

APÉNDICE

GUÍA PRÁCTICA PARA REALIZAR LA INVESTIGACIÓN CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICA EMPÍRICA DESDE LA PRIMO-INFECIÓN POR ACTINOMICETOS PATÓGENOS AL MICETOMA CLÍNICO

Para encontrar respuestas específicas a los mecanismos aún no conocidos, que estén determinando la evolución desde la infección primaria producida por estas bacterias hasta las evidencias clínicas del micetoma en humanos, y que el médico pueda emplearlas en su lugar de trabajo, sintetizamos lo que sigue.

ANTECEDENTES

- Micetomas clínicos (casos esporádicos y en serie) se han reportado desde principios de la década de los años veinte del siglo XX en Las Américas.
- Reportes históricos se encuentran en el *Atharva Veda*; misioneros franceses 1714 [I. Colebrook, 1846 (India)].
- Henry van Carter definió los granos “negros” y los granos “claros” en esta enfermedad clínica del micetoma (1860).
- Desde 1884 a 1920 publicaron artículos sobre grupos de los “primeros casos”: de micetoma en África: A. Balfouer (1904), en Sudán; A. Le Dantec (1929) en Senegal; M. A. Laveran (1902); E. Brumpt (1906) en varios países africanos.
- Desde 1912 a 1927 varios autores reportaron los “primeros casos” en Las Américas. Se reportaron los primeros casos de micetoma en México (R. Cicero 1912); en Estados Unidos (Kemper & Jameson 1876); en Brasil (Pacheco Mendes, citado por Yazbek 1920); y en Venezuela (R. Rangel citado por Rísquez 1927), etc.

OBJETIVOS

Hoy día las principales preocupaciones entre los clínicos que atienden casos de actinomicetoma *es explicar en una forma satisfactoria los mecanismos* para controlar esta enfermedad desagradable que incapacita a las personas que la padecen. Se trata sobre todo de lograr la prevención secundaria de las complicaciones y desagradables secuelas que afectan a los pacientes que padecen esta enfermedad. Estos son los objetivos:

PRIMERO: Obtener un conocimiento holístico del mecanismo de la infección por los actinomicetos aeróbicos que son patógenos para el hombre.

SEGUNDO: Definir los mecanismos patogénicos que se dan en la relación huésped-parásito y los *que determinan que evolucione o no evoluciones hacia el micetoma clínico.*

TERCERO: Contestar la pregunta, *¿Por qué si la infección primaria debe ser muy frecuente entre las personas que están viviendo en nichos ecológicos endémicos, el actinomicetoma clínico es relativamente raro en las comunidades?*

LOS CAMINOS QUE DEBEN SEGUIRSE PARA CONTESTAR ESAS PREGUNTAS SON:

Para lograr el primero y segundo objetivos, es decir para tener una comprensión holística del mecanismo huésped-parásito y de la aparición del actinomicetoma clínico... proponemos que el interesado lea con atención el contenido de la Tabla 2 en el texto de esta monografía específicamente en este capítulo.

- La *primera etapa* de la Tabla 2, es decir la etapa de los hallazgos clínicos y/o de laboratorio han sido bastante exploradas, y se conocen ya suficientemente los resultados obtenidos, que ya han servido para sustentar estudios más avanzados, y son piedras sillares para desarrollar el modelo que proponemos en esta obra.

- Los estudios de investigación que se han publicado hasta el presente ahora con respecto a la *segunda etapa* (*epidemiología descriptiva*, distribución por persona, lugar y tiempo) han sido poco ortodoxos metodológicamente hablando.
- Los estudios epidemiológicos en grupos humanos que se han publicado en la *tercera etapa* están principalmente basados en “series de casos” (numerador) donde los datos de censos de las comunidades (denominador) nunca fueron definidos. Por ello las verdaderas tasas de prevalencia e incidencia en comunidades no se han establecido todavía, aunque muchos autores así lo pregonen.
- No se han publicado verdaderos trabajos de investigación que se hayan realizado en cohortes comunitarias u hospitalarias (*cuarta etapa*).

HECHOS ACTUALES

- Actualmente, las investigaciones sobre la infección primaria por actinomicetos aeróbicos patógenos en humanos están relativamente estancadas.
- Debido al poco conocimiento de las variables que deben ser incluidas en el protocolo de cualquier investigación, y debido a que la *evolución desde la infección primaria hasta la aparición del actinomicetoma clínico es un proceso de muy larga duración*, las investigaciones epidemiológicas tradicionales se hacen poco o nada eficientes, por lo que el proponer realizarlas no tiene mayor sentido práctico.
- El hecho de que se establezca que una persona tenga una infección por un actinomiceto aeróbico, *no garantiza que posteriormente aparezca el micetoma clínico*. Es por ello que aún estimando las tasas de incidencia y prevalencia de la infección en comunidades específicas, no tengamos una aplicación útil para apoyar estudios posteriores que puedan ser de aplicación inmediata en el curso natural de la historia natural del proceso.

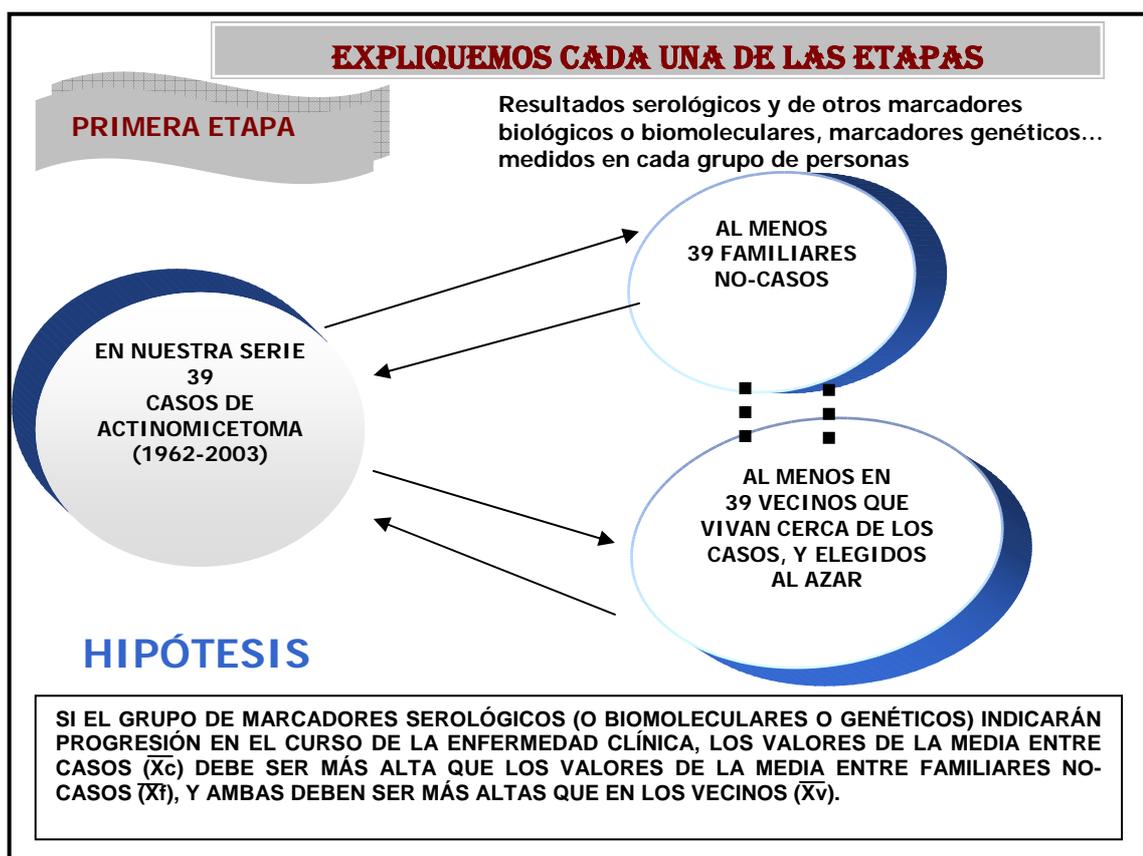
LIMITACIONES PARA DESARROLLAR ESTUDIOS SOBRE INFECCIÓN POR ACTINOMICETOS PATÓGENOS Y MICETOMA UTILIZANDO LA EPIDEMIOLOGÍA CLÁSICA

- (1) Los *estudios de cohorte* (diseños prospectivos) que se realicen de la salud a la enfermedad son inviables en la práctica, y de iniciarse, serían muy onerosos, de muy larga duración y poco eficientes.
- (2) Los *estudios de caso-control* (retrospectivos) que se han realizado carecen de bien conocidas definiciones de las variables biológicas, serológicas y/o de los marcadores genético-moleculares. Llevar a cabo nuevos estudios de caso-control simples aportarían muy poco al conocimiento de la patogenia del problema que se intenta investigar.
- (3) Los *ensayos clínicos epidemiológicos empíricos* pueden ser usados para controlar la prevención primaria o para desarrollar métodos terapéuticos que permitan prevenir la enfermedad clínica (micetoma), en grupos de personas en riesgo, o para tratar el micetoma mismo en cada paciente o en cada grupo de pacientes, lo que en el fondo es lo que más interesa al médico práctico, pero aporta muy poco a desvelar las patogenias del proceso que va de la infección primaria al micetoma clínico.

El desarrollo de la investigación siguiendo el modelo *Caso/No caso familiares/No caso vecinos* para dirigirlo a la prevención secundaria de la aparición clínica del Micetoma y/o sus secuelas promete aportar un camino muy productivo en salud pública.

Guía: Se recomienda al investigador interesado que estudie con atención el diagrama de flujo de la Figura 2 del texto de este capítulo. Luego se le recomienda que observe que ese complejo diagrama contiene tres etapas: (1) La primera etapa, de la investigación clínico-epidemiológica de caso/control familias/control vecinos. (2) La segunda etapa, de la validación de las pruebas de laboratorio que se empleen. (3) La tercera etapa, comprende los estudios de investigación en ciencias básicas sobre pruebas de laboratorio o conexas que constituyen variables fundamentales en las caracterizaciones serológicas, inmunológicas y genético-moleculares actuales. (4) Aplicaciones posteriores en otras enfermedades crónicas transmitirlas del medio ambiente al hombre, pero no de hombre a hombre.

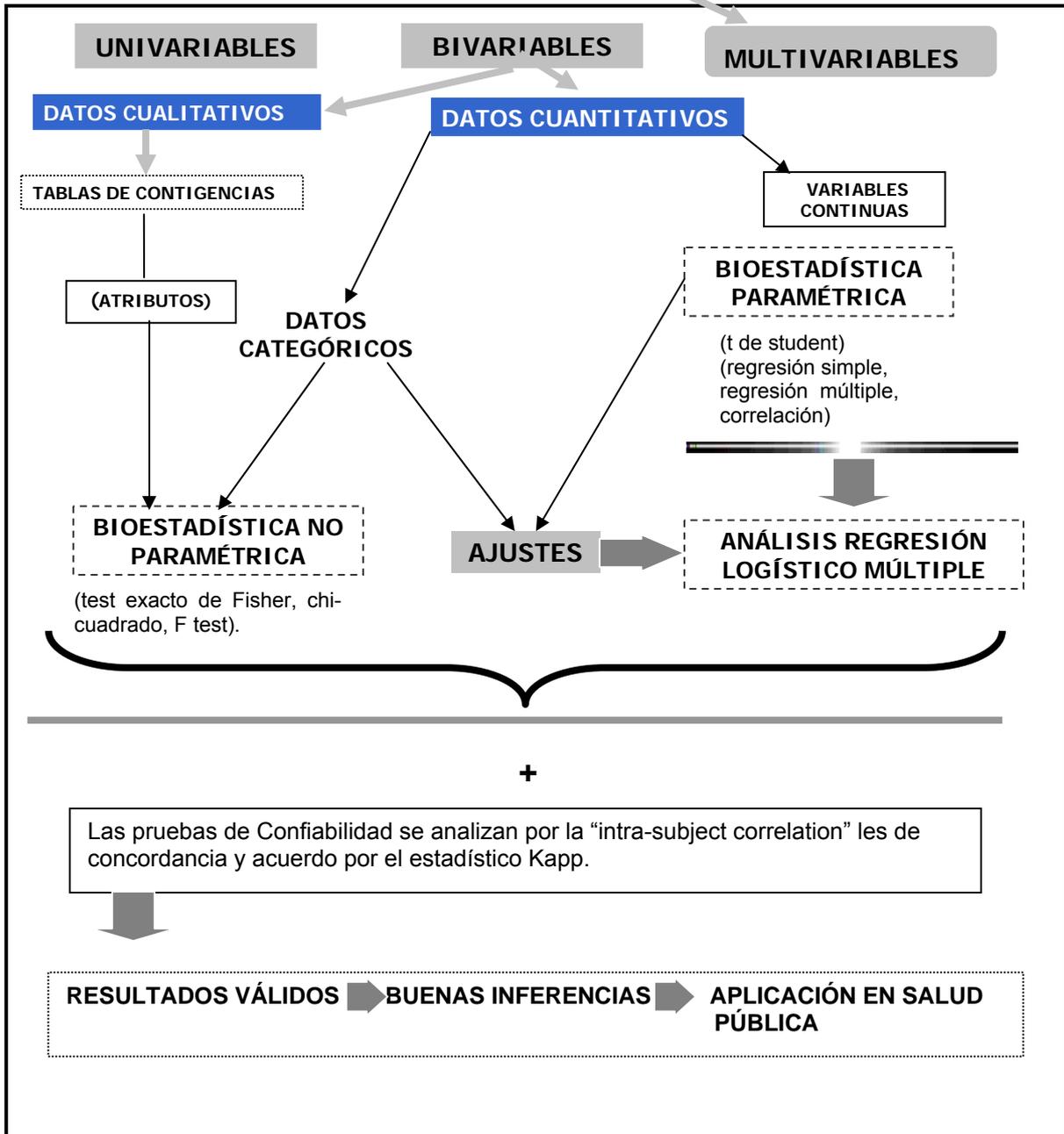
Para su tranquilidad, veamos cómo se sigue esa secuencia.



