

Diagnóstico de lepra en niños mediante seguimiento serológico de anticuerpos contra el glicolípido fenólico I

Leprosy diagnosis in children by antibodies serologic follow up against
the phenolic glycolipid I

Jenny Laura Ruiz-Fuentes^{1*}

Odelaisy Suárez Moreno¹

Fernanda Pastrana Fundora²

¹Laboratorio Nacional de Investigaciones, Diagnóstico y Referencia en Tuberculosis, Lepra y otras Micobacterias. Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kourí” La Habana. Cuba

²Hospital Pediátrico Docente “Juan Manuel Márquez”. La Habana. Cuba

*Autor para la de correspondencia: Correo electrónico: jlaura@ipk.sld.cu

RESUMEN

Introducción: Los niños contactos de pacientes con lepra se consideran las personas con mayores posibilidades de desarrollar la enfermedad.

Objetivo: Valorar la utilidad del seguimiento serológico de anticuerpos contra el glicolípido fenólico I para el diagnóstico de lepra en niños.

Métodos: Investigación prospectiva. Se incluyeron todos los niños contactos de pacientes diagnosticados con lepra en las provincias de La Habana, Santiago de Cuba y Guantánamo entre enero 2013-junio 2015. Los menores se evaluaron clínicamente mediante examen dermatoneurológico y se determinó la presencia de anticuerpos contra el glicolípido fenólico I de *Mycobacterium leprae* para el estudio serológico. Los niños con serología positiva se siguieron, con estos dos métodos, cada seis meses durante dos años. La confirmación de un caso nuevo de lepra se realizó mediante baciloscopia y biología molecular.

Resultados: Se estudiaron 151 niños, de ellos 44 (29,13 %) resultaron positivos al glicolípido fenólico I. Se diagnosticaron durante el período 12 casos, de los cuales

11 tuvieron serología positiva. Presentaron sospecha clínica 10 niños de los estudiados, solo se confirmó un caso nuevo, el cual tuvo serología negativa. En ocho de los niños diagnosticados se detectó presencia de bacilos ácido alcohol resistente en la lámina de baciloscopia. En los restantes cuatro niños el diagnóstico se confirmó por la reacción en cadena de la polimerasa.

Conclusiones: Los resultados de esta investigación denotan la utilidad del seguimiento serológico de anticuerpos contra el glicolípido fenólico I en el diagnóstico de lepra en niños, en apoyo a la vigilancia clínica.

Palabras clave: glicolípido fenólico I; lepra infantil; vigilancia seroepidemiológica.

ABSTRACT

Introduction: Children having contact with leprosy patients are considered the contacts with greater possibilities of developing the disease.

Objective: To assess the usefulness of antibodies' serologic follow up against the phenolic glycolipid I (PGL-1) for the diagnosis of leprosy in children.

Methods: Prospective study in which were included all children contacts of patients diagnosed with leprosy in Havana, Santiago de Cuba and Guantanamo provinces between January 2013 and June 2015. They were evaluated clinically by the dermato-neurological examination and the presence of antibodies against the PGL-1 of *M. leprae* was determined. Children with positive serology were followed up using these same two methods every six months for two years. The confirmation of a new case of leprosy was made by smear microscopy and molecular biology / PCR-Rlep.

Results: A total of 151 children were studied. Of these, 44 children (29.13 %) were positive for phenolic glycolipid I. A total of 12 children were diagnosed during this period, of which 11 had positive serology. Only 10 children of the studied ones presented clinical suspicion and of these only one new case was confirmed, which had negative serology. In eight of the diagnosed children, the presence of acid-fast bacilli was detected in the smear microscopy. In the remaining four children, the diagnosis was confirmed by the PCR result.

Conclusion: The results of this investigation show the usefulness of the antibodies' serologic follow up against the phenolic glycolipid I in the diagnosis of leprosy in children as a support to clinical surveillance.

Keyword: phenolic glycolipid I; childhood leprosy; seroepidemiological surveillance.

