

Rev. Cub. Med. 7: 93-109, Enc.-Feb. 1964 SERVICIO DE
DERMATOLOGIA DEL HOSPITAL MILITAR
DOCENTE .CARLOS J. FINLAY.

Mycobacterium leprae H

Por los Dres.

MÓNICA ALVAREZ MESA, GUILLERMO FERNÁNDEZ
BAQUERO, PEDRO REGALADO ORTIZ, RAFAEL
GRILLO MARTÍNEZ, JULIAN MANZUR KATRIB, JORGE
PUERTAS GÓMEZ, ANGEL A. ROJAS RÍOS, JORGE
DELGADO CAMACHO, HUMBERTO MARTÍNEZ
GONZÁLEZ

GENERALIDADES Y CLASIFICACION

El bacilo de Hansen se encuentra comprendido dentro del género *Mycobacterium*, el cual comprende también varios microorganismos que difieren de la gran mayoría de las bacterias por contener en abundancia sustancias cerasas o grasas.

Este material se tiñe con dificultad, pero una vez teñido ofrece resistencia a la decoloración con ácidos lo que hace que se dificulte su clasificación como

Gram positivos o Gram negativos, por lo que se califican de ac. resistentes a estos gérmenes. Además de las muchas formas saprofitas, el grupo comprende organismos patógenos que causan enfermedades crónicas con lesión del tipo del granuloma infeccioso. Produciendo enfermedades que se caracterizan por la presencia de nodulos o tubérculos en diversos órganos. (Fig. 1 y 2).

Estas bacterias se desarrollan en forma de bacilos delgados, rectos o ligeramente curvos y a veces en filamentos con ramificación insólita, inmóviles. Son aerobios estrictos y derivan su energía de la oxidación de muchos compuestos sencillos de carbono. Sus actividades bioquímicas no son características y su velocidad de crecimiento es mucho más lenta que la de la mayoría de las bacterias.

Son más resistentes a los agentes químicos que otras bacterias debido a la naturaleza hidrofóbica de la superficie celular y a su crecimiento en grumos. En presencia de agentes humectantes como el Yween 80, los organismos se tornan completamente susceptibles a una variedad de sustancias químicas. A pesar de ello concentraciones de colorantes como el Verde de Malaquita, o de agentes antibacterianos como la Penicilina, pueden añadirse a los medios de'

14 Interna Vertical del Servicio de Dermatología. Hospital Militar "Carlos J. Finlay", Ciudad Libertad, Marianao, Habana, Cuba.

(***) profesor de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad de la Habana. Primer Teniente de la Sanidad Militar de las Fuerzas Armadas Revolucionarias, Jefe del Servicio de Dermatología del Hospital Militar "Carlos J. Finlay", Ciudad Libertad, Marianao, Habana, Cuba.

16 Instructor de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad de la Habana. Teniente de la Sanidad Militar de las Fuerzas Armadas Revolucionarias.

Hospital Militar "Carlos J. Finlay", Ciudad Libertad, Marianao, Habana, Cuba.

(*)***) Especialistas del Servicio de Dermatología. Hospital Militar "Carlos J. Finlay", Ciudad Libertad, Marianao, Habana, Cuba.

(***)***) Residente del Servicio. Teniente de la Sanidad Militar de las Fuerzas Armadas Revolucionarias. Hospital Militar "Carlos J. Finlay", Ciudad Libertad, Marianao, Habana, Cuba.

(***)*****) Internos Verticales del Servicio de Dermatología, Hospital Militar "Carlos J. Finlay", Ciudad Libertad, Marianao, Habana, Cuba.