Fuente: Ross y Novoa (1993)



ANÁLISIS BIOESTADÍSTICO-EPIDEMIOLÓGICOS DE LOS DATOS



¿Por qué seguir el enfoque epidemiológico multidisciplinario de caso/control familia/control vecinos para entender completamente el camino desde la infección primaria al actinomicetoma y para lograr la prevención en salud pública y neutralizar sus impactos socioeconómicos?

- PRIMERO:** Por qué los estudios de investigación clásicos que están basados en comunidades sobre los aspectos de la epidemiología clínica descriptiva sobre la infección en humanos han demostrado que son inefectivos e ineficientes en lograr sus objetivos.
- SEGUNDO:** Por qué para seguir el enfoque clásico de la epidemiología de la infección o de la enfermedad es necesario reunir grupos relativamente grandes de pacientes con y sin micetoma
- TERCERO:** Porque debido a la larga la historia natural del actinomicetoma, los estudios prospectivos clínico-epidemiológicos (estudios de cohorte) requieren largos períodos de observación, por lo que no son prácticos para entregarlos en varios de los médicos clínicos y profesionales conexos.
- CUARTO:** Porque cuando se utiliza el modelo casos/no-casos familiares/no casos vecinos... los grupos humanos que se necesita escoger cuando ya los casos clínicos forman la definición estándar (Fahal 1997, 2000). Al usar este modelo para seleccionar un pequeño número de casos (ejemplo en el grupo de Serrano et al, son solamente 39 pacientes), el número total de las personas que se deben estudiar es pequeño (cerca de 120 personas en el proyecto propuesto). Por lo tanto, el presupuesto que se gastará será limitado y los resultados y las inferencias serán sólidamente válidos. Esto tiene importancia porque se trata de un proyecto con financiamiento internacional, para el que se pide un presupuesto bastante limitado.
- QUINTO:** Porque el número que empleen los investigadores que se animen a utilizar este modelo (en cualquier parte del mundo) puede ser de 10 casos y 2 grupos de 10 controles en cada grupo de comparación en las investigaciones de un médico clínico. Es decir que por muy caro que resulte el estudio de cada persona, acompañado los gastos que se pidan con respecto los profesionales conexos, los costos son relativamente modestos.

APLICACIÓN DEL MODELO DEL CASO/CONTROL FAMILIA/CONTROL VECINOS A OTRAS ENFERMEDADES DE INTERÉS PARA EL MÉDICO CLÍNICO

Las enfermedades más frecuentes transmitidas del medio ambiente al hombre y otras de evolución crónica, y en las cuales el modelo que proponemos es el siguiente:

(1) DIFERENTES BACTERIAS PRODUCTORAS DE MICETOMA (ACTINOMICETOMA)

- Nocardias (*dassonvillei*, *asteroides*, *otitidiscaviarum*)
- Actinomadura (*madurae*, *pelletieri*)
- *Streptomyces somaliensis*

(2) MICOSIS PROFUNDAS

- Hongos productores de micetoma (eumicetoma)
- Histoplasmosis
- Criptococosis
- Paracoccidioidomicosis
- Blastomicosis (norteamericana)

(3) PROTOZOONOSIS

- Toxoplasmosis

REFERENCIAS

1. Balfouer A. First report of Wellcome Research Laboratories. Khartoum: Sudan Government. 1904.
2. Brumpt E. Mycetomes humaines. Compt Rend Soc Biol. 1905; 58: 997-999.
3. Brumpt E. Les Mycetomes. Arch Parasitol. 1906; 10: 489-572.
4. Carter, H. v. On mycetoma or the fungus disease of India including notes of recent cases and new observations on the structure etc, of the entophytic growth. Trans Med Phys Soc (Bombay), 1860; 7:206-221.
5. Cicero R. El micetoma . Gac Med Méx, 1912; 7: 291-301.
6. Colebrook L. Indian Army Medical Reports, 1846, cited by Chouhan SS and Agarwal S. Indian J Med Res, 1966; 57: 71-77.
7. Le Dantec A. Precis de Pathologie Exotique. Gaston Doin & Cie, Editeurs, Paris, 1929.
8. Laveran MA. "Au subject d'un cas de Mycetoma a grains noirs" Bull Acad Med Paris, 1902; 47, 773-776.
9. Fahal AH, Hassan MA. Mycetoma. Br J Surg, 1992; 79: 1138-1141.
10. Fahal AH. 2000. Evidence based guidelines for mycetoma patients management. Web site <http://www.mycetoma.org>
11. Rísquez, JR. A propósito de pie de Madura. Boletín de los Hospitales. 1927; XVIII, 10:454-457.
12. Ross A; Novoa Montero D. Comparability and reliability of ELISA, inmunofluorescence, and indirect hemmaglutination assays for *Tripanosoma cruzi* and *Tripanosoma rangeli*. JID, 1993; 168:1581-1584.
13. Yazbek, AK. Dos mycetomas. Subsidios para o seu estudo. São Paulo, 1920 (Tese de doutoramento-Faculdade de Medicina e Cirurgia de São Paulo).

Nota: Nuestra dirección electrónica es [Darío Novoa] labmice@ula.ve y dmontero98@hotmail.com.
Teléfonos: (58) (274) 2403229 y (58) (274) 2636950 (Telefax).

PRESENTACIÓN

El texto de esta Conferencia-Ponencia constituyó el tema de la comunicación *Clinical empirical epidemiology to puzzle out the evolution from aerobic actinomycete infection to mycetoma- The multidisciplinary family-case epidemiologic approach*, que se presentó en la *3rd International Conference on the Biology of Nocardiae (Nocardiae 2005). Lyon (France)* el 5 de julio de 2005.

El modelo propuesto tiene mucha importancia para ser aprovechado por los médicos internistas y afines (inmunólogos clínicos, infectólogos, pediatras clínicos, etc.), ya que es una herramienta efectiva y muy eficiente para realizar investigaciones en grupos humanos pequeños (pocos casos, pocos infectados, pocos expuestos a la infección pocos controles...) para desentrañar respuestas específicas y lograr la prevención primaria en grupos humanos expuestos al riesgo, o la prevención secundaria en grupos humanos ya infectados que padezcan alguna de las siguientes infecciones o enfermedades que se transmiten del medio ambiente al hombre, pero no de hombre a hombre.

(1) Micosis profundas

- Hongos productores de micetoma (eumicetoma)
- Histoplasmosis
- Criptococcosis
- Cromomicosis
- Paracoccidioidomicosis
- Blastomicosis (norteamericana)

(2) Protozoonosis

a. Toxoplasmosis

(3) Bacterias productoras de micetoma (actinomicetoma)

- Nocardias (*dassonvillei*, *asteroides*, *otitidiscaviarum*)
- Actinomadura (*madurae*, *pelletier*)
- *Streptomyces Somaliensis*

En la exposición que hacemos en estas XII Jornadas del Capítulo Merideño de Medicina Interna destacaremos y discutiremos con los asistentes los aspectos prácticos de este modelo de investigación. El hecho de que en los médicos interesados quede una copia de este material será una ayuda fundamental para los investigadores clínicos prácticos en los hospitales y clínicas de los países en vías de desarrollo. Nuestra esperanza es la de que los frutos que se obtengan en la siembra de esta idea, resarza nuestro desvelo al proponer el modelo de investigación que se presenta.

ABSTRACT

CLINICAL EMPIRICAL EPIDEMIOLOGY TO PUZZLE OUT THE EVOLUTION FROM AEROBIC ACTINOMYCETE INFECTION TO MYCETOMA- THE MULTIDISCIPLINARY FAMILY-CASE EPIDEMIOLOGIC APPROACH

D. Novoa-Montero¹ y J. A. Serrano²

¹Laboratorio Multidisciplinario de Investigación Clínico-Epidemiológica (LabMICE), Sección de Investigación, Unidad de Medicina Interna, Facultad de Medicina, Universidad de Los Andes, Mérida, Edo. Mérida, Venezuela. labmice@ing.ula.ve / dmontero98@hotmail.com

²Laboratorio de Fisiología de la Conducta, Facultad de Medicina, Universidad de Los Andes, Mérida, Edo. Mérida, Venezuela. jacielo@cantv.net

The specific characteristics of infection with aerobic actinomycetes in endemic areas have eluded clinicians because of the general lack of understanding of the evolution of infection from primary skin lesions to clinical actinomycetomas, in spite of the many studies published on this topic since the early 1920's. In fact, current epidemiologic knowledge is based entirely on reported case presentations. Thus far, descriptive and analytical epidemiologic research on actinomycetomas in endemic communities has been inadequate. The results from these clinical series have been waiting for completion of the natural history of actinomycete infections that either vary from clinical disease to risk factors (through well-designed hospital based case-control studies), or from risk factors to clinical disease (based on hospital or community cohort studies). Research on either approach has not been done. The "true" incidence and the geographical distribution of clinical actinomycetomas throughout the world are not known. This may be due to the nature of the disease, which usually presents as being both painless and slowly progressive, and seldom leading to clinical

actinomycetomas. In addition, epidemiologic research on the etiological agents of actinomycetomas is evolving. Most studies on pathogenesis to explain the development of the natural history between infected and clinically impaired persons remain unclear. In 1994, Novoa-Montero and Serrano proposed a new design, the “**multidisciplinary family case-biomedical and epidemiologic model to study actino and eumycetoma**” (ISBA’ 94, 97, 99). This model potentially permits combining the missing pieces involved in the progression of the primary-infection that then develops into clinical actinomycetoma. As a consequence, results and epidemiologic assumptions from these studies should be applicable to other bacterial and mycotic environment-to-human infections.

LOS MODELOS CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICOS APLICADOS A LA INVESTIGACIÓN DEL ACTINOMICETOMA. PROPUESTA PARA USAR PRAGMÁTICAMENTE LA EPIDEMIOLOGÍA EMPÍRICA EN LATINOAMÉRICA

Darío Novoa Montero¹
José Antonio. Serrano²

¹*Laboratorio Multidisciplinario de Investigación Clínico-Epidemiológica (LabMICE), Sección de Investigación, Unidad de Medicina Interna, Facultad de Medicina, Universidad de Los Andes, Mérida, Edo. Mérida, Venezuela. labmice@ing.ula.ve /dmontero98@hotmail.com,*

²*Laboratorio de Fisiología de la Conducta, Facultad de Medicina, Universidad de Los Andes, Mérida, Edo. Mérida, Venezuela. jacielo@cantv.net)*

Introducción

El desarrollo de la medicina en todas sus ramas, pero especialmente en las disciplinas clínicas, está pidiendo a los profesionales de la salud que practican en hospitales o en áreas similares, que se mantengan al día sobre los conceptos cambiantes que un Comité de Expertos de la OMS-WHO/PAHO-OPS, revisan cada cierto tiempo, y que son convertidos en códigos de uso obligatorio internacionalmente. Tal es la clasificación internacional de morbilidad y de mortalidad en humanos. Esto es importante tenerlo en cuenta porque esa clasificación estandarizada ha sido producto del consenso de varios grupos de expertos que han determinado incluir en cada categoría la definición precisa de cada enfermedad o síndrome, actualizados desde el momento en que “entra en vigencia” cada revisión, hasta que una nueva definición las modifique. El sistema clasificatorio debe ser respetado por la comunidad médica y de otros profesionales de la salud de los que depende que las clasificaciones estadísticas de las enfermedades y problemas relacionados con la Salud sean lo más confiables posible. Se han propuesto las clasificaciones estandarizadas de la Organización Mundial de la Salud (OMS/PAHO), cuya IX edición de 1975 (CIE-9) fue actualizada en 1990; y publicada con el nombre de Clasificación Estadística Internacional de Enfermedades y Problemas Relacionados con la Salud, Décima Revisión (CIE10-1995 en español, o IDC10-1995, en inglés) (Organización Mundial de la Salud, 1975 y 1990).

Las CIE-9 y CIE-10 le han dado especial vitalidad y homogeneidad a la formulación de los diagnósticos que se registran en los hospitales y clínicas en todo el mundo. Ello

permite que cuando se realizan trabajos de investigación en grupos humanos, los diagnósticos de las enfermedades que se estudian puedan ser codificados con confianza, de modo que las variables importantes (red de multicausalidad) se puedan medir en distribuciones de frecuencia y que se pueda también estimar asociaciones estadístico-epidemiológicas entre ellas y cada enfermedad, utilizando los métodos de análisis que sean apropiados. En lo que a los micetomas corresponde, el micetoma asociado a nocardia se codifica B47.0; y el pie de Madura, como micetoma *actinomicótico*, se codifica B47.1; y cuando el micetoma no está especificado se codifica B47.9. Sin embargo, en el CIE-10 no especifican códigos para los otros agentes causales que se enumeran en esta monografía. Nuestra expectativa es que si lo que proponemos en esta monografía se convierte en resultados tangibles para el mejor conocimiento de las infecciones y enfermedades producidas por los actinomicetales patógenos, la codificación de esos procesos patológicos sea ampliada a nivel de la OMS/OPS.

Es de advertir que cuando se trata de realizar investigaciones clínicas en hospitales, o centros de investigación de enfermedades transmitidas del medio ambiente al hombre, pero que no se transmiten de hombre a hombre, se necesita la colaboración, así sea modesta, de microbiólogos especializados y actualizados. Esos microbiólogos son los que aportan datos para precisar el tipo de “agente causal” cuando reportan la

aparición de una determinada patología, en nuestro caso para precisar cuál de los actinomicetales es el que está produciendo los cuadros clínicos que se estén observando en un grupo humano (en una determinada región geográfica, en la que se observan cuadros clínicos de micetoma). Con los aportes de los microbiólogos se completa la etapa etiológica en el diagnóstico clínico de confirmación de cada actinomicematoso. El conjunto de los diagnósticos etiológicos confirmados constituye la base pragmática para realizar estudios de investigación en epidemiología clínica.

Si se parte de una base de datos confiable, el investigador que estudie grupos humanos puede determinar la distribución de la enfermedad (micetoma) por persona, lugar y tiempo (epidemiología descriptiva); y, más aún, también puede estimar asociación de las infecciones por actinomicetales con determinadas características individuales y factores medio ambientales que existan en las poblaciones o comunidades que atienden (epidemiología analítica). Los resultados que el investigador obtenga pueden estar dirigidos a lograr prevención primaria o secundaria de la infección actinomicótica (que son útiles o al menos aplicables a la población a la que pertenecen los individuos que estudie).

