 1) formación de los supervisores, 2) confeccionar una lista de pacientes RFT, 3) entrevistas para confeccionar el estudio (desde un cuestionario), 4) análisis de datos y plan de actuación para proporcionar servicios, 5) empezar a proporcionar POD/POWD, 6) control y evaluación de proyectos y sus impactos, 7) informes para el gobierno. De la información preliminar un 1.7% de la población local son pacientes RFT (409/23,961).

Dr. Brandsma, J. W. — Enseñanzas obtenidas de la rehabilitación para la lepra y aplicables a la rehabilitación general. — «*Lessons from leprosy rehabilitation for general rehabilitation.*» — Ethiop. Med. J. 41(1) (2003) 77-87. — Int. J. Lepr., vol. 71, núm. 4 (2003), pág. 414.

Resumen:

La lepra es fundamentalmente una enfermedad de la piel y nervios periféricos. Los pacientes de lepra pueden desarrollar afectación neural periférica como pérdida de sensibilidad, debilidad o parálisis. Estas alteraciones primarias pueden conllevar alteraciones de tipo secundario como ulceración y contracturas. Hay otras enfermedades que presentan alteraciones similares a las observadas en la lepra, p. ej. diabetes y alteraciones neurales periféricas. La evaluación de la función neural y la prevención de úlceras y su tratamiento constituyen áreas que han sido investigadas en lepra pero sin resultados concluyentes y muchos precedentes de afecciones "relacionadas" con la lepra. La rehabilitación es relativamente nueva en la lepra y no está bien desarrollada en muchos países en desarrollo. La rehabilitación exige un planteamiento integral desde distintas áreas y por distintos profesionales. Como otras áreas médicas, la rehabilitación exige evidencia basada en la práctica.

Epidemiología, Prevención y Control

Dres. Cunha, Sérgio S.; Dourado, Inés; Barreto, Mauricio L.; Alexander, Neal; Pereira, Susan M.; Ichihara, Yury; Pereira, Emilia S.; Pedrosa, Valderiza; Maroja, Fátima; Ribas, Carla; Rodrigues, Laura C. — Diseño del componente de la lepra en ensayo clínico brasileño sobre revacunación con BCG para evaluar la efectividad de la BCG frente a la lepra en escolares. — «*Design of the leprosy component of the brazilian BCG revaccination trial for assessing BCG effectiveness against leprosy in school children.*» — Int. J. Lepr., vol. 72, núm. 1 (2004), págs. 8-15.

Resumen:

Panorama. La vacunación con BCG confiere protección contra la lepra, y en Brasil se recomienda la aplicación de esta vacuna entre los contactos convivientes de los pacientes con lepra. Sin embargo la vacuna BCG no se aplica a la comunidad entera debido a que la lepra tiene una baja incidencia en la mayoría de las poblaciones. Por otro lado, la vacunación con BCG se aplica rutinariamente entre los niños escolares en Brasil, como prevención contra la tuberculosis. Suponemos que la vacunación en gran escala con BCG podría también incidir sobre la ocurrencia de lepra, y esto hace necesario el estudio sobre su impacto en la lepra, en las áreas endémicas de Brasil.

Objetivos. Calcular la efectividad contra la lepra de una dosis de vacuna BCG aplicada a niños escolares en una población con una alta cobertura de BCG neonatal. Un objetivo a largo plazo es la comparación del impacto de la vacunación entre los niños escolares con la recomendación existente de vacunar a los contactos convivientes de los pacientes con lepra.

Diseño del estudio. Estudio de campo aleatorio controlado sin placebo.

Población de estudio. Niños de 7 a 14 años, alumnos de escuelas estatales con alta cobertura de BCG neonatal.

Métodos. Participaron 186 escuelas estatales de la ciudad de Manaus, Brasil y la mitad de ellas se asignó, aleatoriamente, para aplicar o no la vacuna BCG. Se colectó la información de identificación de 152,438 niños escolares, de los cuales 72,980 pertenecían a escuelas de intervención. La vacuna BCG se administró intradérmicamente en los niños escolares de las escuelas seleccionadas. El seguimiento se basa en el registro de los casos diagnosticados en los Servicios de Salud notificados al Centro de Referencia de la Lepra.