CLASIFICACION

Orden: Actinomycetodes
Familia: Mycobactenaceas
Género: Mycobacterium
Corynebacterium

MYCOBACTERIUM

1. M. Leprae (Bacilo de Hansen)
 2. M. Tuberculosis (humano, bovis, aviario)
 3. M. Smegmatis
 4. M. Murium (Bacilo de Stefanski)
 5. M. Chabotier
 6. M. Fortuitum
 7. M. Ulcerans (Bacilo de Bairnsdal)
 8. M. Marianum
 9. M. Paratuberculosis (Bacilo de Johnne)
 - 10 M. Balnei (Bacilos de las Piscinas)
 - 11 M. Phlei
 - 12 M. Bubaloruin o Bovinum
 - 13 M. Kakenifu
 - 14 M. Kasongo
 - 15 M. Atipicas o anónimas
- a) grupo Runyon I
b) II
c) III

Fig. 1

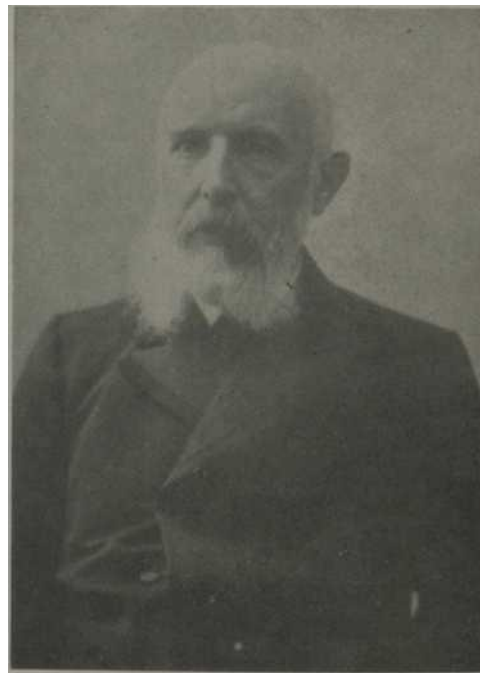
MICOBACTERIAS QUE PRODUCEN LESIONES CUTANEAS:

1. M. Leprae
2. M. Tuberculosis
3. M. Abcessus
4. M. Marinum (Balnei)
5. M. Kansaii (Grupo Runyon I)
6. Escotocromógena (Grupo Runyon II)
7. No Fotocromógena (Grupo Runyon II) (Organismo Battey)
8. Rápido crecimiento (Grupo Runyon III) (Incluyendo al M. Fortuitum)

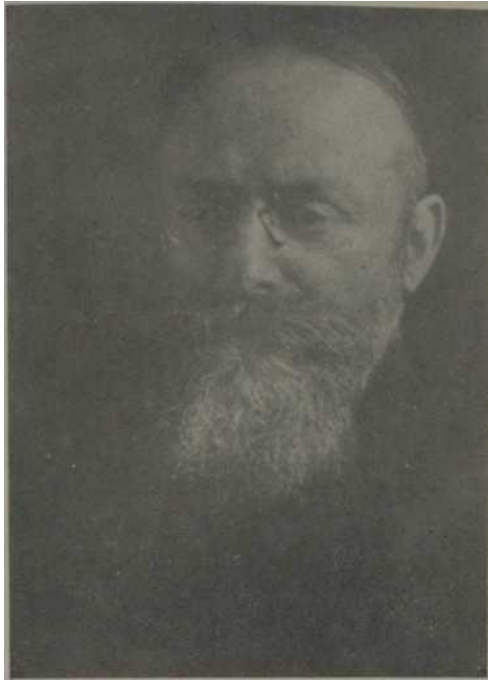
cultivo sin que se inhiba su crecimiento.¹⁻²

El bacilo de la lepra que es ac. alcohol resistente fue descubierto por *G.H. Hansen*, (Fig. 3) en Noruega en investigaciones realizadas entre 1871 y 1874. Fue más profundamente estudiado en 1879 por *Neisser*. (Fig. 4) y por acuerdo de la Conferencia Internacional de la Lepra celebrado en Manila en 1931 se le denominó *Mycobacterium Leprae*.³

Para el bacilo de Hansen no se han cumplido los postulados de *Koch*, ya que no ha podido ser cultivado *i'n vitro*, ni se han encontrado animales susceptibles para reproducir la enfermedad. Pero a pesar de ello los datos clínicos, epidemiológicos e inmunológicos que se han ido acumulando demostraron que es el agente causal de la enfermedad.⁴



* 1841 ARMAUER HANSEN f 1912 Inspector general de la Lepra (Noruega), 1875. Miembro asociado de la Academia de Medicina de París. 75, ejerciendo la medicina en Bergen (Noruega), descubrió el bacilo de la lepra que lleva su nombre.