En la Tabla 1 se presenta una clasificación comprensiva de los *principales tipos de estudios de investigación que se pueden realizar en áreas de las ciencias de la salud*. Como se puede cotejar en esa tabla, existen tres grupos de estudios que aparecen como tres rectángulos cerrados en líneas negras resaltantes:

Grupo I: Las investigaciones que se realizan *sin material clínico y sin finalidad epidemiológica* (campo de las ciencias básicas).

Grupo II: Las investigaciones que se realizan con base en *datos clínicos de pacientes o con material clínico de pacientes*, cuyos resultados se presentan sin compararlos con los de grupos de control (estudios clínicos propiamente dichos, que podemos llamar estudios clínicos *per se*). Su objetivo es completar los criterios diagnósticos clínicos y/o establecer criterios pronósticos en cada paciente sintomático o asintomático. Este grupo ha sido acumulado en cada proceso morbozo, por la actividad clínica de las medidas prácticas desde tiempos hipocráticos.

Grupo III: Las investigaciones clínicas que se realizan con *enfoque epidemiológico*, que incluye a los estudios de investigación en grupos humanos en comunidades o poblaciones, y a los estudios de epidemiología clínica de grupos humanos, que casi siempre tienen su soporte en bases o bancos de datos (historias

clínicas; registros microbiológicos, anatomopatológicos, imagenológicos, inmunológicos, etc.) que se obtienen y se mantienen en hospitales o instituciones similares.

La investigación clínico-epidemiológica del actinomicetoma en el conjunto de las infecciones por actinomicetales

En la Tabla 2 se detallan las 5 etapas clásicas que explícita o implícitamente se siguen cuando se realiza investigación clínica con enfoque epidemiológico para estudiar diferentes aspectos de cualquier enfermedad. Por supuesto que estas etapas son no solamente superponibles, sino que algunas de ellas ya se han desarrollado en el campo del *actinomicetoma*. Se sugiere que el lector revise la Tabla 2 antes de continuar la lectura de esta monografía.

Los estudios que ya se han realizado sobre el actinomicetoma reportada en Venezuela están enumerados en el trabajo de Serrano *et al* (1995), que acumula los casos de actinomicetoma desde 1962. En la Tabla 3 se ha actualizado la casuística hasta 2003.

TABLA 1 CLASIFICACIÓN COMPRENSIVA DE LOS TRES GRANDES GRUPOS DE INVESTIGACIÓN QUE SE PUEDEN REALIZAR EN LAS

ÁREAS DE CIENCIAS DE LA SALUD

GRUPO I: LOS ESTUDIOS QUE SE REALIZAN SIN EMPLEAR PERSONAS

TIPO 1: APLICABLES A ENFERMEDAD HUMANA Y SIN FINALIDAD EPIDEMIOLÓGICA INMEDIATA (MODELOS ANIMALES)

1. **Estudios experimentales** aplicables a enfermedad humana a través de modelos animales: (a) Aspectos fisiológicos. (b) Aspectos bioquímicos. (c) Aspectos patológico-microbiológicos [Postulados de Henle-Koch] o no microbiológicos.
2. **Estudios observacionales** aplicables a enfermedad humana a través de modelos animales: (a) Aspectos fisiológicos. (b) Aspectos bioquímicos. (c) Aspectos patológicos (microbiológicos [Postulados de Henle-Koch], o no microbiológicos).

GRUPO II: LOS ESTUDIOS QUE SE REALIZAN CON PACIENTES O CON MATERIAL CLÍNICO DE PACIENTES SIN EMPLEAR GRUPOS

DE COMPARACIÓN

TIPO 2: APLICABLES A ENFERMEDAD HUMANA Y CON FINALIDAD EPIDEMIOLÓGICA (MODELOS ANIMALES)

1. **Estudios experimentales** de aspectos fisiológicos o patológicos, (a) experimentos naturales. (b) Experimentos planeados por el investigador. (c) Experimentos teóricos y matemáticos.
2. **Estudios observacionales** de aspectos fisiológicos, bioquímicos, patológicos. Modelos: (a) Descriptivos. (b) Transversales. (c) Prospectivos concurrentes y/o no concurrentes ("cohorte" de animales).

GRUPO III: LOS ESTUDIOS QUE SE REALIZAN PARA COMPARAR ASPECTOS DE UNA ENFERMEDAD/NO ENFERMEDAD EN UN GRUPO HUMANO COMPARADO CON OTRO (CRITERIO EPIDEMIOLÓGICO)

TIPO 3: LA INVESTIGACIÓN EXPERIMENTAL QUE SE REALIZA EMPLEANDO MARCADORES BIOLÓGICOS (MODELOS ANIMALES)

En ellos el material clínico que se aporta para estudio es considerado *per se*, en relación con los grupos de estudio del que proceden, para estimar la confiabilidad, la concordancia, la consistencia y en general, la validez de las pruebas que se intenta estandarizar empleando un modelo animal sobre: (a) Aspectos fisiológicos. (b) Aspectos bioquímicos. (c) Aspectos patológicos (microbiológicos o no microbiológicos).

TIPO 4: NO APLICABLES A ENFERMEDAD HUMANA:

No se consideran pertinentes en este esquema de clasificación.

TIPO 1: LA INVESTIGACIÓN OBSERVACIONAL CLÍNICA *PER SE* QUE SE REALIZAN SIN ENFOQUE EPIDEMIOLÓGICO (modelos fundamentalmente descriptivos).

1. La observación de un caso clínico raro.
2. La observación de casos clínicos esporádicos agrupados para sugerir patogenias/etiologías o servir de base de una hipótesis.
3. Los estudios clínicos seriados realizados en instituciones, conjunto de instituciones, recogidos por médicos aislados o equipos de médicos (sin o con "controles", pero que se llevan a cabo sin criterio epidemiológico).
4. Otros tipos de estudios (observaciones anatomopatológicas, terapéuticas, inmunológicas, radiológicas, biomoleculares, etc.)

TIPO 2: LA INVESTIGACIÓN EXPERIMENTAL QUE SE REALIZA EMPLEANDO MARCADORES BIOLÓGICOS HUMANOS PARACLÍNICOS PARA COMPLETAR DIAGNÓSTICOS CLÍNICOS INDIVIDUALES.

En este tipo de investigación el material clínico que se aporta es considerado *per se*, en relación con cada caso o grupo de casos del que proceden, y se examina con el fin de estimar la confiabilidad, la concordancia, la consistencia, y en general, la validez de las 'tests' que se someten a prueba sobre: (a) Aspectos fisiológicos. (b) Aspectos bioquímicos. (c) Aspectos patológicos (microbiológicos o no microbiológicos).

TIPO 1: OBSERVACIONALES

(1^o) Descriptivos: (que el investigador los planea sin hipótesis previa) en el campo de la morbilidad o de la mortalidad.

(2^o) Análiticos: en los que el investigador somete a prueba una hipótesis determinada.

1. **Estudios transversales**
 - (a) Estudios de prevalencia en grupos (con definición pragmática de enfermedad y con denominador censal conocido).

- (b) Estudios de tamizaje en grupos de alto riesgo
 - en serie
 - en paralelo
- (c) Estudios de prueba versus prueba en grupos
 - en las dos pruebas se mide la misma variable
 - en las dos pruebas se miden variables distintas. (Submodelo de caso control).
- 2. **Estudios retrospectivos** (de caso-control)
 - de grupos de individuos
 - . de casos prevalentes por rastreamiento
 - . de casos prevalentes por encuesta
 - . de casos incidentes
 - de dos series de casos clínicos ya acumulados o por acumular.
 - de "nested case-controls"
 - de grupos de pares de individuos ("matched case controls").
 - de evaluación de servicios y cuidados médicos por el modelo de caso-control.
- 3. **Estudios prospectivos** (longitudinales) (de "cohortes")
 - (a) Concurrentes (contemporáneos)
 - Longitudinales concurrentes por seguimiento de "cohortes".
 - Longitudinales concurrentes por estudios transversales sucesivos en una "cohorte".
 - (b) No concurrentes (no contemporáneos)
 - Longitudinales no concurrentes por estudio de "cohortes".
 - Longitudinales no concurrentes por estudios transversales, sucesivos, anteriores.
 - (c) Longitudinales mixtos prospectivos no concurrentes + prospectivos concurrentes.
 - (d) Longitudinales mixtos transversales + prospectivos concurrentes de seguimiento.
- 4. Evaluación observacional de servicios y cuidados médicos.
 - (a) Estudios de comparación "antes-después" (pasado-presente, presente-futuro) para estimar eficacia, efectividad eficiencia comparadas entre dos servicios médicos.
 - (b) Estudios de comparación simultánea (pasado- pasado), (presente-presente) para estimar eficacia, efectividad y eficiencia comparada entre dos tipos de servicios médicos.

TIPO 2: EXPERIMENTALES (QUE POR DEFINICIÓN SE PLANEAN CON HIPÓTESIS PREVIA).

- (1^a) Experimentos naturales o "cuasi experimentales" (se realizan con poca frecuencia)
- (2^a) Experimentos planeados por el investigador
 - 1. Estudios experimentales etiológicos
 - 2. Experimentos profilácticos o por agentes farmacológicos.
 - (a) de prevención primaria (tipo vacuna)
 - (b) de prevención secundaria (tipo intervención de factores de riesgo)
 - 3. Experimentos clínicos (pruebas terapéuticas): eficacia y/o efectividad y/o eficiencia comparadas entre grupos.
 - 4. "Clinical trials".
 - 5. Estudios de intervención/no intervención de factores de exposición en una enfermedad (prevención clínica secundaria) comparada entre grupos humanos.
 - 6. Evaluación experimental de servicios y cuidados médicos, (ensayo experimental aleatorio presente- futuro entre grupos humanos).
 - 7. Estudios experimentales de validez de prueba versus prueba en grupos humanos. (Submodelo experimental de caso-control).

TABLA 2

ENFOQUE EPIDEMIOLÓGICO PARA ESTUDIAR CUALQUIER ENFERMEDAD O SÍNDROME POSIBLEMENTE ASOCIADO A AGENTES ACTINOMICETALES EN CENTROS DE SALUD ESPECIALIZADOS

A. PRIMERA ETAPA: ESTUDIOS CLÍNICOS PROPIAMENTE DICHOS O CLÍNICOS *PER SE*

- (1) Observación inicial de laboratorio o por hallazgo clínico de algún actinomiceto patógeno productor de actinomicetoma
 - (2) Definición de actinomicetoma por:

- Observaciones histológicas o anatomopatológicas de casos clínicos (Véase Capítulo I y 5 de esta obra)
- Características clínicas de las lesiones (definición estandarizada en Capítulo XIII de esta obra)
 - Presencia de agentes etiológicos específicos (según 5, Capítulo XIII de esta obra)

B. SEGUNDA ETAPA: ESTUDIOS DE EPIDEMIOLOGÍA DESCRIPTIVA EN GRUPOS HUMANOS, QUE SE REALIZAN PARA MEJORAR EL CONOCIMIENTO SOBRE EL ACTINOMICETOMA, DETERMINANDO SU DISTRIBUCIÓN DE FRECUENCIA POR:

- persona
- lugar
- tiempo
- agrupamiento ('cluster') de lugar y tiempo

C. TERCERA ETAPA: ESTUDIOS EPIDEMIOLÓGICOS OBSERVACIONALES ANALÍTICOS ELEMENTALES (CON HIPÓTESIS) QUE SE REALIZAN EN GRUPOS HUMANOS (ESTOS MODELOS SON DE DIFÍCIL APLICACIÓN EN EL ESTUDIO DEL ACTINOMICETOMA)

Estudios analíticos de relación entre al menos una variable principal y la enfermedad o síndrome causado por actinomicetos patógenos productores del actinomicetoma que se estudie, para determinar la asociación cruda (o preferiblemente ajustada para las covariables más importantes) en un grupo humano en comparación con otro grupo humano apropiado (que no tiene enfermedad actinomicótica).

- estudios de caso-control o casos-referentes (varios submodelos, como se enumeran en la TABLA 1)
- estudios transversales (de prevalencia, de tamizaje, de prueba vs prueba) [para ser confiables exigen gran tamaño de la muestra] (Varios submodelos como se enumera en la TABLA 1)

D. CUARTA ETAPA: ESTUDIOS EPIDEMIOLÓGICOS OBSERVACIONALES ANALÍTICOS AVANZADOS (CON HIPÓTESIS MÁS REFINADAS) (ESTUDIOS EN COHORTES) ["Las cohortes" hospitalarias son confiables para estimar frecuencias aproximadas a la incidencia de infección o enfermedad actinomicótica en cada grupo, para estimar riesgos relativos o razones de proporcionalidad ("odds ratios")] como estimador de riesgo.

- Estudios prospectivos concurrentes (presente – futuro) (a través de observaciones de una cohorte en comunidad u hospitalaria)
- Estudios prospectivos no concurrentes (pasado - presente) (a través de datos que existen en registros clínicos confiables de instituciones especializadas).

E. QUINTA ETAPA: ESTUDIOS EPIDEMIOLÓGICOS EXPERIMENTALES

- Estudios y pruebas más refinadas de las hipótesis etiológicas en grupos de actinomicóticos (ensayos clínicos y terapéuticos en cualquier tipo de actinomicetoma, para estimar efectividad o eficiencia) que eviten o disminuyan la aparición de los resultados clínicos del micetoma (prevención secundaria).
- Estudios epidemiológicos experimentales de intervención de factores de exposición (modificación de los factores de exposición en grupos humanos libres de la infección, a los que se sigue ("follow-up") con la finalidad de controlar y prevenir el síndrome infeccioso) en cualquier tipo de actinomicetoma en la población (aproximación a la prevención primaria).