Recibido: 02/04/ 2018

Aprobado: 15/09/2018

INTRODUCCIÓN

Hasta hoy no existe vacuna contra la lepra, ni medidas profilácticas para impedir la infección por *Mycobacterium leprae* en aquellas personas sensibles a desarrollarla, la única forma que existe para disminuir su incidencia es la prevención secundaria, es decir, el diagnóstico temprano y tratamiento eficaz que rompa la cadena de transmisión.⁽¹⁾

En Cuba el Centro de Inmunoensayos produce el estuche comercial UMELISA-Hansen, que es un ELISA ultramicroanalítico que se emplea para detectar anticuerpos contra el glicolípido fenólico 1 (GF1), abundante en la pared celular de bacilos viables de *Mycobacterium leprae*. Las concentraciones normales de anticuerpos (Ac) contra el GF1 en la población cubana están por debajo de una densidad óptica (DO) de 0,300.⁽²⁾ La detección de títulos de anticuerpo con unidades de DO mayores de este valor indica que el individuo pudiera estar en la etapa de infección subclínica que puede rebasar sin dificultad o de lo contrario, enfermar en dependencia de la predisposición genética que tenga para desarrollar la enfermedad.⁽³⁾ Por esta razón, en los estudios seroepidemiológicos conducidos en países endémicos y por la experiencia cubana, se prefiere valorar la tendencia de las concentraciones de Ac anti GF1 en personas en riesgo, al menos en tres momentos, con intervalos de seis meses entre sí.⁽⁴⁾ Lo que se espera observar es una disminución de las concentraciones de anticuerpos si la persona tiene un sistema inmune capaz de combatir la infección. Por el contrario, en el caso de los individuos con un sistema inmune insuficiente y por consiguiente mayor probabilidad de desarrollar la enfermedad, el mantenimiento o aumento de las concentraciones de anticuerpos.⁽⁵⁾

En Cuba se han diagnosticados caso de lepra infantil históricamente, el mayor número de enfermos durante el siglo XXI se registró en el 2011 con 10 niños diagnosticados.⁽⁶⁾ En los

últimos años se han diagnosticado de manera espontánea, es decir acuden a los servicios médicos, sin formar parte de la pesquisa activa, niños que son contactos de pacientes diagnosticados en años anteriores.⁽⁷⁾ Este hecho es motivo suficiente para intentar detectar aquellos menores que estén en riesgo de enfermar. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) el diagnóstico de niños con lepra implica la presencia de bacilos viables circulantes, lo que constituye un grave problema epidemiológico.⁽⁸⁾

El estudio que se presenta se realizó en las provincias de La Habana, Santiago de Cuba y Guantánamo, seleccionadas porque son las que tuvieron casos nuevos de lepra infantil durante todos los años en el quinquenio 2007-2011. Además, tuvieron en el 2011 el mayor número de prevalencia oculta (casos de lepra que se han dejado de diagnosticar en los cinco años anteriores teniendo en cuenta el número de casos diagnosticado con discapacidad durante ese período), con 38, 49 y 12 casos dejados de diagnosticar respectivamente. Otro aspecto a tener presente es que estas provincias están entre las que informan las más altas cifras de pacientes multibacilares, quienes constituyen las mayores fuentes de infección.⁽⁹⁾

El objetivo de la investigación realizada fue valorar la utilidad del seguimiento serológico de anticuerpos contra el glicolípido fenólico I para el diagnóstico de lepra en niños.

MÉTODOS

Se realizó un estudio prospectivo en las provincias de La Habana, Santiago de Cuba y Guantánamo. En el universo de estudio se incluyeron todos los niños menores de 18 años contactos intradomiciliarios de pacientes diagnosticados entre enero de 2013 y junio de 2015, para un total de 155 niños. Todos se evaluaron paulatinamente mientras se diagnosticaban los casos índices. Como requisito para participar en el estudio los padres o tutores de los niños firmaron un consentimiento informado. Se excluyeron del estudio aquellos niños que tenían un diagnóstico previo de Hansen.

Las variables que se tuvieron en cuenta para los análisis sucesivos fueron los resultados de: examen dermatoneurológico (EDN) y serología (UMELISA-Hansen). Además de los resultados del método de diagnóstico convencional (baciloscopía) y el método de reacción en cadena de la polimerasa que amplifica una región repetida del genoma de *M. leprae* empleado para el diagnóstico molecular (PCR-Rlep) en los casos en los que se consideró necesario.