* 1855 PROFESOR ALBERT NEISSER Profesor en la Facultad de Medicina de Breslau y Director de la Clínica dermatológica de la Universidad, Consejero Médico Privado del Imperio.
Descubrimiento del Gonococo, 1879.

Fig. 4.—Cortesía del Museo Histórico de la Medicina.

Diferentes opiniones existen de que si en su transmisión interviene un huésped intermediario como las moscas o las pulgas. *Morrow* considera que en la mayoría de los casos el microorganismo penetra en el cuerpo humano a través de la membrana mucosa del tractus respiratorio y del gastro intestinal. *Heisser* corroboró esa opinión, ya que en estudios realizados en 1200 casos, encontró que en el 75% de ellos el síntoma más precoz fue la úlcera de la membrana nasal.⁵

Durante su ciclo evolutivo el *M. leprae* produce gran cantidad de formas granulosas que se encuentran tanto en el interior del bacilo como fuera de ellos, bajo la forma de cuerpos libres. Los bacilos se encuentran en todas las regiones enfermas, fácilmente observables en las

lesiones cutáneas, mucosas (lepromas) en ganglios linfáticos, sangre y nervios. Así como también puede encontrarse dentro de las células endoteliales de los vasos sanguíneos o en las células mononucleares.⁴

Morfología: (Fig. 5)

Al microscopio corriente el bacilo de Hansen se presenta con la forma de un bastoncillo ligeramente incurvado de 1.5-6 micras de largo y 0.2-0.45 micras de ancho, en cuya parte central muestra



Fig. 5.—Esquema de las formas aisladas del *M. leprae* al Microscopio Electrónico: A) Forma típica con condensaciones polares y halo periférico; B) Forma larga; C) Forma corta sólida; D) Forma larga sólida; E) Forma sólida con un segmento permeable; F) Forma con condensación central; G) Forma en S itálica con condensaciones polares; H) Forma bipolar encorvada; I) Forma bipolar recta; J) Forma bipolar encorvada corta; K) Forma grande con tres gránulos; L) Forma grande multigranular; M) Forma granular corta; N) Forma larga sinuosa con granulaciones; O) Forma con condensaciones de tipo oblicuo.

(Reproducido de *Malfetti, Int. Jour Lepr*, 1952. Vol. 20, No. 1)

2-3 esférulas refringentes que se encuentran constantemente en las lesiones lepromatosas en grandes acumulaciones redondeadas parecidas a mazos de cigarros que se denominan globis (Fig. 6) cuyo tamaño varía entre 100-200 mieras, siendo semejantes al bacilo de Kocli con las diferencias siguientes (Figs. 7, 3^b, 3^c).

Existe gran parecido morfológico entre el *M. leprae* y el *M. lepraemurium* o bacilo de Stefansky productor de la lepra murina que no tiene que ver con la lepra humana.

Las observaciones al microscopio electrónico (Fig. 8) y con el microscopio de base demostraron nuevas estructuras, condensaciones y ramificaciones en forma de Y.⁴

Los estudios al microscopio electrónico realizados por *Me Fadzean, Valerttine y Bridge, Hanks, Imaeda, Gay-Prieto y Rubio Huertas*, permitieron observar que el *M. leprae* (Fig. 9) está rodeado de una membrana que penetra en