TABLA 3

GRUPO DE CASOS DE ACTINOMICETOMAS CONOCIDOS Y DIAGNOSTICADOS CON BASE EN LOS CRITERIOS MICROBIOLÓGICOS Y PATOLÓGICOS YA ESTANDARIZADOS*. ESTADO LARA, VENEZUELA (1962-2003)

Estado (Provincia)	<i>Actinomadura</i>		<i>Nocardia</i>				<i>Streptomyces</i>	Total*
	<i>madurae</i>	<i>pelletieri</i>	<i>asteroides</i>	<i>brasilensis</i>	<i>otitidiscaviarum</i>	<i>especies (sp.)</i>	<i>somaliensis</i>	
Lara	13	-	3	9	1	8	5	39

Fuente: Serrano JA *et al* (1987) (Actualizada hasta 2003)

Rev. Junio

2005 **Nota:** Ese grupo de 39 casos de actinomicetoma será el punto de partida para el inicio del estudio usando el modelo multidisciplinario biomédico y epidemiológico de caso/control-familia/control-vecinos que proponemos al final de esta monografía, y que sugerimos sea imitado por cualquier grupo de investigadores de micetomas (por actino o eumicetales) en cualquier parte del mundo.

TABLA 5

MÉTODOS QUE SE USAN PARA ESTIMAR LA ASOCIACIÓN ESTADÍSTICA SEGÚN SE CONTRASTEN VARIABLES CUALITATIVAS (ATRIBUTOS) O CUANTITATIVAS (VARIABLES PROPIAMENTE DICHAS) EN ESTUDIOS EN GRUPOS HUMANOS CUANDO LOS EVENTOS SE PRESUME QUE SON BINOMIALES INDEPENDIENTES

Categoría de combinación para análisis de variables	Tipos de variables confrontadas	Método estadístico que se debe usar para definir la asociación
Tipo 1	Atributo* (Variable independiente) Atributo* (Variable dependiente)	Tablas de contingencia y aplicación del chi-cuadrado (cuando $n \geq 30$)** y/o prueba exacta de Fisher (cuando $n < 30$).**A veces se usan otros métodos [todos son <i>métodos no paramétricos</i>]
Tipo 2	Atributo* (Variable Independiente) (Variable) (Variable dependiente)	Distribución normal (cuando $n \geq 30$)** Distribución de Student "t" ($n < 30$)** Regresión lineal simple [<i>métodos paramétricos</i>]
Tipo 3	Variable* (Independiente) Variable* (Dependiente)	Regresión lineal simple Regresión lineal múltiple [<i>métodos paramétricos</i>]
Tipo 4	Las dos son variables* y ambas son independientes	Correlación lineal simple Correlación lineal múltiple [<i>métodos paramétricos</i>]
AJUSTES		
	Atributos/variables de cualquiera de los tipos 1 al 4 de combinación de variables	Ajuste indirecto Ajuste directo Métodos logísticos Análisis discriminantes Análisis de múltiples variables Análisis logístico múltiple (binario, etc.)***

© 2005 Darío Novoa Montero

Rev. Septiembre 2005

* Todos los "atributos" son *cualitativos*; todas las "variables" son *cuantitativas*. Las variables "cuantitativas" se pueden convertir en "cualitativas" si se establece el criterio de corte en un valor límite determinado (en general estandarizado por un comité de expertos). Por ejemplo, se acepta como hipertensos sistólicos los que tengan TA >140mmHg y como no hipertensos sistólicos los que tengan TA ≤ 140mmHg.

** n= tamaño de la muestra que se estudia.

*** El ajuste que emplea el análisis logístico múltiple binario es el que más se usa actualmente en los estudios epidemiológicos.

Investigaciones sobre actinomicetomas que han sido publicadas en lo que corresponde a la primera etapa de la Tabla 2

Siguiendo las diferentes etapas que se establecen en la Tabla 2, podemos comentar que en la primera etapa ya se han realizado estudios sobre los actinomicetos o actinomicetoma, así.

(1°) Observaciones de hallazgos clínicos (series clínicas).

El resumen de los casos reportados en el Estado Lara entre 1962 y 2003 están especificados por grupos de agentes etiológicos en la Tabla 3. Las referencias originales para conocer las fuentes de esos reportes están en el trabajo de Serrano *et al* (1987).

(2°) Definición de los *actinomicetomas* a través de descripciones anatomopatológicas.

Los agentes causales del actinomicetoma producen desde lesiones de tipo inflamatorio agudo hasta lesiones con respuesta tisular del tipo granulomatoso crónico (Serrano *et al* 1987). Esas lesiones han permitido hacer una clasificación de los agentes según el tipo de reacción tisular. Salfelder *et al* (1979) precisaron que microscópicamente “la reacción tisular consiste preferentemente en una exudación granulocitaria con formación de abscesos. En la periferia de éstos puede verse también una reacción granulomatosa sobre todo en las fases avanzadas de la enfermedad”. Como un soporte histórico de la magna tarea que realizaron los anatomopatólogos para completar los conocimientos clínicos de los micetomas, destacamos las publicaciones de Carter (1859-1860), Kanhack (1893), Brumpt (1905, 1906), Pinoy (1913), Winslow & Steen (1964), Mariat (1965, 1977), Zaias *et al* (1969), Winslow (1971) y Mahgoub & Murray (1973) y Serrano *et al* (1986). Sin embargo, debemos destacar que de cara a los criterios actuales, los investigadores que se propongan enviar a publicación algún trabajo sobre actinomicetoma (y por extensión sobre eumicetoma), tengan en

cuenta que resulta poco relevante presentar resultados que se basen fundamentalmente o únicamente en la presentación de un “caso clínico” en el que se compruebe la etiología con base a descripciones anatomopatológicas. Fundamentalmente, a pesar de ello, observamos que Motta *et al* (2004) todavía publicaron *un caso* de micetoma producido por *Nocardia brasiliensis*, en el cual describen las características clínicas; las características macroscópicas de los granos, la observación de gérmenes bacterianos tipo Gram positivos, que por la tinción de Kinyoun crecieron en cultivos de Sabourad, con lo que comprobaron que era *Nocardia brasiliensis*... Deseamos destacar en esta monografía que el problema heurístico actual no tiene como prioridad el conocimiento clínico de casos; lo que interesa es tomar conjuntos de casos clínicos similares y avanzar en el conocimiento de las aproximaciones entre variables e nos lleven en definitiva a realizar programas de prevención primaria o secundaria de esta infección y/o de las afecciones clínicas que son socialmente molestas. Tiene más importancia el reporte contemporáneo de casos de infecciones por nocardia (y eventualmente de micetomas) que se están produciendo en inmuno-competentes y en inmunodeficientes (Zardggen *et al* 2001). Lo dicho anteriormente tiene mucha razón de ser heurística actualmente, pues los estudios comparativos entre los defectos de inmunidad (con o sin inmunocompetencia) en los casos de infecciones emergentes, y los que puedan evidenciarse usando el modelo que proponemos al final de esta monografía, serán de gran importancia en salud pública.

(3°) Estudio de los aspectos biológicos y biomoleculares de los actinomicetales. En los "Proceedings" del *IX International Symposium on the Biology of Actinomycetes*, que se celebró en Moscú (ISBA' 94, Rusia, 1994), del *X International Symposium on the Biology of Actinomycetes* (ISBA' 97', Beijing, China, 1997) del *XI International Symposium on the Biology of Actinomycetes* (ISBA' 99', Creta, Grecia, 1999), del *XII International Symposium on the Biology of Actinomycetes* (ISBA' 2001), Vancouver, Canadá, 2001), del *XIII International Symposium on the Biology of Actinomycetes* (ISBA' 2003, Melbourne, Australia, 2003) se encuentra abundante bibliografía de vigencia actual sobre los agentes actinomicetales patógenos en las siguientes áreas:

- la biología (morfología, ecología, estructura del genoma) de los actinomicetos patógenos.
- la morfología (desarrollo y diferenciación) de los actinomicetos patógenos.
- los nuevos compuestos bioactivos y biomoleculares, el metabolismo primario y la interacción con el metabolismo secundario, la bioquímica, la biosíntesis y la relación genética del metabolismo secundario, la ingeniería genética y la regulación, expresión de los genes incluyendo los heterólogos y la estructura del genoma, en los actinomicetos patógenos.
- La manipulación genética (plásmidos, fagos y transposomas); las enzimas y los inhibidores enzimáticos; la taxonomía y la nueva sistemática de los actinomicetos; los actinomicetos que producen antibióticos y sustancias bioactivas.

Es decir que, según lo presentado en esos eventos internacionales, ya se conocen bastante bien los aspectos biológicos y biomoleculares de los actinomicetales patógenos. Estos conocimientos son de suficiente validez para que sirvan de base en la conducción de modernos estudios clínico-epidemiológicos en comunidades y especialmente en áreas

hospitalarias. Por ejemplo, insistimos en que la aplicación del submodelo de caso-control que desarrollamos al final de esta monografía podría constituirse en el método ideal para completar y concatenar heurísticamente los conocimientos faltantes sobre la infección y su relación con los cuadros clínicos producidos por los actinomicetales patógenos, empleando grupos humanos relativamente pequeños. Ese submodelo tiene la gran ventaja de que debido a su cuidadoso diseño, con el grupo de casos de micetoma con que se cuente y con al menos igual número de comparación de familiares y otro de vecinos, se obtienen evidentes resultados confiables para hacer inferencias válidas, aplicables al campo de la Salud Pública.

Investigaciones sobre el actinomicetoma publicadas en lo que corresponde a la Segunda y Tercera etapas de la Tabla 2 (Series clínicas y epidemiología descriptiva elemental)

Los estudios publicados sobre la epidemiología descriptiva de los *actinomicetomas* han correspondido fundamentalmente a *las series de casos* que resumimos a continuación. En Brasil y en México, al igual que en otros países de Las Américas, se han realizado estudios de casos clínicos o de series de casos de actinomicetoma. Destacan el trabajo de Lacaz (1981) que recopiló datos sobre la distribución geográfica de los casos de micetoma en Brasil; los artículos de Londero & Ramos (1986) y de Wanke *et al* (1992), quienes reportaron casos de la región sureste de Brasil; Castro *et al* (1993) quienes presentaron una serie de casos en el Estado de São Paulo, Brasil. En México, destaca el trabajo de López & Welsh (1992), quienes presentan una revisión de 2.105 casos reportados en la república mexicana. Así mismo Carrada *et al* (1995) reportaron una serie de casos de actinomicetoma en México; y Chávez *et al* (2002) presentan una serie de casos clínicos de actinomicetoma localizados en la región perianal. Destacamos que, en el fondo, esas investigaciones no llegan a ser estudios de caso-control (caso-referentes) que hubieran sido los más elementales que utiliza la epidemiología observacional descriptiva, es decir que apenas llegan a formar parte de uno de los tipos de estudio de la

primera etapa de la Tabla 2 o del Grupo II, Tipos 2 y 3 de la Tabla 1.

Investigaciones sobre el actinomicetoma publicadas en lo que corresponde a la Cuarta y Quinta etapas de la Tabla 2 (epidemiología clínica analítica, observacional y experimental)

Como se ve en la Tabla 1, grupo III, y en la Tabla 2 grupos D y E, las investigaciones de la epidemiología analítica sobre actinomicetoma comprenden a los estudios de caso-control (o casos-referentes); los estudios de prevalencia en comunidades cuyo censo es conocido; los estudios de tamizaje en centros de atención clínica más o menos especializados; los estudios de seguimiento de cohortes en zonas endémicas (a ser posible comparados con los de zonas no endémicas)... cuando se comparan los resultados de un grupo de seropositivos con otro de seronegativos a uno o varios actinomicetos patógenos en lo que concierne a las manifestaciones o síndromes clínicos. También se incluyen los estudios de ensayos terapéuticos controlados o no. Novoa-Montero & Serrano (2001) y Serrano & Novoa-Montero (2001) publicaron recopilaciones de trabajos realizados sobre las micosis humanas en Venezuela y en Latinoamérica, respectivamente. Esas recopilaciones resumen los trabajos publicados con respecto a los eumicetales y otras micosis profundas, pero resaltaron que no aparecen investigaciones específicas sobre el actinomicetoma.

Sin embargo, una aproximación rudimentaria en cuanto a prevalencia del micetoma en comunidades del Estado Lara (Venezuela) lo constituye el proyecto de Novoa-Montero & Serrano (1999), de Mejía *et al* (2000), Vergara de Novoa *et al* (2001).

Los grandes campos de investigación para estudiar el actinomicetoma en grupos humanos

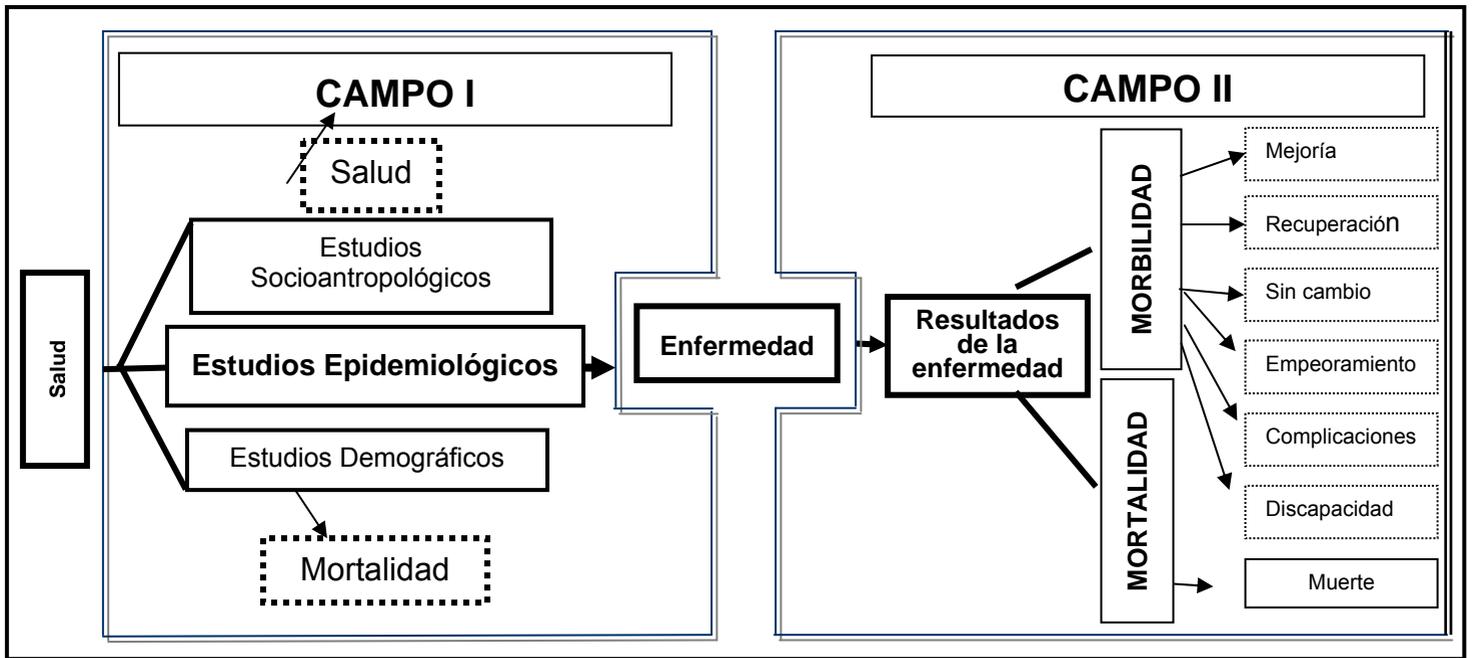
Por lo comentado en los párrafos anteriores, el *micetoma* no es una patología que se presta para ser estudiada siguiendo las etapas clásicas de la epidemiología clínica de las enfermedades crónicas (como se lista en el tercer recuadro de la Tabla 1). Esto resulta obvio si se considera que, en su conjunto, todos los estudios sobre el actinomicetoma que han sido publicados hasta ahora no han pasado de ser series clínicas, y algunos “han intentado” ser epidemiológicos pero no lo son, ya que o no han presentado datos de “controles”, o los controles que emplearon no fueron epidemiológicamente ortodoxos. Más aún, queda claro que ni siquiera se han publicado estudios correspondientes a la tercera, cuarta y quinta etapas que se sistematizan en la Tabla 2.