A todos los niños se les realizó el examen EDN, según lo indicado en el Programa Nacional de Lepra. Además, se le extrajeron 5 mL de sangre por venopunción y se centrifugaron a 1 500 rpm / 10 min para separar el suero. Estos sueros se conservaron a -20° C hasta la realización de la serología UMELISA-Hansen. El análisis se realizó teniendo en cuenta las instrucciones del fabricante.⁽²⁾

A los menores que resultaron positivos al GF1 de *M. leprae* se les realizó un seguimiento serológico y clínico-dermatológico cada seis meses durante dos años y en aquellos cuyas concentraciones de anticuerpos arrojaban lecturas superiores a 0,300 de DO, se les realizó además una toma de muestra de linfa de las aurículas y los codos para estudio bacteriológico y molecular.⁽¹⁰⁾ La baciloscopia clásica y el PCR-Rlep para la detección de regiones repetidas del genoma de *M. leprae* se realizaron siguiendo las pautas establecidas en el Normas Técnicas Cubanas para el control de la enfermedad y lo descrito por los autores de este trabajo en publicaciones previas.^(11,12,13)

Los datos de los pacientes se recolectaron en una Base de Datos de Microsoft Excel con información codificada de los contactos y los pacientes para evitar su identificación personal. Se realizó análisis estadístico descriptivo mediante medidas de resumen de variables (frecuencia y porcentaje). Los datos se procesaron empleando el programa estadístico Graphpad PRISMA ver 5.03 (Graphpad Software, San Diego California). Se evaluó la sensibilidad del EDN y la serología teniendo en cuenta el número de casos que fueron confirmados por la técnica convencional (baciloscopia) y la técnica molecular (PCR-Rlep).

El protocolo de investigación se aprobó por el Comité de Ética Institucional del Instituto de Medicina Tropical Pedro Kouri. (Número de protocolo CEI-IPK/Lepra-2012).

RESULTADOS

En el período por el que transitó la investigación, se incluyeron 151 niños identificados como contactos de pacientes y se diagnosticaron 12 casos nuevos.

Los resultados de la evaluación dermatológica arrojaron que 10 niños (6,6 %) presentaron sospechas clínicas y entre estos solo se confirmó un caso mediante las técnicas de diagnóstico convencionales (baciloscopia), sin embargo, este niño no presentó elevados títulos de anticuerpos contra el GF1.

En contraposición, en el período estudiado 44 niños (29,13 %) tuvieron una serología positiva para el GF1. La figura muestra el número de niños estudiados en cada corte semestral de la investigación y los resultados de la serología.

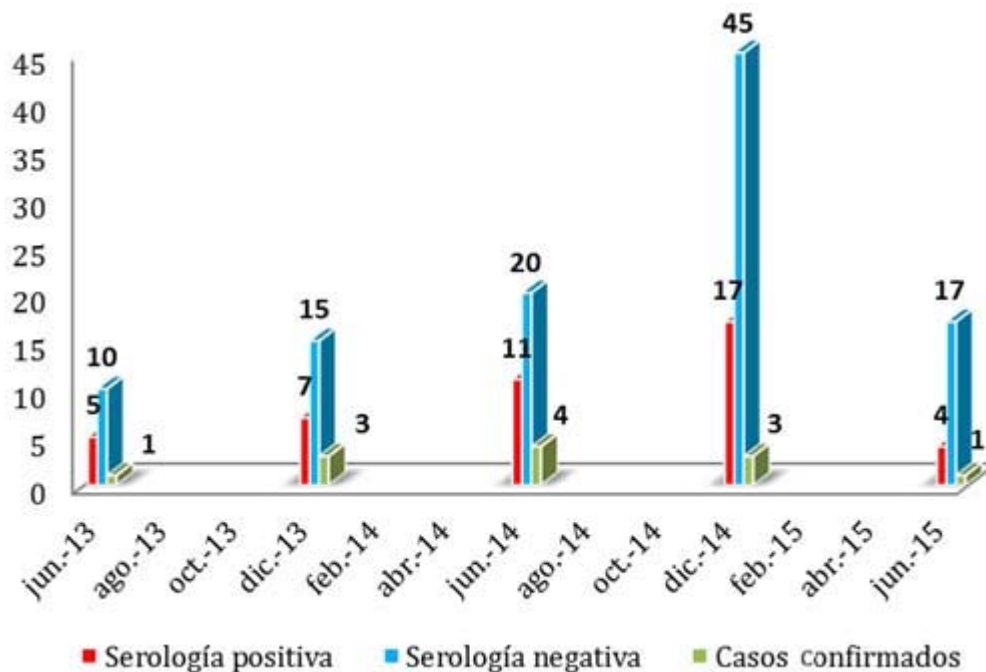


Fig. - Cantidad de niños estudiados semestralmente y resultados de la serología para detectar anticuerpos contra el glicolípidio fenólico I de *Mycobacterium leprae*. (n= 151).