Dres. Figueiredo, I. A. y da Silva, A. A. — Incremento en los índices de detección de la lepra en Sao Luis, Maranhao, Brasil, desde 1993 a 1998: ¿se está extendiendo la

endemia?. — «*Increase in leprosy detection rates in Sao Luis, Maranhao, Brazil, from 1993 to 1998: is the endemic expanding?*» — *Cad Saude Publica*. 19(2) (2003) 439-445. — *Int. J. Lepr.*, vol. 71, núm. 4 (2003), pág. 413.

Resumen:

Se llevó a cabo un estudio epidemiológico descriptivo sobre la detección de nuevos casos de lepra en Sao Luis, Maranhao, Brasil, desde 1993 hasta 1998. Se formó una base de datos para tal propósito con 2.796 casos. Se calcularon los índices generales de detección junto a los índices de género, tipo clínico y grupos de edad. También se efectuaron contactos lineales, exponenciales, geométrico y modelos de ajuste logarítmicos para analizar los intervalos en el tiempo de la enfermedad. Se observó un incremento en la detección, comprometiendo principalmente casos femeninos y paucibacilares, sobre todo de tipo tuberculoide. El incremento en la detección era más evidente en el grupo de población entre 15-19 años, lo cual indica la necesidad de búsqueda activa de casos en este grupo.

Dr. Hatta, M. — Epidemiología de la lepra: planteamientos moleculares, biológicos e inmunológicos. — «*Epidemiology of leprosy. Molecular, biological, and immunological approach.*» — *Adv. Exp. Med. Biol.* 531 (2003) 269-278. — *Int. J. Lepr.*, vol. 71, núm. 4 (2003), págs. 413-414.

Resumen:

La lepra es una enfermedad infecciosa y los humanos son considerados la única fuente de infección. El mayor inconveniente en el control de la lepra y en alcanzar la meta de eliminación es que muchos casos de lepra no se detectan durante mucho tiempo. Muchos de estos pacientes son una fuente continua de infección y por tanto de transmisión. La meta de la OMS era eliminar la lepra como problema de salud pública para el año 2000; es decir, alcanzar una prevalencia de menos de 1/10.000. Los datos epidemiológicos generados por los servicios sanitarios están muy influenciados por sus políticas y actividades. Sin embargo, los datos reflejan necesariamente la situación en el campo. La información sobre la magnitud del problema de la lepra en cualquier área es importante para los servicios sanitarios en relación a la planificación, control y evaluación de las actividades de control de la lepra. Nuestros estudios revelan que la elevada incidencia de anticuerpos en niños refleja la transmisión del *M. leprae* en sus alrededores. La prevalencia de estos anticuerpos también puede ser importante para los programas de control de la lepra para detectar nuevos pacientes cuanto antes y de manera efectiva y sostenible. Los datos de PCR indican que el medio ambiente también desempeña un papel importante en la transmisión en países endémicos. Nuestros datos revelan que el contacto con un paciente de lepra es un factor determinante en la

incidencia de la enfermedad y este principio coincide con la transmisión tipo "ondas en el estanque" de la tuberculosis.

Dres. Izumi, Shinzo; Agusni, Indropo. — Situación mundial de la lepra y progreso reciente en la epidemiología molecular de la enfermedad. — «*Global situation of leprosy and recent progress in molecular epidemiology of the disease.*» — Jpn. J. Leprosy, vol. 73, núm. 1 (2004), págs. 37-46.

Resumen:

Los descubrimientos recientes sobre la diversidad genética del *M. leprae* como el número variable de repeticiones tándem ha abierto una nueva era en las posibles aportaciones de la epidemiología mediante el estudio de la lepra. Se demuestra que la presencia del bacilo en el medio ambiente de las aldeas endémicas constituye una importante fuente de infección. La estrategia sobre la eliminación global se revisaría teniendo en cuenta las aportaciones de la epidemiología molecular. La responsabilidad del leprólogo es proponer programas de control viables a las administraciones locales basados en el análisis epidemiológico sobre transmisión de la enfermedad.