Por ello en esta monografía vamos a revisar el camino más expedito y más eficiente posible para contestar el máximo de interrogantes que se requieren para estimar la magnitud de la asociación que existe entre las variables demográficas, los agentes etiológicos (actinomicetales patógenos más frecuentes), las variables explicativas e intervinientes que se encuentren en los individuos involucrados en cada grupo humano que se estudie desde el momento en que se produce la primo-infección por actinomicetales patógenos hasta la aparición del actinomicetoma clínico evidente (que es similar a la patología que producen los eumicetales). En ambas infecciones, la incidencia del micetoma clínico rara.

Veamos cómo podemos acercarnos al conocimiento de los aspectos prácticos del estudio epidemiológico del micetoma, con la esperanza de que los resultados que se obtengan y las inferencias que se formulen redunden en la reducción de su impacto patológico, social y sanitario, al menos en las regiones donde la infección es endémica.

En la Figura 1 se esquematizan los dos grandes campos de investigación en los que las enfermedades crónicas pueden ser estudiadas por los interesados cuando hacen estudios en comunidades o grupos humanos. Iremos mencionando lo que

podimos averiguar que se ha publicado sobre la infección o la enfermedad por actinomicetales patógenos en cada uno de esos campos o “secciones” de esos campos.



© (2004) Darío Novoa-Montero

Rev. Septiembre, 2005

FIGURA 1

Los dos campos en los que se pueden desarrollar los estudios de integración en ciencias de la salud en grupos humanos

(1) *Campo I:* el de los estudios epidemiológicos clásicos de *morbilidad* y *mortalidad* que van desde la salud hasta la enfermedad, que corresponden a la *epidemiología tradicional*, y eventualmente a la llamada *epidemiología clínica*. En este Campo I se enmarcan también los estudios socio-antropológicos y demográficos de relación entre variables que podemos considerar 'de la salud a la salud' y que, aunque no pertenezcan propiamente a la epidemiología, pueden emplear la misma metodología inductiva para observar fenómenos socio-antropológicos (por ejemplo rendimiento escolar comparado en una escuela secundaria) o demográficos (por ejemplo, mortalidad comparada entre dos grupos de individuos sanos en distintas comunidades). (2) *Campo II:* el de los estudios clínicos que van desde la enfermedad hasta los resultados de la enfermedad; y que corresponden a la *epidemiología clínica* propiamente dicha. Desde el punto de vista de la salud pública, en el campo I se pueden realizar *prevenciones primarias*, mientras que en el Campo II se pueden realizar *prevenciones secundarias*.

En el campo I de la Figura 1, se destacan los estudios que comienzan en un punto en el cual el grupo humano que se estudia *no está enfermo* (tiene “salud” con respecto al *actinomicetoma*). Nos corresponde enfatizar y sistematizar lo siguiente:

(1°) Los estudios socio-antropológicos. En ellos, el investigador tiene por objetivo resaltar los aspectos sociales (tipo de comunidad, características antropométricas de los habitantes, estatus socioeconómico, tipos de trabajo al que se dedican, hábitos familiares, creencias mágico-religiosas...) de las personas que viven en una determinada región, provincia, país, continente... en los cuales el *actinomicetoma* es endémico.

El objetivo principal de este tipo de investigación no es el estudio de la enfermedad clínica (micetoma), sino de las características socio-antropológicas que podrían servir de base para desarrollar planes de saneamiento ambiental y de educación para la salud con respecto a la patogenicidad de los *actinomicetales* en las regiones donde se realicen los estudios. Una posible aproximación a este modelo es el trabajo de M. A. Mejía *et al* (2000) y el de S. Vergara de Novoa (2001).

(2°) Los estudios demográficos. Corresponden a un caso especial de los estudios socio-antropológicos, en los que el objetivo fundamental es estudiar las tasas de mortalidad y otros aspectos demográficos (rendimiento en el trabajo o ausencia laboral, repercusiones económicas en la comunidad...), con el fin de sustentar la creación, dotación adecuada y mantenimiento de centros de salud profesional y técnicamente adecuados para atender los problemas que ocasiona, o puede ocasionar la prevalencia del *actinomicetoma* en las comunidades que se han estudiado, se están estudiando y deben ser atendidas. No tenemos información de trabajos que se hayan publicado en Latinoamérica, que estén orientados por este modelo.

(3°) Los estudios epidemiológicos. Cuando se dirijan a investigar la forma de *prevenir* la aparición de los actinomicetomas clínicos en los individuos que viven en nichos ecológicos en que los actinomicetales patógenos son endémicos, y que persigan recomendar medidas preventivas para evitar que la infección se produzca en los trabajadores y personas en riesgo. Un tipo de estudio ideal en este campo sería investigar la aplicación de “vacunas” que impidan que los individuos en riesgo sean infectados por actinomicetos patógenos. Así se bloquearía el efecto de la primo-infección a través de la puerta de entrada cutánea desde el medio ambiente al hombre. Es decir que esa posible “vacuna” tendría por objetivo evitar que la primo-infección por actinomicetales evolucione hasta el micetoma clínico. Este tipo de estudio podría tener relevancia si el modelo que se propone al final de esta monografía produce resultados que apunten hacia la aplicación de mecanismos inmunológicos o biomoleculares que así lo expliquen, y que sean la sustentación racional para lograr el “bloqueo” que se propone. Entonces los métodos que se empleen se aplicarían a las personas que viven en comunidades en riesgo solamente, o a personas que se trasladen a zonas endémicas y que estén expuestos a infectarse cuando realicen tareas para evitar en ellas la primo-infección por actinomicetales patógenos.

También entran en este Campo I de la Figura 1 los estudios epidemiológicos de *incidencia y prevalencia* de las infecciones por actinomicetales patógenos, o de los actinomicetomas clínicos que existan en comunidades, regiones, estados (provincias), países, subcontinentes o continentes. Buscar los denominadores para estimar la “verdadera” prevalencia de la infección, y el denominador para estimar la incidencia de los actinomicetomas en comunidades... es una tarea económicamente costosísima, consumidora de una enorme cantidad de tiempo y poco práctica. Reflexiones el lector que las estimaciones de la incidencia de casos clínicos debería terminar por hacer la inferencia de que “el micetoma no es una enfermedad prioritaria en el campo de la salud”, aunque pueda ser un problema social en grupos humanos determinados.

En cuanto a los estudios epidemiológicos sobre las infecciones producidas por *actinomicetales patógenos*, las investigaciones que sugiere la epidemiología clásica son:

- a) Las estimaciones de *prevalencia* de infecciones en grupos humanos, definidas por seropositividad a los *actinomicetos* patógenos, o definidas por cualquier otro marcador biológico o biomolecular que sea conocido. Actualmente este tipo de estudios no tiene mayor aplicación práctica, ya que no se sabe todavía con precisión cómo los marcadores biológicos conocidos están relacionados con la frecuencia mayor o menor de la aparición de los actinomicetomas. Si los investigadores usan el modelo que proponen Novoa-Montero & Serrano (1996b, 1997, 2000); Novoa-Montero et al (2000); los autores tienen la esperanza de que si se cuenta con fondos suficientes y se realiza la investigación en grupos apropiados, cuando se publiquen los resultados que se obtengan a través del modelo multidisciplinario de caso/control-familia/control-vecinos que proponen... serían muy útiles para disminuir la morbilidad y la discapacidad asociada al micetoma que afecta a los campesinos que viven en zonas endémicas a los actinomicetales patógenos.
- b) Los estudios de *prevalencia* de infecciones clínicas conspicuas, en nuestro caso específico, del *micetoma clínico evidente*, cuando la frecuencia se estima en comunidades completas, cuyo denominador censal es conocido. Es decir que se puede estimar verdaderas tasas de *prevalencia* o de *incidencia* de micetoma clínico y de infección por actinomicetales, a través de estudios de campo, que son muy costosos. Este tipo de estudio tropieza con el obstáculo de que dado que el *actinomicetoma* no está catalogado como un problema prioritario de salud pública ni por la Organización Mundial de la Salud, ni por la Comunidad Europea, es difícil conseguir financiamiento para realizarlos en América Latina. Quizá sería más asequible que el financiamiento se logre en ciertos países de África (Sudán, Senegal, Mauritania, Nigeria y Etiopía). Así lo propusimos en la "The Mycetoma International Conference", celebrada en Khartoum, Sudán en 2002 (Novoa-Montero y Serrano, 2002).

En el *Campo II de la Figura 1* se enumeran los estudios que *van de la enfermedad a los resultados de la enfermedad* (recuperación, mejoría, sin cambio, empeoramiento, complicaciones, discapacidad, o muerte). Los estudios en este campo atraen en forma especial a los investigadores clínicos, que parten del conocimiento clínico “completo” de un grupo de pacientes con *actinomicetomas* ya semiológicamente evidente y cuando ya haya sido suficientemente diagnosticado a través de técnicas de laboratorio, exploraciones complementarias que según los “*Criterios diagnósticos del actinomicetoma*, y a los investigadores les interesa observar uno o varios de los resultados de la enfermedad *actinomicótica*. Por supuesto que para realizar estudios en grupos humanos existen varias alternativas:

- (1) A través de series *clínicas per se* (cuya categoría corresponde al Grupo II, tipo 1 de la Tabla 1 y a la “Primera Etapa” de la Tabla 2). Las series clínicas agrupan las descripciones de los síndromes y de la patología que se observa en grupos clínicos “coleccionados” en un servicio, institución, etc., sin que los investigadores usen grupos de comparación o control para constatar las diferencias en las frecuencias de las variables más importantes. Como resaltamos al explicar el modelo que presentamos al final de esta monografía, llevar a cabo investigaciones clínicas *per se* no tiene mayor sentido para formular inferencias válidas que puedan aplicarse en salud pública. En efecto, en el momento actual no se justifica gastar tiempo y dinero para estudiar el actinomicetoma en series clínicas solamente, y que se publiquen resultados sin compararlos con los resultados observados en grupos clínicos de control, ya que con los datos que se obtienen en cada serie de casos sólo se pueden formular inferencias anecdóticas, aunque muchos autores quieran extenderlas para “generalizarlas” al conocimiento del actinomicetoma.

- (2) A través del estudio de variables (de persona, lugar y tiempo) que se observen en *series clínicas de actinomicetoma* (grupo de casos) que se comparan con las observadas en otra serie de individuos de la misma comunidad de donde proceden los casos y que no tienen *actinomicetoma* (grupo control). El objetivo que persigue este modelo es obtener datos sobre la asociación del *actinomicetoma* clínico con variables ecológicas, demográficas y/o con determinados factores de exposición. Al realizar estos estudios se persigue estimar el peso específico que cualquier característica o factor de exposición pueda tener como factor de riesgo o de protección en la aparición de las manifestaciones clínicas del micetoma. Lo mismo se haría con respecto a otras características que sean de interés en la historia natural del *actinomicetoma*. Esto es extensible a la determinación de las características o de la existencia de marcadores biológicos, inmunológicos o biomoleculares que se hipotetice sean importantes en la aparición clínica del *micetoma* en grupos humanos. Por lo tanto, los grupos de comparación pueden conformarse con individuos que nunca hayan tenido la infección; o que hayan tenido la infección, y que debido a que una gran mayoría de ellos tenga presencia o ausencia de algunos marcadores inmunológicos o biomoleculares, no aparezca el micetoma como enfermedad clínica evidente. Este tipo de estudio es el punto de partida del modelo que presentamos al final de esta monografía. Enfatizamos el hecho de que al emplear ese modelo sólo se *requiere un número pequeño de participantes*, sin que por ello se disminuya la validez de las inferencias que puedan formularse, y teniendo la ventaja práctica de no requerir muchos recursos financieros, lo que es muy importante en los países del tercer mundo.

Como podemos entrever, las investigaciones que se realizan en el campo *de la enfermedad a los resultados de la enfermedad* son ideales para ser llevados a cabo en centros de atención médica hospitalaria de III ó IV nivel; o de II nivel cuando los investigadores pueden realizar trabajos multidisciplinarios en conjunto con técnicos y tecnólogos de centros especializados, en los que se emplean pruebas sofisticadas y técnicas avanzadas para caracterizar a los actinomicetales patógenos y definir las respuestas inmunológicas que los actinomicetales patógenos producen en los humanos o en vertebrados superiores.