Después de seis meses de evolución solo siete menores (15 %) mantuvieron las concentraciones de anticuerpos y para cuatro se confirmó el diagnóstico. Todos se consideraron diagnósticos tempranos debido a que no presentaban lesiones en piel. Tres de estos cuatro niños, mantuvieron por 18 meses los títulos de anticuerpos elevados.

La sensibilidad de estas dos técnicas teniendo en cuenta la cantidad de pacientes con diagnóstico de lepra que pudo ser confirmado por cada una de ellas, la serología presentó una sensibilidad del 91 % mientras que el examen dermatoneurológico mostró una sensibilidad del 8,3 %.

El seguimiento clínico y seroepidemiológico realizado a los restantes 37 pequeños con serología inicial positiva permitió demostrar que padecían de otras enfermedades dermatológicas que pueden elevar los títulos de anticuerpos contra el GF1, entre estas, la pitiriasis alba, las hipocromías posinflamatorias y algunos tipos de alergias.

Los restantes siete niños diagnosticados durante esta investigación presentaron serología positiva en la primera evaluación. En todos los casos se confirmó la presencia de bacilos

ácido alcohol resistente en la linfa mediante baciloscopia y tuvieron PCR-Rlep positivo. Estos también se consideraron diagnósticos tempranos.

DISCUSIÓN

La utilidad de la detección de anticuerpos contra el GF1 en niños enfermos con lepra y en niños contactos de pacientes ha sido muy discutida en los últimos años. Debido a las características del sistema inmune de los pequeños y de la enfermedad, esta herramienta no ha sido establecida como definitiva para el diagnóstico,⁽¹⁴⁾ sin embargo, su empleo en poblaciones vulnerables puede ser una opción factible.

La evaluación dermatoneurológica de todos los contactos de pacientes con lepra es un pilar fundamental en las actividades de control de foco establecidas en el Programa de Control de Cuba. En los últimos años la vigilancia de los niños contactos de pacientes ha sido una prioridad teniendo en cuenta que se mantiene el diagnóstico entre los casos nuevos de niños y un elevado porcentaje de estos tiene una relación epidemiológica conocida con otros casos,⁽⁷⁾ El EDN en pacientes pediátricos requiere una vasta experiencia para poder realizar el diagnóstico diferencial de las lesiones de piel típicas de otras enfermedades que aparecen frecuentemente en estas edades.

Estudios realizados en los últimos años en países en etapa de poseliminación de la lepra muestran que las características de la enfermedad en niños pueden ser poco claras y se requieren otras herramientas para la confirmación del diagnóstico.^(15,16) La utilización de varias técnicas para concluir un diagnóstico he sido la estrategia defendida por la Comisión Técnica Asesora de Lepra en Cuba.

Los resultados de este estudio son una evidencia de que durante la evaluación clínica inicial un elevado número de niños pueden no presentar signos claros del desarrollo de la enfermedad por lo que el empleo de esta única herramienta para el seguimiento puede ser insuficiente.

La presencia en más de 25 % de los niños estudiados de títulos de anticuerpos para GF1 resulta interesante pues esta cifra coincide con lo informado en la literatura para niños que viven en zonas de alta endemia de la enfermedad.^(5,17) A pesar de las características de Cuba como país de baja carga, según la OMS, todos los niños involucrados en el estudio pertenecen a tres de las provincias cubanas con mayor número de casos de lepra históricamente.^(9,18)

El análisis de la sensibilidad de cada método es preliminar pero muestra que al menos en el caso de los niños la vigilancia clínica debe estar apoyada con herramientas como la serología.