Dr. Jia-yu, Le. — Prevención de la lepra y tratamiento en China. — «*Leprosy prevention and treatment in China.*» — 77 Reunión General de la Asociación Japonesa Contra la Lepra. — Jpn. J. Lepr., vol. 73, núm. 2 (2004), págs. 111-112.

Resumen:

1. Situación general de la endemia de lepra y su control.

(1) La endemia de la lepra tiene una historia de más de 2.000 años en China, aunque no disponemos de datos estadísticos fiables.

(2) El número estimado de pacientes de lepra era de 500.000 cuando se fundó la República Popular de China (PRC).

(3) En el año 2000, el número de casos activos de lepra en la PRC era de alrededor de 6.000. La mayoría de las regiones del país han cumplido los criterios de eliminación con índices acumulados de incidencia menores de 0.1/100.000 mientras que la incidencia en los 5 años recientes es menos de 0.5/100.000.

(4) El Ministerio de Sanidad evaluó la situación en la ciudad de Shanghai, una ciudad con 13 millones de habitantes censados más 4 millones de población emigrante en 1990. La conclusión fue que se habían cumplido los criterios de eliminación. A final de 2001, el número de casos de lepra registrados en toda la ciudad era de 5.437, con más del 61% de discapacitados.

2. Medidas básicas para la prevención de la lepra y su tratamiento.

(1) Pacientes de lepra tratados activamente.

I. La mayoría de regiones del país han establecido programas gubernamentales de prevención y tratamiento para la lepra o clínicas para dermatosis que admiten y tratan pacientes de lepra desde 1950.

II. Después de la década de los ochenta, una mayoría de pacientes ya no eran infecciosos porque se aprobó la administración de la quimioterapia combinada. Se redujo significativamente el número de pacientes de lepra recién diagnosticados y también de recidivas. Se cambiaron la mayoría de pacientes a pacientes de tipo ambulatorio, abandonando el sistema de residentes en Sanatorios y su seguimiento y control fue por medio de los médicos locales de su comunidad.

III. Después de la década de los noventa, un gran número de pacientes mayores disfrutan de unas condiciones de vida garantizadas y cuidados sanitarios de sus discapacidades.

(2) Formación en el aprendizaje de prevenciones y su tratamiento.

I. Se confía en los profesionales entrenados en la prevención de la lepra y su tratamiento.

II. Se proporcionan e imparten cursos sobre prevención de la lepra y su tratamiento a personal médico como dermatólogos, neurólogos, etc.

III. Se organizan equipos de personal especializado en la presencia de epidemias para impartir conocimientos sobre la epidemiología de la enfermedad y su educación sanitaria.

IV. Se refuerzan los programas de investigación científica.

(3) Educación sanitaria.

Durante miles de años, la lepra ha sido considerada una enfermedad terrible y contagiosa. Se propaga continuamente empleando medios de comunicación que la lepra es curable y que la sociedad debe tratar los pacientes de lepra con preocupación y no con discriminación.

3. Movilizar la sociedad para obtener su apoyo en los programas de Prevención y Tratamiento.

(1) Se refuerzan las ayudas gubernamentales con fondos de organizaciones de caridad.

(2) Proporcionan material ortopédico para los pacientes más discapacitados.

(3) Donaciones recibidas a través de la Cruz Roja para mejorar las condiciones de vida de los pacientes y organizan visitas para que conozcan mejor el país y su progreso.

4. Desafíos en la Prevención y Tratamiento de la lepra.

(1) El estigma todavía existe en la sociedad. Hay que continuar con los programas de educación sanitaria.

(2) Las regiones que han conseguido la eliminación deben continuar con la lucha contra la lepra.

(3) Resulta muy importante descubrir y tratar los nuevos casos detectados en la población emigrante.

Dres. Kalk, A.; Fleischer, K. — Descentralización del sistema sanitario en Colombia y Brasil y su impacto sobre el control de la lepra. — «*The decentralization of the health system in Colombia and Brazil and its impact on leprosy control.*» — *Lepr. Rev.*, vol. 75, núm. 1 (2004), págs. 67-78.