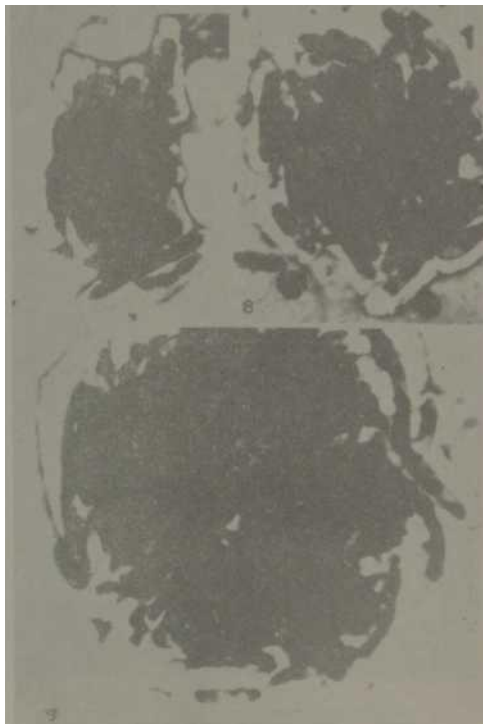


Fig. 6.—Globis vistos al microscopio electrónico. (Reproducido de Maljetti, *Int. Jour Lepr.*, 1952. Vol. 20, No. 1).

DIFERENCIAS ENTRE EL *M. LEPRAE* Y EL *M. TUBERCULOSO*

M. Leprae

1. Más corto y más rígido. Menos regular en su forma
2. Se agrupa en globis.
3. Es más infeccioso.
4. El tej. lepromatoso contiene un número mucho mayor de bacilos.
5. Es menos intensamente ácido alcohol resistente.
6. Cualquier lepromatoso abierto es muy bacilífero.
7. Ocasiona lesiones menos extensas.
8. El poder patógeno es menor.
9. Ocasiona gran cantidad de infectados por su gran infecciosidad.
10. La proporción de enfermos es menor por su menos patogenicidad.

M. Tuberculoso

1. Más largo y menos rígido. Más regular en su forma.
2. No se agrupa en globis.
3. Es menos infeccioso.
4. El tejido más tuberculizado tiene menos cantidad de bacilos.
5. Es más intensamente ácido alcohol resistente.
6. El más contaminante de los tuberculosos es menos bacilífero.
7. Ocasiona lesiones más extensas.
8. El poder patógeno es mayor.
9. Ocasiona menor cantidad de infectados.
10. La proporción de enfermos es mayor.

Fig. 7



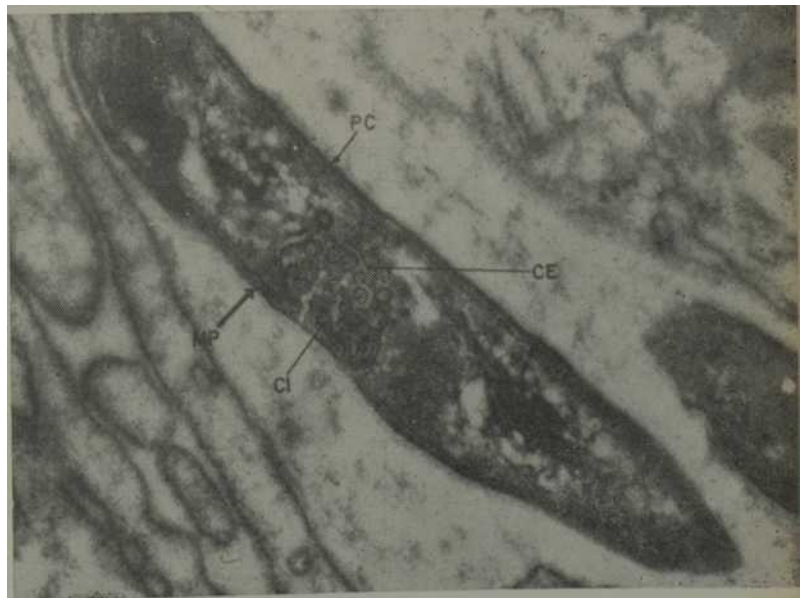
Fig. 8.—Diversas formas de *M. leprae* vistas al microscopio electrónico. (Reproducido de Malfetti, *Int. Jour Lepr.*, 1952, Vol. 20 No. 1).