El hecho de que tres niños de los diagnosticados, mantuvieran títulos de anticuerpo elevados durante 18 meses es consistente con el posible desarrollo de una forma multibacilar de la enfermedad, no obstante, debido a la ausencia de lesiones en piel se les administró tratamiento por seis meses y se les brindó un seguimiento especial que consistió en la revisión clínica cada seis meses en la Consulta Nacional de Lepra para pediatría. Adicionalmente se consideró importante mantener el seguimiento en dicha consulta de los 37 niños que después de haber presentado una serología positiva, seronegativizaron a los seis meses o al año. Este comportamiento puede explicarse por la eliminación de la fuente de infección y podría ser indicativo de una correcta respuesta del sistema inmune a la exposición del bacilo.^(19,20)

Estudios recientes en países con una situación epidemiológica similar a la de Cuba no definen la importancia de la determinación de anticuerpos en contactos de pacientes con lepra.^(21,22) En este estudio el empleo de la serología permitió dirigir los mayores esfuerzos de la vigilancia a aquellos niños con una posible mayor susceptibilidad. A los niños que fueron negativos en todas las evaluaciones se les mantuvo la vigilancia según lo establecido en el Programa Nacional de Control, una vez al año durante cinco años. En total se diagnosticaron durante la ejecución de esta investigación 12 niños, 11 de ellos por la sospecha que generó el resultado de la serología y uno por sospecha clínica. Este diagnóstico representó entre 10-30 % del total de niños diagnosticados en el país cada año. Para las provincias involucradas en el estudio constituyó hasta 90 % de la fuente de diagnósticos tempranos. Por otra parte, para todos los niños diagnosticados a través de la estrategia de detección de Ac anti GF1 se identificó que tuvieron un contacto con los casos índices de menos de diez años (teniendo en cuenta la edad de los pequeños). El diagnóstico precoz de estos casos de lepra infantil garantiza cortar la cadena transmisión y confirma la importancia de los estudios de acercamiento epidemiológico a una enfermedad tan controversial y estigmatizada como la lepra.

El empleo de una técnica serológica para la detección de Ac anti GF1 permite el seguimiento a los contactos de pacientes con lepra y constituye una herramienta útil para realizar estudios epidemiológicos en países en poseliminación como Cuba. Su eficacia en menores de edad aún se encuentra en discusión pues en ellos la producción de inmunoglobulinas varía sin un patrón establecido.^(23,24)

Los resultados de esta investigación son preliminares, es una limitación cierta y se requiere de estudios a más largo plazo para establecer la utilidad real de esta pesquisa en una población como la cubana.

Podemos concluir que estos resultados denotan la utilidad del seguimiento serológico de anticuerpos contra el glicolípido fenólico I en el diagnóstico de lepra en niños, en apoyo a la vigilancia clínica.

Los resultados de esta investigación sirven de base para proponer el empleo de esta herramienta económica y simple como estrategia para la búsqueda activa de casos nuevos de lepra entre los niños contactos de pacientes. Por tanto, se recomienda evaluar la pertinencia y factibilidad económica de la estrategia desarrollada en esta investigación, adecuándola a las condiciones epidemiológicas de cada región del país.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Pandey A. Current perspectives on leprosy as a public health challenge in India. *Research and Reports in Tropical Medicine*. 2015;6:6.
2. Torrella A SR, Pérez E. Leprae IgM antibody determination by ultramicro-immunoenzymatic (umelisa hansen) for the diagnosis and monitoring leprosy. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 1998;40(3):6.
3. Torrella A, Solis R, Rodriguez N, Medina Y, Pita M, Perez I, et al. Ultramicroelisa para la detección de Ac IgM al *Mycobacterium leprae* utilizando muestras de sangre seca. *Rev Inst Med trop Sao Paulo*. 1994;36(2):8.
4. Atrio N. Diagnóstico Seroepidemiológico y Sostenibilidad de la Eliminación de la Lepra en Camagüey 1999-2006 [tesis]. Centro Provincial de Higiene Epidemiología y Microbiología: Universidad de Ciencias Médicas de Camagüey; 2013.
5. Goncalves Barreto J, Bisanzio D, Cipriani Frade M, Pires Moraes T, Gobbo A, de Souza Guimarães L, et al. Spatial epidemiology and serologic cohorts increase the early detection of leprosy. *BMC Infectious Dis*. 2015;15:9.
6. World Health Organization. *Weekly Epidemiological Record* 2016. Geneva: WHO; 2016.
7. Ministerio de Salud Pública. Registro Dirección Nacional de Estadísticas. La Habana: Dirección Nacional de Epidemiología; 2017.