Proposición de modelos clínico-epidemiológicos eficaces, efectivos y eficientes en la investigación contemporánea del actinomicetoma

Ya revisamos lo que se ha publicado sobre las investigaciones del micetoma y de los actinomicetales asociados al mismo (observaciones de laboratorio, reportes de casos, series clínicas *per se*, series clínicas con controles que se aproximan a los estudios de caso-control, aproximaciones a estudios socioantropológicos...) (Tabla 2). Ahora, nos resulta imperativo informar al profesional de salud interesado, *cuáles son los modelos* de estudio que debe emplear para contestar preguntas relacionadas con la investigación sobre *actinomicetomas*, y *cuáles son las aplicaciones prácticas* que puede recomendar a los habitantes de comunidades endémicas, y que luego puedan aplicarse para minimizar el impacto que los actinomicetales patógenos pueden ocasionar en las comunidades endémicas.

Por lo que hemos recopilado y comentado anteriormente, es obvio que resulta fuera del sentido práctico proponer que para investigar sobre la etiopatogenia del actinomicetoma se sigan las cinco etapas del enfoque epidemiológico presentados en la Tabla 2. En efecto, ese es un camino extraordinariamente largo para estudiar los aspectos aun no bien conocidos de esa enfermedad infecciosa crónica que se trasmite del medio

ambiente al hombre. En efecto, las relaciones entre la infección primaria y su evolución en el hospedero hasta aparecer el *actinomicetoma* clínico, no se ha establecido todavía en forma precisa. El establecer la secuencia de ese proceso tiene fundamental importancia si se piensa que no está bien definido todavía con precisión si las lesiones óseas ...se producen por “osteomielitis y periostitis micóticas o [son] sólo osteoporosis” (Salfelder *et al* 1979), por qué a veces se producen sólo “minimicetomas” ...y por qué “los micetomas en animales son escasísimos, y por qué los actinomicetomas ocurren más en los países occidentales y los eumicetomas, más frecuentes en los orientales... y por qué los órganos internos aparecen afectados tan pocas veces... (Salfelder *et al* 1979). Es decir, que resulta de primordial importancia conocer a fondo por qué si la infección por actinomicetales patógenos es un lugar común en ciertos nichos ecológicos, resulta que los *micetomas clínicos* por sí mismos son tan infrecuentes. El período de latencia entre ambos hechos es tan largo, que es común que un gran número de personas de áreas endémicas estén infectadas y que nunca en su vida desarrollen la clínica del micetoma, a pesar de vivir y trabajar en labores agrícolas dentro de nichos ecológicos en los que abundan los actinomicetales patógenos. Esto indudablemente está relacionado con mecanismos genético-biomoleculares e inmunológicos, celulares y humorales que resulta perentorio concatenar en forma pragmática.

Por ahora sabemos que el tiempo mínimo de evolución entre la primo-infección por actinomicetales y la aparición del micetoma clínico ha sido reportada entre la casuística en al menos un niño de 3 años (Arenas & Navarrete, 1990). Pero esta observación no es razón suficiente para inferir que esa sea una regla en una población completa en la que conviven todos los grupos de edad, y en los que se sabe que el actinomicetoma no constituye una prioridad como problema de Salud pública.

Repetimos que los estudios de *prevalencia clínica* de actinomicetoma en medianas o grandes poblaciones (de comunidades con censo no conocido o conocido) exigen la inversión de cuantiosas sumas de dinero, consumen gran cantidad de tiempo, y puede que no sean útiles para iniciar programas de prevención primaria o de prevención secundaria.

Los dos grupos de investigación que pueden ser empleados en el estudio epidemiológico del micetoma, si tenemos en cuenta las argumentaciones expuestas en el párrafo anterior, cuando se parte de una recopilación de casos clínicos bien diagnosticados que viven en nichos ecológicos endémicos son el de la *Epidemiología Clínica Empírica* (Szklo 1994) y el *Modelo Multidisciplinario Biomédico y Epidemiológico de casos/no-casos familia/no-casos vecinos* Novoa–Montero & Serrano (1996b, 1997, 2002) y Novoa-Montero et al (1999, 2000).

Debemos dejar sentado que las dos alternativas para estudiar los aspectos epidemiológicos del actinomicetoma son válidas. Surge la pregunta, ¿Cuándo utilizar el modelo de la *epidemiología clínica empírica* y cuándo el modelo epidemiológico y multidisciplinario de *casos/no-casos familia/no-casos vecinos* para llevar a cabo investigaciones clínico-ecológico-epidemiológicas en los estudios *ad hoc* que se realicen sobre el actinomicetoma?

Estas son las respuestas:

- (1) La *epidemiología clínica empírica* (Szklo, 1994) debe ser utilizada en las investigaciones sobre el *actinomicetoma* que se observa en nichos ecológicos determinados cuando los investigadores, partiendo de sus propias investigaciones “rutinarias”, quieran responderse preguntas específicas como:

- Cuando los investigadores estén interesados en conocer las características propias o específicas de los actinomicetales que estén produciendo el micetoma, esto es de la microbiología básica de cada parásito y de las respuestas inmunológicas que presenten los huéspedes, como son la identificación de los tipos de inmunoglobulinas, la descripción de las respuestas de inmunología celular, y la determinación de los marcadores biológicos o biomoleculares que correspondan a los diferentes actinomicetales patógenos.
- Cuando los investigadores publican reportes de casos clínicos o de una serie de casos clínicos de *micetoma* en la institución o área ecológica en que viven los pacientes. En general, se recomienda que los investigadores, cuando publiquen sus artículos, no se limiten a incluir solamente los datos que encuentren en “su” serie clínica *per se*, sino que procuren compararlos con las mediciones y datos que obtengan en un grupo de pacientes que padezcan *otra* enfermedad no relacionada con la infección por actinomicetales y que sean atendidos en el mismo centro de salud (personas que son similares a los casos en cuanto a género, edad, procedencia, condiciones socioeconómicas, etc.), de modo que, constituyéndose en grupo testigo, al publicar los resultados se pueda confiar en las potenciales inferencias que se formulen. Es decir, que se puede tener la confianza de que al comparar los resultados de las variables más importantes en ambos grupos, las inferencias clínico-epidemiológico-empíricas tienen sentido heurístico, y su aplicación puede dirigirse a solucionar o aminorar los efectos en por lo menos el grupo humano en el que trabaja cada investigador.
- Cuando los investigadores realizan estudios de intervención de factores de exposición en una “cohorte” hospitalaria en la que se sabe o se sospecha que los pacientes estén en riesgo en

cuanto al contagio de la infección por actinomicetales patógenos. El objetivo que perseguiría este tipo de investigación sería lograr la prevención primaria de la infección por sí misma, o la prevención secundaria de los resultados antiestéticos y discapacitantes de la enfermedad cuando ya el *actinomicetoma* se ha manifestado clínicamente en ese grupo de personas. El diseño simple para lograr la prevención primaria, podría verse en una serie de personas que viven en zonas de riesgo a los que se les indica que sigan ciertas medidas de intervención de factores que se consideran o se sabe son de riesgo para así evitar la infección (prevención primaria) y de esta forma evitar la enfermedad por los actinomicetales patógenos. Si se utiliza un grupo control, el estudio clínico-empírico adquiere el aspecto de ensayo clínico no aleatorizado pero heurísticamente útil, que presenta la gran ventaja práctica de poder realizarse empleando grupos pequeños de personas, en los que se establezca la diferencia en los resultados en cuanto a las mediciones de primo-infección en el grupo no protegido con respecto del grupo protegido por los métodos de intervención que se propongan (estudio de eficacia y efectividad de métodos profilácticos).

- Cuando los investigadores realizan estudios de ensayo terapéutico en series *clínicas per se* (experimentos terapéuticos no controlados), o para comparar la eficacia, la efectividad o la eficiencia de una droga (generalmente la más asequible y/o económica en los países del tercer mundo) en comparación con otra droga o procedimiento terapéutico conocido estándar (el diseño correspondería a un ensayo terapéutico controlado). Este diseño de la epidemiología clínica empírica es de gran importancia práctica en nuestros países del tercer mundo, y es de mucha utilidad para los residentes de áreas hospitalarias. Su aplicación en la práctica de salud es evidente.

- (2) Al modelo de casos/no-casos familia/no-casos vecinos, que hemos venido proponiendo en diversos eventos internacionales como el de Moscú, Rusia (Novoa-Montero & Serrano, 1994), el de Jabalpur, India (Novoa-Montero & Serrano, 1996b), Beijing, China (Novoa-Montero & Serrano, 1997), Estados Unidos (Novoa-Montero *et al* 2000) y Sudán (Novoa-Montero & Serrano, 2002). A este submodelo de caso-control le dedicamos todo el acápite siguiente.

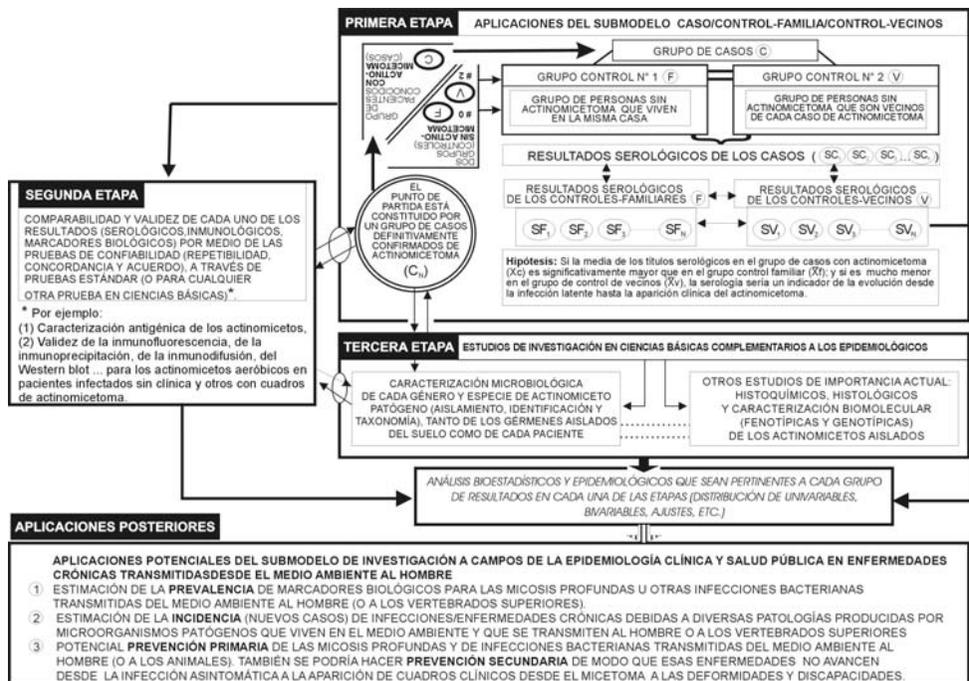
Modelo multidisciplinario biomédico y epidemiológico de casos/no-casos familias/no-casos vecinos. Potencial método para estudiar simultáneamente muchos aspectos de la etiopatogenia de la infección por actinomicetales y de su evolución hasta el actinomicetoma

Basándonos en un artículo que publicamos anteriormente (Novoa *et al* 1999), proponemos ahora emplear un nuevo submodelo de estudio de caso-control para ser aplicado cuando se busca estudiar el actinomicetoma partiendo de una serie de casos reunidos por uno o varios médicos, y que procedan de comunidades de un área endémica definida. Esas condiciones se dan en el trabajo asistencial que realizan los grupos de médicos especialistas y micólogos clínicos que trabajan en los centros de Salud en el que se atienden comunidades que viven en nichos ecológicos donde los actinomicetales patógenos son endémicos y el micetoma se ve con cierta frecuencia. El submodelo que proponemos permite elucidar conjuntamente los aspectos biomédicos y ecológico-epidemiológicos de las infecciones y enfermedades producidas por los actinomicetales aeróbicos en humanos; específicamente en lo que respecta al actinomicetoma, que es producido por varios agentes. El uso del submodelo permite que se emplee un número de testigos (grupo de

comparación) para comparar la distribución de las variables entre ambos grupos. Para lograr ese objetivo basta con que el grupo de comparación sea al menos igual al de los casos.

La bondad del submodelo estriba en que se puede contar con dos grupos de comparación: el de *no-casos familia* y el de *no-casos vecinos*. Así, aparece claro que los 3 grupos “están a la disposición” del equipo de investigadores. Es decir que todos los participantes son asequibles y manejables logísticamente por cualquier institución de asistencia médica, aunque sólo cuente con recursos limitados, lo que es la norma en los países del tercer mundo.

Tenemos la firme convicción de que al proponer este submodelo, que requiere del trabajo sincronizado de un equipo multidisciplinario de investigadores, es una herramienta potencial para desarrollar concatenadamente diversas líneas de investigación en el campo no sólo de los actinomicetales, sino en el de cualquier otra enfermedad infecciosa que se transmita del medio ambiente al hombre. Aunque parezca extraño, actualmente este submodelo, está siendo empleado en una investigación que desarrollamos conjuntamente entre Trino Baptista, Carlos Delgado y Darío Novoa Montero. El Proyecto se titula “Frecuencia del síndrome metabólico entre pacientes esquizofrénicos y bipolares comparados con familiares sin patología psiquiátrica. Estudio de caso/control-familia/control-vecinos” (2004).



© 2005 Dario Novoa-Montero

Rev. abril, 2005

FIGURA 2

Diagrama de flujo del modelo multidisciplinario biomédico y epidemiológico de caso/control-familia/control-vecinos para investigar la infección por actinomicetales patógenos y sus manifestaciones clínicas (micetoma) y/o deformidades y discapacidad. Aplicación del modelo a otras infecciones crónicas que se transmiten del medio ambiente al hombre (micosis sistémicas, etc.)

Una visión de conjunto, en forma de diagrama de flujo, que comprende todos los aspectos de este modelo, está detallada en la Figura 2. Para entenderla sugerimos que el lector la vaya siguiendo paulatinamente a medida que lea esta monografía. El punto de comienzo en la investigación es que se cuente con un grupo de casos que hayan sido muy bien diagnosticados, es decir “que indudablemente padezcan actinomicetoma” de acuerdo con los criterios clínicos, serológicos, microbiológicos ya establecidos (Fahal 1992). Corresponde pues al criterio que se emplea al iniciar investigaciones de los llamados “nested cases” (Tabla 1). En nuestra experiencia para comenzar con el estudio del problema, se partió de 39 casos de actinomicetoma, que ya han sido reunidos por Serrano *et al* desde 1962 hasta 2003 (Tabla 3).