Resumen:

Los planteamientos sobre la descentralización constituyen un componente integrado de las reformas del sector sanitario en gran cantidad de países. La capacidad de dichos planteamientos para mejorar la calidad y eficacia del sistema sanitario se apoya en evidencias científicas muy limitadas. Este trabajo intenta evaluar el impacto de la descentralización sobre un grupo especializado de control de enfermedades (control de la lepra) en Colombia y Brasil. Analiza la respectiva base jurídica, indicadores epidemiológicos y publicaciones locales. Además, se llevaría a cabo 39 entrevistas semi-estructuradas con los individuos clave. En ambos países la devolución de la responsabilidad técnica y recursos económicos a los municipios constituye el módulo implantado de descentralización. El acceso a los cuidados sanitarios preventivos y de atención y la participación comunitaria mejoraron solamente de manera significativa en Brasil. La descentralización a providentes de tipo privado en Colombia tuvo efectos más dudosos. El flujo de los recursos (incluyendo los económicos y tasas de impuestos estatales en vez de compañías de seguros) parece estar mejor atendido en Brasil. El control de la lepra en Brasil se aprovecha del proceso de descentralización; en Colombia casi se colapsa.

Dres. Matsuoka, Masanori; Zhang, Liangfen. — Epidemiología molecular de la lepra. — «*Molecular epidemiology of the leprosy.*» — *Jpn. J. Leprosy*, vol. 73, núm. 1 (2004), págs. 7-14.

Resumen:

Se describe la aplicación de técnicas de biología molecular en el estudio epidemiológico de la lepra. Se revisa el concepto de detección de DNA *M. leprae* en mucosa nasal en cuanto a la epidemiología y el significado de una elevada prevalencia. Se detalla los resultados de los estudios sobre transmisión de la enfermedad y la correlación entre la distribución geográfica de los distintos genotipos rpoT *M. leprae* y la diseminación prehistórica de la lepra por la genotipificación basada en el polimorfismo genómico.

Dres. Matsuoka, M.; Zhang, L., y Budiawan, T. — Análisis de la transmisión de la lepra mediante la genotipificación. — «*Analysis of leprosy transmission based on genotyping.*» — *Int. J. Lepr.*, vol. 71, núm. 4, pág. 382.

Resumen:

Se dividieron las cepas de *Mycobacterium leprae* en dos grupos mediante el polimorfismo del gen *rpoT*. Se investigó la distribución geográfica del genotipo *rpoT* de *M. leprae* en Hispanoamérica en conexión con la migración prehistórica humana. Todas las cepas *M. leprae* de Perú y Paraguay presentan 3 repeticiones tardía de 6pb. Por el contrario, en México 25/27 cepas revelaron 4 repeticiones tándem. Se cree que la lepra fue introducida en estos países por distintos grupos procedentes de Mongolia que emigraron a Latinoamérica.

La genotipificación, evaluando los polimorfismos TTC repetitivos se aplicó al análisis epidemiológico de la transmisión de la lepra. El *M. leprae* detectado en las mucosas nasales de la población presenta una variedad de repeticiones TTC. Se examinaron el genotipo de 4 casos de lepra procedentes de 2 familias. Las cepas de *M. leprae* procedentes de padre e hijo revelaron el mismo genotipo TTC, pero en el padre e hijo de la otra vivienda estaban infectados por otra cepa *M. leprae*. Estos hallazgos apuntan a que la fuente de infección puede ser diversa aunque se acepta que la principal vía de transmisión son los pacientes multibacilares y que el conviviente en contacto con estos individuos presenta el mayor riesgo de contagio. La determinación de otras fuentes de infección sería importante para los programas de control sobre todo en países endémicos. Estos resultados avalan la existencia de otros reservorios aparte del conviviente por un individuo multibacilar.

Dres. Meima, Abraham; Richardus, J. H. y Habbema, J. D. F. — Tendencias en la detección de casos de lepra en el mundo, desde 1985. — «*Trends in leprosy case detection worldwide since 1985.*» — *Lepr. Rev.*, vol. 75, núm. 1 (2004), págs. 19-33.