8. World Health Organization. Integrating Neglected Tropical Diseases Into Global Health And Development. FOURTH WHO report on neglected tropical diseases. Geneva: WHO; 2017.
9. Ministerio de Salud Pública. Registros Dirección Nacional de Estadísticas. La Habana: Dirección Nacional de Epidemiología; 2012.
10. Ruiz-Fuentes J, Díaz-García A, Entenza A, Frion-Herrera Y, Suárez O, Torres P, et al. Comparison of four DNA extraction methods for the detection of *Mycobacterium leprae* from Ziehl–Neelsen-stained microscopic slides. *Int J Mycobacteriol*. 2015;4:6.
11. Donoghue H, Holton J, Spigelman M. PCR primers that can detect low levels of *Mycobacterium leprae* DNA. *J Med Microbiol*. 2001;50(2):6.
12. Ministerio de Salud Pública. Lepra. Normas técnicas para el control y tratamiento. La Habana: Editorial Ciencias Médicas; 2008.
13. Ruiz-Fuentes J, Díaz-García A, Suárez Moreno O, Torres P, Acosta Soto L. Evaluación de diferentes muestras para la detección molecular de *Mycobacterium leprae* en Cuba. *Rev Cubana Med Trop*. 2015;67(2):9.
14. Duppre N, Camacho L, Sales A, Illarramendi X, Nery J, Sampaio E, et al. Impact of PGL-I Seropositivity on the Protective Effect of BCG Vaccination among Leprosy Contacts: A Cohort Study. *PLoS Negl Trop Dis*. 2012;6(6):e1711.
15. Romero-Montoya I, Beltrán-Alzate J, Ortiz-Marín D, Diaz-Diaz A, Cardona-Castro N. Leprosy in Colombian Children and adolescents. *Pediatric Infectious Dis J*. 2014;33(3):2.
16. Romero-Montoya M, Beltran-Alzate J, Cardona-Castro N. Evaluation and Monitoring of *Mycobacterium leprae* Transmission in Household Contacts of Patients with Hansen's Disease in Colombia. *PLoS Negl Trop Dis*. 2017;11(1):11.
17. Cardona-Castro N, Cortés E, Beltrán C, Romero M, Badel-Mogollón J, Bedoya G. Human Genetic Ancestral Composition Correlates with the Origin of *Mycobacterium leprae* Strains in a Leprosy Endemic Population. *PLoS Negl Trop Dis*. 2015;9(9):1-16.
18. Beldarraín Chaplé E. Historical Overview of Leprosy Control in Cuba. *MEDICC Review*. 2017;19(1):8.
19. Hurtado L, Gonzalez L, Tejera J, Portela M, Delgado M, Rumbault R, et al. Lepra Tardía. Comportamiento clínico epidemiológico, La Habana. Período 2008-20016. *Rev Leprológica (Fontilles)*. 2017;31(3):9.
20. Gaschignard J, Grant A, Thuc N, Orlova M, Cobat A, Huong N, et al. Pauci- and Multibacillary Leprosy: Two Distinct, Genetically Neglected Diseases. *PLoS Negl Trop Dis*. 2016;10(5):e0004345.

21. Cardona-Castro N, Beltrán-Alzate J, Manrique-Hernández R. Survey to identify *Mycobacterium leprae*-infected household contacts of patients from prevalent regions of leprosy in Colombia. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2008;103(4):332-6.
22. Cardona-Castro N, Beltrán-Alzate J, Romero-Montoya M. Clinical, bacteriological and immunological follow-up of household contacts of leprosy patients from a post-elimination area - Antioquia, Colombia. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2009;104(6):2.
23. Cardona-Castro N, Restrepo-Jaramillo S, Gil de la Ossa M, Brennan P. Infection by *Mycobacterium leprae* of household contacts of lepromatous leprosy patients from a post-elimination leprosy region of Colombia. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2005;100(7):4.
24. Casimiro de Macedo A, Evandro Cunha J, Ueda Yochite J, Tavares C, Nagao-Dias A. Salivary anti-PGL-1 IgM may indicate active transmission of *Mycobacterium leprae* among young people under 16 years of age. *Braz J Infect Dis*. 2017;21(5):5.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existen conflictos de intereses en la realización de este trabajo.