Recapitulando decimos que el submodelo de investigación de caso-control que se propone está dirigido a estudiar grupos de casos clínicos que han estado siendo atendidos en centros bien equipados en los cuales han sido diagnosticados por padecer, sin lugar a dudas, *micetoma clínico* (actinomicetoma). El grupo entero de actinomicetomatosos (en nuestro grupo de investigación corresponde a 39 casos diagnosticados entre 1962 y 2003 [Serrano *et al* 1987, 1996; Novoa-Montero *et al* 1999; Novoa-Montero & Serrano 1996b, 1997, 2002; Novoa-Montero *et al* 2000]). Esa serie constituye el grupo de casos (o *grupo de estudio*) que en la Figura 2 se codifican ($C_1, C_2, C_3...C_n$). Para realizar el diseño de caso-control (primera etapa de la Figura 2), se toma como *grupo control N° 1*, al conformado por al menos un conjunto igual de familiares de cada uno de los pacientes, y que por supuesto no tienen *micetoma* (en el diagrama de flujo se codifican como ($F_1, F_2, F_3...F_n$). Más aún, para optimizar los contrastes de los resultados, proponemos que se conforme un *segundo grupo de control* con un conjunto de personas elegidas al azar, que no sean familiares y que vivan en casas vecinas a las de cada caso, y que, por supuesto, ninguna padezca *micetoma* (en el diagrama de flujo se codifican como ($V_1, V_2,$

$V_3...V_n$). Resulta obvio señalar que cuando alguno de los testigos (controles) que vivan en cualquiera de esas casas (propias o vecinas) se descubra que padezca *micetoma*, engrosaría el grupo de los casos (C_i).

Teniendo conformado el grupo de casos ($C_1, C_2, C_3...C_n$), y habiendo seleccionado los dos grupos de control [$(F_1, F_2, F_3...F_n)$ y $(V_1, V_2, V_3...V_n)$], se parte de los datos de los resultados serológicos ya conocidos en el grupo de casos ($SC_1, SC_2, SC_3...SC_n$) y se comparan con los resultados serológicos que se obtengan *ad hoc* en cada uno de los adultos seleccionados del grupo de familiares sin *micetoma* ($SF_1, SF_2, SF_3...SF_n$) y con los resultados serológicos de los vecinos sin *micetoma* ($SV_1, SV_2, SV_3...SV_n$).

Se sugiere que el lector siga con detenimiento y atención el contenido del diagrama de flujo de la Figura 2 y que observe que la *hipótesis sobre las diferencias* entre los resultados serológicos debería ser la siguiente:

“Si la media (\bar{X}_{SC}) de los títulos serológicos en el grupo de casos ($SC_1, SC_2, SC_3...SC_n$) es significativamente mayor que la media (\bar{X}_{SF}) entre el grupo control de familiares ($SF_1, SF_2, SF_3...SF_n$); y si a su vez ambas medias ($\bar{X}_{SC}, \bar{X}_{SF}$) fueran significativamente mayores que la media del grupo de control de los vecinos (\bar{X}_{SV}), el aumento de los títulos serológicos sugeriría que el incremento en los títulos de seropositividad para el o los agentes actinomicetales patógenos que se estén estudiando, debería corresponder a un indicador de mayor probabilidad de aparición clínica del cuadro clínico de micetoma”.

Por supuesto que de acuerdo con que la infección sea producida por uno u otro actinomiceto patógeno, la variable seropositividad podría tener diferentes respuestas inmunológicas, de acuerdo con diferentes tipos de inmunoglobulinas que se

comporten como anticuerpos en el huésped. Pensamos que la reacción inversa entre el aumento de los títulos serológicos con respecto a la aparición del actinomicetoma clínico, no debería observarse; pero si lo fuera, constituiría un hallazgo muy importante, digno de una publicación especial. El que la respuesta fuera mixta, es decir que con la infección por un actinomiceto produjera aumento, y que por otro produjera disminución o no variara... plantea un problema heurístico, sobre el cual no nos parece pertinente hacer comentarios especulativos.

La *segunda etapa* del modelo que se presenta en la investigación multidisciplinaria de “caso/control-familia/control-vecinos” es la del establecimiento de la comparabilidad y validez de los resultados de cada una de las pruebas de laboratorio (serológicas, inmunológicas, marcadores biológicos) que se empleen para cada actinomiceto patógeno. (Véase la parte correspondiente de la Figura 2, *segunda etapa* del diagrama de flujo).

Para que los resultados de las pruebas que se emplean tengan *validez* o confiabilidad al realizar un trabajo de investigación, es conveniente que el grupo de investigadores interesados en el estudio de los actinomicetomas revisen las técnicas de laboratorio que se emplean (Tercera etapa del diagrama de flujo), en cuanto a:

Supervisar la *caracterización antigénica* de cada actinomiceto patógeno que estudien. Por lo tanto, el investigador responsable de ese “sector” del proyecto debe asegurarse de que los reactivos que se utilicen hayan pasado todas las pruebas estándar de calidad internacionales que estén vigentes. Si fuera posible, esa tarea debe ser cumplida en lo que corresponde al *estudio piloto* del proyecto que prevean cuando los investigadores realicen la investigación. También deberían comprobar que los reactivos y antígenos, etc., que utilizarán sean de óptima calidad.

- *Precisar la validez de las pruebas* de medición de anticuerpos presentes en las muestras de suero sanguíneo, a través de los métodos de: (a) inmunofluorescencia; (b) inmunoprecipitación; (c) inmunodifusión; (d) Western blot... y/o de cualquier otra prueba que se invente o que se estime sea pertinente para completar la investigación con respecto a cada actinomiceto patógeno cuando éste se realice.

La *tercera etapa* del diagrama de flujo de la Figura 2 que se presenta en la investigación gracias a este sub-modelo multidisciplinario de “caso/control-familia/control-vecinos” destaca la facilidad que el modelo ofrece para:

- (1) Realizar estudios precisos de investigación en ciencias básicas, que complementen y contribuyan a elucidar la *caracterización microbiológica* de cada agente a través de su aislamiento, identificación y taxonomía. Es muy importante que en cada actinomicetoma se determine las características de los agentes patógenos, tanto de los gérmenes que se encuentran en los suelos y en las plantas, como de los que se aíslan de los humanos (y vertebrados superiores) que viven en las zonas endémicas que sean objeto de la investigación que se lleva a cabo. Precisar esos datos orientaría mucho acerca de la virulencia de los géneros y especies que producen cuadros clínicos de *micetomas* en comparación con otros géneros y especies de actinomicetos que no lo hacen. Por ejemplo, ese tipo de estudio podría encontrar la explicación posible del por qué en zonas endémicas para los micetomas, se aíslan del suelo y de las plantas varios géneros y especies de actinomicetos; y sólo se ha encontrado presente una de las especies en los micetomas que se han diagnosticado. En otras zonas endémicas los resultados pudieran apuntar en otro sentido.

- (2) Realizar investigaciones muy sofisticadas sobre las características histológicas, histoquímicas y caracterizaciones biomoleculares (tanto fenotípicas como genotípicas) de cada actinomiceto aeróbico que haya sido aislado en cada grupo humano estudiado. Esto quizá permitiría explicar por qué un mismo género y especie es a veces más virulento que otro, si su sub-caracterización es diferente en un grupo humano que en otro en el mismo nicho ecológico. Es también importante estudiar y determinar el tipo de resistencia a los antimicrobianos y si la misma es de origen exógeno o endógeno, para así poder comprender mejor los mecanismos de resistencia de una determinada cepa a uno o a varios antibióticos en particular. Esto implica el estudiar la resistencia a los antibióticos, tanto de las cepas aisladas de los pacientes con actinomicetoma, como la de cepas aisladas del medio ambiente. El estudio de Mayela Uzcátegui titulado “Género *Nocardia*: Características morfológicas, bioquímicas, citoquímicas y susceptibilidad antimicrobiana” (Uzcátegui-Negrón, 2004) es un intento para contestar este punto.

Análisis bioestadísticos y epidemiológicos aplicables al submodelo que se propone

En la Tabla 5 se presentan los métodos estadísticos que se usan para estimar la asociación entre variables cualitativas (atributos) o cuantitativas (variables propiamente dichas) en los estudios en grupos humanos (cuando se presume que los eventos son binomiales independientes). Esos tipos de análisis son aplicables al modelo que estudiamos en la *primera etapa* del diagrama de flujo de la Figura 2, es decir en los estudios epidemiológicos propiamente dichos. Se recomienda que el lector los revise y reflexione sobre lo que ellos significan. Los paquetes estadísticos más conocidos mundialmente para estos análisis son el SPSS, el SAS, y EpiInfo. Utilizándolos apropiadamente se

pueden obtener resultados confiables. Las bases bioestadísticas en las que se fundamentan los análisis de esos paquetes de computación pueden consultarse en buenos libros de la especialidad, por ejemplo Daniel (1991).

Los análisis estadísticos que se utilizan en la *segunda etapa* de la investigación (Figura 2) son:

- (1) Los correspondientes a la comparabilidad entre las lecturas del mismo método de laboratorio (“reliability”, repetibilidad) o sea las lecturas que ha hecho el mismo técnico o tecnólogo cuando emplea la misma técnica en el mismo laboratorio, el método de análisis es el de la “*intrasubject correlation*”. (Ross & Novoa-Montero 1993).
- (2) Los correspondientes al llamado “*inter rater agreement*” propuesto por Landis y Koch (1977) y que se mide por el estadístico *Kappa* (Fleiss 1981). Este tipo de análisis, encierra dos conceptos:
 - (a) La comparación de los resultados de una misma prueba en distintos laboratorios (“concordance”, concordancia) (Ross & Novoa-Montero 1993).
 - (b) La comparación de los resultados del mismo método en diferentes laboratorios (“agreement” o acuerdo) (Ross & Novoa-Montero 1993).

A los lectores interesados les sugerimos que lean el artículo “*Comparability and reliability of Elisa, immunofluorescence, and indirect hemagglutination assays for Trypanosoma cruzi and Trypanosoma rangeli*, publicado en The Journal of Infectious Diseases (Ross & Novoa-Montero, 1993) y que utilicen un diseño similar para determinar la validez de las pruebas de laboratorio que utilicen en el estudio que realicen en su sitio de trabajo.

Una vez que la validez de una prueba determinada sea estimada, los investigadores que cuenten con un grupo de enfermos de *micetoma*, podrían definir en su propia pesquisa qué significan las pruebas de laboratorio con respecto a la infección y

con respecto a la patología que observen en el *actinomicetoma* y cómo son diferentes o semejantes entre los diferentes agentes actinomicetales que pudieran encontrarse en otros casos de la misma región que estudian. Esta metodología es confiable para presentar los resultados y hacer inferencias que puedan explicar el por qué de la aparición del cuadro clínico en unos pocos individuos mientras que en la mayoría de sus familiares y vecinos infectados es silencioso o asintomático. Esto sería especialmente “convinciente” cuando los resultados de los análisis se presenten “ajustados” para las diferentes variables que sean pertinentes en cada grupo estudiado.

Los análisis estadísticos de los estudios que se realicen en la *tercera etapa* del diagrama de flujo de la Figura 2 no exigen mayores explicaciones. En realidad corresponderían a *estudios* en el campo de las ciencias básicas como microbiología, histopatología, caracterizaciones biomoleculares (fenotípicas y genotípicas) de los agentes que se encuentren en los individuos que participen en los estudios, y de los productos del micetoma, pero fundamentalmente de los actinomicetos mismos aislados en cada grupo de estudio.

En la Figura 3 presentamos, en forma de diagrama de flujo simplificado, los pasos sucesivos que se deben seguir cuando se emplea el modelo que presentamos en esta monografía. En ese diagrama integramos los mensajes de la Figura 2 de modo que en su centro se interconectan los estudios que se pueden realizar en el Campo I con los del Campo II, y se desarrollen los estudios correspondientes al modelo caso/no-caso familia/no-caso vecinos, para contestar entre sí todas las interrogantes que heurística y científicamente se puedan formular en el estudio del micetoma. Esperamos que el lector pueda seguir esa integración y ojalá que algún grupo de investigadores lo emplee en su sitio de trabajo, y que los resultados que obtengan sean provechosos y productivos para su aplicación en la salud pública local, regional o nacional del país donde trabajen. Entonces, con su triunfo, nos sentiríamos académicamente retribuidos.

Aplicaciones potenciales del modelo caso/no-caso familia/no-caso vecinos en estudios de epidemiología clínica y de salud pública en otras infecciones transmitidas desde el medio ambiente al hombre

El desarrollo de las investigaciones sobre la infección por actinomicetales y sobre el actinomicetoma clínico en un grupo humano determinado, cuando se haya realizado a través de las *tres etapas* del diagrama de flujo de la Figura 2 utilizando series de casos clínicos, es aplicable *mutatis mutandi* a pesquisas similares de otros *actinomicetos patógenos* en humanos (o animales vertebrados superiores). El modelo es también efectivo para estudiar la epidemiología de otros microorganismos que se transmiten del medio ambiente (generalmente el suelo y las plantas xerófitas) al hombre (o vertebrados superiores); pero no lo es cuando la transmisión se realiza de humano a humano (*antrónosis*), de animal a humano (*zoonosis*), o de animal a animal (*enzootia*).

Una vez obtenidos los resultados preliminares con el sub-modelo casos/no-casos familia/no-casos vecinos, se pueden realizar estudios de estimación de la *prevalencia* de los marcadores biológicos en grupos humanos en los que se defina y se estime la tasa de prevalencia de la infección en las comunidades endémicas a los actinomicetos o eumicetos patógenos, y de otras bacterias de comportamiento similar, donde lógicamente se produce la cadena de transmisión medio ambiente-hombre.

Basándose en los mismos resultados, debidamente jerarquizados, se puede definir con la mayor claridad posible la *incidencia* (casos clínicos nuevos) de *micetoma* que aparezcan en una determinada comunidad de un área de estudio, cuyo “*denominador*” puede ser relativamente fácil de estimar por medio de censos *ad hoc*. Parece lógico inferir que una vez establecida la secuencia entre las variables a ser incluidas en una investigación determinada y cuando se haya obtenido respuestas con el empleo del modelo que proponemos, se podría estimar el *pronóstico*, en cada persona en particular, desde la determinación de la infección inaparente hasta la aparición de *cuadros clínicos de micetoma* o de la otra enfermedad bacteriana que se trasmite del medio ambiente al hombre o animal superior.