Resumen:

Se describen las tendencias en la detección de casos de lepra y del índice de detección de casos (CDR) desde 1985 tanto a nivel regional como nacional. La detección anual de casos (CDR) por la OMS está disponible desde 1994-2000. Con el empleo de distintos medios, se construyen series de intervalos de tiempo completo desde 1985-1998 para un grupo de 33 países endémicos de manera acumulativa (primeros 33) y para 14 países de manera individual. Se utilizan estadísticas sobre población para obtener las CDRs. La India abarca el 79% en la detección global de casos en 1998. África, las Américas y el Sudeste de Asia aportan un 30% respectivamente si se excluye la India. Durante el período 1994-2000, la detección de casos no disminuyó en estas tres regiones OMS. Los 33 países contribuyen con un 99% y 98% de la detección global de casos en 1994 y 1998, respectivamente. El índice de detección de casos acumulativos para los primeros 33 países menos la India aumentaría gradualmente hasta casi el doble del inicial. La contribución de los otros 14 países a la detección de casos no varió prácticamente en el tiempo, llegando a 96% en 1998

(81% al excluir la India). En términos de detección anual de casos, Brasil aporta el 27% del total en 1998. En ese mismo año, 7 de los primeros 14 países –incluyendo India y Brasil– presentaron CDRs superiores a 2/10.000. La CDR no pasó del 1/10.000 en los otros siete. Se puede observar disminución en las tendencias de 4 de los 14 países (Guinea y tres países del Pacífico Oeste: China, Vietnam y Filipinas). En resumen, no se observa un declive gradual en la detección de casos hasta la fecha y varios países importantes todavía presentan CDRs muy elevados. La prevalencia no es un factor determinante para controlar los cambios epidemiológicos en la lepra. Las tendencias en la transmisión e incidencia no está bien detectada y requiere más estudio. El objetivo de eliminar la lepra como problema de salud pública, definido como una prevalencia menor del 1/10.000, no es adecuado como indicador para el control de la lepra.

Dres. Norman, G.; Joseph, A.; Udayasuriyan, P.; et al. — Detección de casos de lepra en escolares. — «*Leprosy case detection using schoolchildren.*» — *Lepr. Rev.*, vol. 75, núm. 1 (2004), págs. 34-39.

Resumen:

Se llevó a cabo una metodología nueva que combina un aumento de la percepción con el cribaje de alumnos en 26 institutos seleccionados al azar en el área del proyecto del Centro para Formación e Investigación de la lepra de Schieffelin en Karigiri, Vellore, India. Este método enseña a los profesores y delegados de los cursos de grado de 8-12 sobre la lepra y cómo sospechar un posible caso de lepra. Los delegados estudiantiles a su vez llevaron a cabo un programa para aumentar la percepción de la enfermedad entre los estudiantes y les animaron a informar sobre cualquier lesión o problema dermatológico. Basado en los informes de los alumnos, los encargados elaboraron una "lista de sospecha". Personal formado en lepra visitaron el centro y examinaron a todos los de la lista. Los casos más sospechosos fueron derivados a un médico, que confirmaba el diagnóstico e instauraba un tratamiento. De entre los 23,125 alumnos del programa en los 26 institutos, unos 234 delegados asistieron al programa sobre lepra. Un total de 2.200 alumnos (9.5%) se presentaron ante los delegados con lesiones cutáneas y fueron examinados finalmente por personal médico detectándose 14 nuevos casos (NCDR 6.05/10.000). Esta tasa es comparable a las obtenidas con los Programas Nacionales de Erradicación de la Lepra (NLEP), cuando se examinaba a todos los escolares. Este trabajo sugiere que los escolares pueden utilizarse de manera efectiva para la detección de casos de lepra y este método presenta la ventaja adicional de crear más percepción entre ellos, sus profesores y comunidades.

Psicología, Educación y Rehabilitación Social

Dres. Tsutsumi, A.; Izutsu, T.; Akul Islam, M. D.; et al. — Estado depresivo de los pacientes de lepra en Bangladesh: asociación con la auto percepción del estigma. — «*Depressive status of leprosy patients in Bangladesh: association with self-perception of stigma.*» — *Lepr. Rev.*, vol. 75, núm. 1 (2004), págs. 57-66.

Resumen:

La estigmatización de la sociedad y sus comportamientos negativos hacia los pacientes de lepra impacta sobre su salud mental y a la percepción del paciente sobre el estigma. El objeto de este trabajo es evitar el estado depresivo en Dhaka, Bangladesh. Se incluyen en el estudio 140 pacientes y un grupo comparativo seleccionado de 135 personas locales sin enfermedades crónicas. Para evaluar el estado depresivo, se aplicó la escala de depresión del Centro de Estudios Epidemiológicos (CES-D) Bengalí. El estado depresivo del grupo de pacientes era significativamente mayor al del grupo comparativo. El estado depresivo de los que contestaron afirmativamente era significativamente más grave que los que habían contestado negativamente a tres cuestionarios: 1) He sido agredido físicamente. 2) Encuentro que la gente me mira como algo extraño. 3) Se me ha negado adquirir algún producto en las tiendas. Los resultados confirman el mayor estado depresivo comparado con el de la población general. Además, las experiencias sobre discriminación basadas en el estigma se asocian con el estado depresivo de los pacientes de lepra. Parece evidente que hay que procurar cuidados de salud mental, regular actitudes de discriminación y educación que disminuyan el estigma social entre la población, especialmente en las personas que mantienen contactos con estos enfermos.

Generalidades e Historia

Dres. Dionne, M. S.; Ghor, N. y Schneider, D. S. — *Drosophila melanogaster* es un modelo de huésped para *Mycobacterium marinum*. — «*Drosophila melanogaster is a genetically tractable model host for Mycobacterium marinum.*» — *Infect. Immun.* 71(6) (2003) 3540-3550. — *Int. J. Lepr.*, vol. 71, núm. 4 (2003), págs. 383-384.

Resumen:

El *Mycobacterium marinum* es una especie de micobacteria patógena que está muy relacionada con *Mycobacterium tuberculosis* y origina tuberculosis tipo infección en peces y ranas. En este estudio, estudiamos la mosca de la fruta, *Drosophila melanogaster* con *M. marinum*. Esta bacteria causó una infección letal al 50% (LD (50)) de 5 CFU. La muerte se acompaña con diseminación por el tejido tisular. El *M. marinum* inicia la proliferación dentro de los fagocitos de la mosca; posteriormente se encuentran bacterias tanto dentro como fuera de las células huésped. El *M. marinum* intracelular bloquea la acidificación vacuolar y no coloniza *Escherichia coli* inactivo, similar a las infecciones de los macrófagos murinos. El *M. marinum* sin gen mag24 son menos virulentos, como ha puesto de manifiesto la técnica LD (50) y la muerte cinética. Finalmente, en contraste con todas las bacterias examinadas, las micobacterias no producen péptidos antimicrobianos en DROSOPHILA: Creemos que este sistema puede ser útil como modelo genético para infecciones bacterianas.

Dr. Kalk, A. — Cooperación entre una ONG y un estado "huésped" en el control de la lepra en Latinoamérica. — «*Cooperation between an NGO and "host" states in the control of leprosy in Latin America.*» — *Cad Saude Publica*. 19(2) (2003) 663-666. *Int. J. Lepr.*, vol. 71, núm. 4 (2003), págs. 414-415.

Resumen:

La proliferación de organizaciones no gubernamentales (ONGs) puede considerarse el resultado de la incapacidad del sistema democrático actual de realizar todas las tareas requeridas por sus conciudadanos. Aunque las ONGs frecuentemente desempeñan trabajos de manera positiva, tienden a reducir el poder gubernamental y son capaces de interferir en los asuntos internos de otros países. En este contexto hay intentos para controlar sus actividades y este control puede producir efectos negativos (bloqueando la defensa de los derechos humanos) y positivos (corrigiendo la falta de coordinación en la labor de las ONGs). Las ONGs que trabajan en el control de la lepra presentan un largo historial de cooperación con estados "huéspedes" en América Latina.

En el peor de los casos cubren un vacío dejado por el Estado. En un país como Brasil, donde el gobierno prioriza el control de la enfermedad de Hansen y la participación de la comunidad en el proceso político, las ONGs trabajan en armonía con las autoridades nacionales. Las aportaciones mayores al Estado proceden de los campos de apoyo técnico y financiero, supervisión y campañas de percepción. Por lo tanto, las ONGs se convierten en cuasi-gubernamentales al desempeñar su trabajo.