De lo descrito y comentado anteriormente se infiere fácilmente que el lograr el conocimiento multidisciplinario de todos los problemas descritos para completar los conocimientos sobre la infección y enfermedad por actinomicetales patógenos, pondrá en manos de cada grupo de investigadores las herramientas necesarias para mejorar la *prevención primaria* y, lo que es más práctico aún, lograr la *prevención secundaria* de los eventos de la enfermedad en cada enfermo, de manera que se reduzca al mínimo la aparición de micetomas (o de la clínica de la enfermedad en otros tipos de infecciones transmitidas del medio ambiente al hombre [o al animal superior]). Las aplicaciones de los resultados reducirían evidentemente las consecuencias socio-económicas de este tipo de enfermedades.

Esperamos que los investigadores interesados nos ocupen en caso necesario a través de las direcciones: <Darío Novoa> labmice@ing.ula.ve / dmontero98@hotmail.com; y <José Antonio Serrano> jacielo@cantv.net.

AGRADECIMIENTOS

A Érika Colmenares, María Osleida Mercado y Ana C. Uzcátegui de Camargo, por el procesamiento de palabras e imágenes y diseño en computación que terminaron en la edición de esta monografía. Al Consejo de Desarrollo Científico, Humanístico y Tecnológico de la Universidad de Los Andes (CDCHT-ULA) por el financiamiento en la realización de este trabajo (Proyecto M-738-01).

REFERENCIAS

1. Araujo MJ; Castañeda E. Preparación de un antígeno de *Madurella mycetomatis* aplicable al diagnóstico de micetoma. *Rev Iberoam Micol.* 1997; 14: 31-35.
2. Arenas R; Navarrete G. Micetomas en niños: Estudio de cinco casos. *Dermatología Rev Méx*, 1990; 34: 205-208.
3. Baptista T; Novoa-Montero D; Delgado C. Frecuencia del Síndrome metabólico entre pacientes esquizofrénicos y bipolares en comparación con familiares sin patología psiquiátrica. (Estudio de caso/control-familia/control-vecinos). Proyecto CDCHT-ULA M783-03-07^a, 2004 e-mail: <darionovoa>labmice@ula.ve.
4. Brumpt E. Mycetomes humaines. *Compt Rend Soc Biol.* 1905; 58: 997-999.
5. Brumpt E. Les Mycetomes. *Arch Parasitol.* 1906; 10: 489-572.
6. Carrada T; Corrales-Sánchez JS; Corrales-Sánchez DF. Avances en el conocimiento de las micosis subcutáneas y actinomicetomas (I). Agentes etiológicos y aspectos clínico-epidemiológicos. *Piel*, 1995; 10: 64-76.
7. Castro LGM Jr; Belda W; Salebian A; Cucé LC. Mycetoma. A retrospective study of 41 cases seen in São Paulo, Brazil, from 1978 to 1989. *Mycoses*, 1993; 36: 89-95.
8. Chang P; Logemann H. Mini-mycetoma due to *Nocardia brasiliensis*. *Int J Dermatol*, 1992; 31: 180-181.
9. Chávez G; Estrada R; Bonifaz A. Perianal actinomycetoma experience of 20 cases. *Int J Dermatol*, 2002; 41: 491-493.
10. Daniel WW. 1991. *Biostatistics: A foundation for analysis in the health sciences*. 5th ed. John Wiley and Sons. New York.
11. Fahal AH, Hassan MA. Mycetoma. *Br J Surg*, 1992; 79: 1138-1141.
12. Fleiss JL. 1981. *Statistical methods for rates and proportions*. 2nd ed. John Wiley and Sons. New York.
13. International Conference on Current Status and Challenges in Medical and Veterinary Research, particularly in Third World countries. 1996, Jabalpur, India.
14. ISBA'94. IX International Symposium on the Biology of Actinomycetes. Book of abstracts. Moscú, Russia, 10-15 de julio, 1994.
15. ISBA'97. X International Symposium on the Biology of Actinomycetes. Book of abstracts. Beijing, China, May 27-30, 1997.
16. ISBA'99. XI International Symposium on the Biology of Actinomycetes. Book of abstracts. Sissi Hemklien, Creta, Grecia, 24-28 October, 1999.
17. ISBA'2001. XII International Symposium on the Biology of Actinomycetes. Book of abstracts. Vancouver, Canadá, 5-10 agosto, 2001.
18. ISBA'2003. XIII International Symposium on the Biology of Actinomycetes. Book of abstracts. Melbourne, Australia, 1-5 diciembre, 2003.

19. Kanhack AA. Madura Disease (mycetoma) and actinomycetes. J Pathol I; 1893; I: 140-162
20. Lacaz CS. Distribuição geográfica dos micetomas no Brasil. An Bras Dermatol, 1981; 56: 167-172.
21. Landis JR; Koch GG. The measurement of observer agreement for categorical data. Biometrics, 1977; 33: 159 – 179.
22. Lilienfeld AM; Lilienfeld DE. 1980. Foundations of Epidemiology. 2nd edition. Oxford University Press, New York.
23. Londero A; Ramos C. Micetomas actinomicóticos no Ríó Grande do Sul. Relato de quatro casos. Mem Inst Osw Cruz, 1986; 81:73-77.
24. López R; Welsh O. Epidemiology of mycetoma in Mexico. Study of 2.105 cases. Gac Méd Méx, 1992; 128: 477-481.
25. Mahgoub ES; Murray IG. Mycetoma. William Heinemann Medical Books Ltd. The Whitefriars Press Ltd. London, 1973.
26. Mariat F. Étude comparative de souches de *Nocardia* isolées de mycétomes. Ann Inst Pasteur. 1965; 109-190.
27. Mariat F; Destombes P; Segretain G. The mycetomas: Clinical features, pathology, etiology and epidemiology. Contrib Microbiol Inmunol. 1977; 4:1-39.
28. Mejía MA; Serrano JA; García E; Novoa-Montero D; Zamora R. El Micetoma en Venezuela. Estudio de serie de casos en el Estado Lara. (1976-1996). Estudio multidisciplinario (biomédico) y epidemiológico de casos-familia (1995-1996). Informe al Consejo Desarrollo Científico Humanístico y Tecnológico de la Universidad de Los Andes. Enero 20 de 2000.
29. Motta RL; Rocha-Vilela RV; Lambertucci JR. Actinomycetoma caused by *Nocardia brasiliensis*. Rev Soc Bras Med Trop. 2004; 37: 287-288.
30. Novoa-Montero D; Serrano JA. Multidisciplinary family-case comparison epidemiologic study (1994-1996). Proceedings of the Ninth International Symposium on the Biology of the actinomycetes. Moscow, Rusia, 1994.
31. Novoa-Montero D; Serrano JA. Mycetoma in Venezuela – a series of cases in the State of Lara, Venezuela. Proceedings. International Conference on Current Status and Challenges in Medical and Veterinary Research, particularly in Third World countries. Jabalpur, India, 1996a.
32. Novoa-Montero D; Serrano JA. Venezuelan multidisciplinary family-case comparison epidemiologic study of mycetoma (1966-1995). Proceedings. International Conference on Current Status and Challenges in Medical and Veterinary Research, particularly in Third World Countries. Jabalpur, India, 1996b.
33. Novoa-Montero D; Serrano JA. Multidisciplinary family-case biomedical and epidemiologic model to study pathogenic aerobic actinomycetes. Emphasis on mycetoma infections. Proceedings Xth International Symposium on Biology of Actinomycetes. Beijing, China, 1997.

34. Novoa-Montero D; Serrano JA; Boiron P; Mejía MA. Multidisciplinary family-case biomedical and epidemiologic model to study pathogenic aerobic actinomycetes. *J Mycol Med* 1999; 9:127-129.
35. Novoa-Montero D; Serrano JA; Boiron P. Epidemiologic models to develop new research on human mycoses. *Boletín de la Sociedad Venezolana de Microbiología, (Venezuela)* 2000; 20: 21-29.
36. Novoa-Montero D; Serrano JA. Review on human mycoses in Venezuela. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología, Caracas*, 2001; 21: 49-68.
37. Novoa-Montero D; Serrano JA. Multidisciplinary family-case biomedical and epidemiologic model to study actino and eumycetoma. *Proceedings The Mycetoma International Conference. Khartoum, Sudan*, 3-5 de febrero de 2002.
38. Novoa-Montero D. Epidemiología clínica para investigadores en Hospitales. Modelos básicos de investigación clínico-epidemiológica en ciencias de la salud. 6^a ed. Laboratorio Multidisciplinario de Investigación Clínico-Epidemiológica (Lab-MICE), 2003; Mérida, Venezuela. *e-mail: labmice@ula.ve; www.netsaluti.com/es/dnova*.
39. Organización Mundial de la Salud (OMS). Oficina Sanitaria Panamericana (OSP). Organización Panamericana de la Salud (OPS), Clasificación Internacional de Enfermedades, IX Revisión (CIE-9), Washington, DC, 1975.
40. Organización Mundial de la Salud (OMS). Oficina Sanitaria panamericana (OSP). Clasificación Estadística Internacional de Enfermedades y Problemas Relacionados con la Salud. Décima Revisión (CIE-10), Washington, DC, 1995.
41. Pinoy E. Actinomycoses and mycetomes. *Paris Bull Inst Pasteur*. 1913; 11: 929-938.
42. Ross A; Novoa Montero D. Comparability and reliability of ELISA, immunofluorescence, and indirect hemmagglutination assays for *Tripanosoma cruzi* and *Tripanosoma rangeli*. *JID*, 1993; 168:1581-1584.
43. Salfelder K, Schwarz J, Saverteig E. Micosis profundas en el hombre. Atlas en color F.K. Schattaver Verlag, Stuttgart. New York. 1979.
44. Serrano JA, Beaman BL, Viloría JE, Mejía MA, Zamora R. Histological and ultrastructural studies of human actinomycetoma. In B. Szabo, S. Biro, M. Goodfellow. (eds) *Biological and biochemical aspects of actinomycetoma*, Akadémicae Kiadó, Budapest, Hungary. 1986, pp 647-662.
45. Serrano JA; Beaman B; Mejía MA; Viloría JE; Zamora R. The actinomycetoma in Venezuela: A ten year study (1976-1986). *Rev Inst Med Trop, São Paulo*, 1987; 30:297-304.
46. Serrano JA; Novoa-Montero D; Mejía MA; García E. Mycetoma in Venezuela. Series of cases in the State of Lara (1975-1994). *Proceedings IX Simposio Internacional sobre la Biología de los actinomicetales. Abstracts N° S 10-2,3*, pp. 77; Moscow, Rusia, 1994.
47. Serrano JA; Novoa-Montero D; Mejía MA; García E. Mycetoma in Venezuela. Series of cases in the State of Lara (1976-1994).

- Multidisciplinary family-case comparison epidemiologic study (1994-1996). *Biotechnology*, 1995; 7-8: 289-93.
48. Serrano JA; Novoa-Montero D. Mycetoma in Venezuela – a serie of cases in the State of Lara, Venezuela. Proceedings International Conference on Current Status and Challenges in Medical and Veterinary Research, particularly in Third World Countries. Jabalpur, India, 1996.
 49. Serrano JA, Novoa-Montero D. Review on human mycoses in South America. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, Caracas, 2001a; 21: 66-77.
 50. Serrano JA, Mejía MA, Díaz-Corrales F, Uzcátegui Negrón M, Saad C, Couble A, Casoli E, Boiron P, García E. Rapid identification by PCR of two strains of *Nocardia brasiliensis* isolated from an actinomycetoma case. *J Micol Med*; 2001b; 11:106-108.
 51. Serrano JA; Novoa-Montero D. Mycetoma in Venezuela: A social disease. Epidemiologic and Basic Sciences Approach. Proceedings The Mycetoma International Conference. Khartoum, Sudán, 2002.
 52. Szklo M. Estudios epidemiológicos de efectividad, una prioridad en Latinoamérica. Symposium Epidemiología: Restricciones, retos, y oportunidades en Latinoamérica. Resúmenes (Abstracts) Congreso Regional de la Asociación Internacional de Epidemiología Cuernavaca, Morelos, México. pp. 15, 24-26 enero 1994.
 53. Uzcátegui-Negrón M. Género *Nocardia*: Características morfológicas, bioquímicas, citoquímicas y susceptibilidad antimicrobiana. Monografía de Grado (mimeografiada) Escuela de Bioanálisis, Facultad de Farmacia, Universidad de Los Andes, Mérida, 2004; 55 pp.
 54. Vergara de Novoa S. Micetoma y factores sociodemográficos en el Estado Lara 1976-1997 (Trabajo de Ascenso). Facultad de Medicina Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela. 2001.
 55. Vergara de Novoa S; Serrano JA; Novoa-Montero D. Social demographic factors and mycetoma in the Lara-State. Venezuela. 1976-1997. XVIth IEA World Congress of Epidemiologic. Final Programme & Book of Abstracts WP64. WP. August 18-22, 2001 Montreal, Canada.
 56. Wanke NC; Wanke B; Caiuby MJ; Towersay L; Londero AT; Díaz MF; Siqueira SP. Mycetoma due to *Actinomadura madurae*. A report of 2 cases. *Rev Int Med Trop São Paulo*, 1992; 34: 367-372.
 57. Winslow DT. Botryomycosis. *Am J Path.* 1959; 35: 153
 58. Winslow DT and Steen. Consideration in the histologic diagnosis of mycetoma. *Am J Clin Path.* 1964; 164-169.
 59. Winslow DT. 1971. Mycetoma in *The pathologic Anatomy of Mycoses Human Infection with Fungi, Atinomyces and Algae*. RD Baker ed Springer-Verlag. Berlin pp. 589-613.
 60. Zaias N; Taplin D; Rebell G. Mycetoma. *Arch Dermatol.* 1969; 99; 215-225.
 61. Zaraggen WJ; Bregener H; Arnoux A; LaengH; Itin PH. Primary cutaneous nocardiosis in an immunocompetent patient, *European Journal of Dermatology.* 2001; 11: 569-571.