Otras Micobacterias

Dr. Botha, T. y Ryffel, B. — Reactivación de la infección latente de tuberculosis en ratones TNF-deficientes. — «*Reactivation of latent tuberculosis infection in TNF-deficient mice.*» — J. Immunol. 171(6) (2003) 3110-3118. — Int. J. Lepr., vol. 71, núm. 4 (2003), págs. 396-397.

Resumen:

Los ratones TNF-deficientes son muy susceptibles a la infección con *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. El objeto de este estudio es determinar si TNF es necesario para la inmunidad post-infección en ratones infectados mediante aerosol. La administración de una quimioterapia de 4 semanas, que se inicia a las 2 semanas post-infección reduce los CFU a unos niveles indetectables. Las cepas naturales de ratones presentan un ligero incremento de CFU, pero controlan la infección al cesar la quimioterapia, los ratones TNF-deficientes presentan infección de reactivación con cargas bacterianas elevadas en pulmones, bazo e hígado que resultan fatales a las 15-18 semanas. La susceptibilidad aumentada de ratones TNF-deficientes se acompaña de una disminución en la activación de las células T y macrófagos pulmonares con una formación defectuosa de granuloma y reducción de la expresión de NO síntesis inducible. La falta de activación de células T quizás se pueda explicar por una reducción en la producción de quimiocinas. Por tanto, a pesar de una masiva reducción de la carga micobacteriana por quimioterapia los ratones TNF-deficientes son incapaces de compensar e iniciar una respuesta inmune protectora. En conclusión, la TNF endógena es crucial para mantener la infección por tuberculosis latente y en su ausencia no se genera inmunidad específica.

Dres. Causero, A.; Screm, C.; Beltrame, A.; et al. — *Mycobacterium marinum*: un caso de granuloma cutáneo complicado por tenosinovitis de los extensores. — «*Mycobacterium marinum: a case of skin granuloma complicated by tenosynovitis of the extensors.*» — Chir. Organi. Mov. 88(1) (2003) 93-97. — Int. J. Lepr., vol. 72, núm. 1 (2004), pág. 106.

Resumen:

Los autores informan del caso de un paciente varón dueño de un acuario tropical que desarrolló una infección por *Mycobacterium marinum* en la muñeca. Se describen los hallazgos clínicos y características microbiológicas del caso, así como las dificultades para establecer un diagnóstico correcto y la necesidad de un tratamiento quirúrgico y el uso de antibióticos para tratar la infección.

Dres. Dascher, C. C.; Hiromatsu, K.; Xiong, X.; et al. — La inmunización con una vacuna lipídica micobacteriana mejora la patología pulmonar tuberculosa en los cobayos. — «*Immunization with a mycobacterial lipid vaccine improves pulmonary pathology in the guinea pig model of tuberculosis.*» — *Int. Immunol.* 15(8) (2003) 915-925. — *Int. J. Lepr.*, vol. 71, núm. 4 (2003), pág. 410.

Resumen:

Los lípidos y glicolípidos derivados del *M. tuberculosis* pueden presentarse a las células T mediante moléculas de superficie CD1 en los humanos. Estas células T-lípido específicas, secretan citocinas pro-inflamatorias y presentan actividad bactericida. Aquí, se describen estudios en que se incorporaron lípidos de *M. tuberculosis* a liposomas con adyuvante y testados como vacunas en cobayas mediante aerosol terapia con tuberculosis. Los animales vacunados con lípidos micobacterianos presentan menos carga bacteriana pulmonar y de bazo a las 4 semanas de haberse infectado. Además, los pulmones de estos animales vacunados presentan menos patología, con granulomas más pequeños y más linfocitos. Por el contrario, los animales que reciben sólo inmunización con placebo presentaron granulomas más grandes y con núcleos caseosos y necróticos. La cuantificación de la histopatología reveló que el porcentaje pulmonar con tejido infectado era significativamente menor comparado con los inmunizados con placebo como controles. Además, el área promedio de las lesiones granulomatosas individuales es significativamente menor tanto en animales vacunados tanto con lípidos como con bacilo Calmette-Guerin en los cobayas. Estos datos parecen confirmar un importante papel para los antígenos lipídicos en la respuesta inmune a la infección por *M. tuberculosis*, posiblemente, a través de la generación de células T CD1-restringidas. Los lípidos inmunogénicos representan, por tanto, una nueva clase de antígenos que pueden contribuir a incrementar los efectos protectores de las vacunas tipo subunitarias.

Dres. Evans, M. R.; Phillips, R.; Etuafu, S. N.; et al. — Programa educativo sobre el tratamiento del *Mycobacterium ulcerans*. — «*An outreach education and treatment project in Ghana for the early stage of Mycobacterium ulcerans disease.*» — *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 97(2) (2003) 159-160. — *Int. J. Lepr.*, vol. 72, núm. 1 (2004), pág. 107

Resumen:

La infección por *Mycobacterium ulcerans* se inicia por un nódulo subcutáneo indoloro cuya escisión previene la formación de grandes úlceras de Buruli. Se inició un programa con Ghana para promocionar el reconocimiento de los nódulos y su escisión. El programa era coste-efectivo y cambió la percepción sobre el reconocimiento de la enfermedad. Podría constituir un modelo para otros países.

Dres. Griffith, D. E.; Brown-Elliott, B. A.; Wallace, R. J. Jr. — Tratamiento farmacológico con tres dosis semanales de claritromicina para tratar enfermedades pulmonares por *M. kansasii*: resultados de un estudio preliminar. — «*Thrice-weekly clarithromycin-containing regimen for treatment of Mycobacterium kansasii lung disease: results of a preliminary study.*» — Clin. Infect. Dis. 37(9) (2003) 1178-1182. — Int. J. Lepr., vol. 72, núm. 1 (2004), págs. 107-108

Resumen:

Se inició un ensayo prospectivo con un tratamiento farmacológico de claritromicina para la afectación pulmonar por *M. kansasii*. A 18 pacientes (10 hombres y 8 mujeres) con afectación pulmonar por *M. kansasii* se les trató con 500-1000 mg de claritromicina, 25 mg/kg etambutol y 600 mg de rifampicina 3 veces por semana. El punto final del tratamiento era a los 12 meses, período durante el cual los cultivos de esputo eran estériles mientras el paciente recibía terapia. Se perdieron cuatro pacientes varones durante el seguimiento, pero los restantes completaron la terapia sin efectos secundarios severos. El tiempo promedio de conversión de esputo fue de 1.0 ± 0.9 meses y la duración media (\pm S. D.) de la terapia era 13.4 ± 0.9 meses. Ningún paciente que había completado el tratamiento había recidivado después de un promedio de (\pm S. D.) de 46 ± 8.0 meses. Los tratamientos farmacológicos con claritromicina y rifampicina posibilitan tratamientos cortos y efectivos para la afectación pulmonar por *M. kansasii*.

Dres. Smith, S.; Taylor, G. D.; Fanning, E. A. — Infección cutánea crónica por *Mycobacterium haemophilum* por herida de coral. — «*Chronic cutaneous Mycobacterium haemophilum infection acquired from coral injury.*» — Clin. Infect. Dis. 37(7) (2003) e100-101. — Int. J. Lepr., vol. 72, núm. 1 (2004), pág. 110.

Resumen:

Un varón de 61 años desarrolló un granuloma dérmico y crónico en su brazo derecho después de padecer una lesión por coral en Tailandia. Después de 7 biopsias se diagnosticó infección por *Mycobacterium haemophilum*. Este caso enfatiza el hecho de la dificultad en diagnosticar esta enfermedad en el laboratorio y sugiere que el agua del mar o el coral constituye la fuente de infección.

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..... — Genove (Suisse)
- 2.— American Leprosy Missions — New York (U.S.A.)
- 3.— Amici dei Lebbrosi..... — Bologna (Italia)
- 4.— Anais Brasileiros de Dermatologia — Rio Janeiro (Brasil)
- 5.— Archivos Argentinos de Dermatología..... — Buenos Aires (Argentina)
- 6.— Arquivo do Inst. Bacteriologico «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.)