forma de red en el interior del protoplasma bacilar. En este existen unos cuerpos redondos, muy osmiófilos o nucleólos. En el estudio del globis realizado por *Rubia Huertas* y *Gay-Prieto*, se pudo observar la presencia de numerosos cuerpos mielínicos y alteraciones de las crestas de los cromosomas. Así como también cuerpos polares en ambos extremos.^{3,6}

En los estudios recientes empleando este microscopio se determinó que la reacción intracelular al *M. leprae* es diferente en los enfermos lepromatosos y limítrofes. Siendo los bacilos degenerados los que predominan en las células de Virchow.⁷ Y los estudios en este mismo microscopio de un granuloma leproso realizados por *T. Imaeda* revelaron hechos adicionales en la histopatología y en la bacteriología, especialmente a la relación huésped-parásito.

En la forma lepromatosa la lesión se caracteriza por la aparición de células

Fig. 9.—Se observa un bacilo proveniente de un caso de lepra borderli- ne donde puede verse el sistema intracitoplasmático de la membrana plasmática (*M. P.*) compuesto de la capa externa (*C. E.*) que encierra la capa interna (*C. I.*) arborizada de dicha membrana. El sistema intracitoplasmático que se observa en las micobacteriáceas está formado por una invaginación de los dos componentes (capa externa e interna) de la membrana plasmática, que puede observarse como trazos paralelos con parte intermedia clara, inmediatamente por dentro de la pared celular (*D.C.*) (Microfotografía electrónica. Dres. *T. Imaeda* y *J. Convit*). (Reproducido de *W. F. Lever*, *Histopatología de la piel*, 1964, Editorial Científico-Médica).



leprosas conteniendo muchos bacilos agrupados, circundados por una sustancia electrónicamente transparente llamada "glea" y también de estructuras citoplasmáticas adicionales de células huésped semejantes a góticas opacas y estructuras espumosas.

En la forma tuberculoide las lesiones consisten en células epitelioides que están rodeadas por una membrana de células ondulatorias e incluyen abundantes organelas citoplasmáticas.

En la forma dimorfa, las células infiltradas muestran características citológicas de ambas células de lepra y epitelioides.

Las células típicas de la lepra (células de Virchow) a nivel del microscopio electrónico, no se encuentran en todas las lesiones.

COMPOSICION QUIMICA

La composición química del *M. leprae* es compleja. (Fig. 10).

Dentro de ella se encuentran los Ac. grasos con alto punto de fusión y uno de ellos denominado A. Leprosínico parece ser el responsable de las propiedades de ácidorresistencia.¹⁸ Las granulaciones estarían constituidas por ac. nucléico o nucleoproteínas. La glea estaría formada por lípidos homogéneos.³⁵

COMPOSICION QUIMICA DEL M. LEPRAE

1. Grasas neutras
2. Ácidos grasos granos leprosinico
3. Lecitinas
4. Fosfatidos
5. Ceras

Fig. 10

CARACTERISTICAS TINTOREALES

Las dos características tintoreales más importantes del bacilo son su afinidad por los colorantes básicos (fuchsina, violeta de metilo, violeta de genciana, etc), con no decoloración de la fuchsina por acción de las soluciones ácida o alcohólicas y su coloración positiva por la tinción del Gram.³⁵

El bacilo de Hanse a través de su estudio ha sido coloreado por diferentes métodos, entre ellos el de *Ziehl, Gram, W-eiger* y *Much*.^s

Este bacilo que es ram positivo, alcohol y Ac. resistente, en mayor grado que el bacilo de Koch, se diferencia de éste por el procedimiento de Baumgarten. (Fig. 11) Coloreándose el *M. le-*

PROCEDIMIENTO DE BAUMGARTEN

1. Sol. Alcohólica saturada de Fucsina
1 gota/cms³ de agua destilada (7 inin)
(coloración)
2. Alcohol nítrico al 1/3 (15 a 30 seg)
(decoloración)
3. Azul de metileno en solución acuosa
muy diluida (Tinción)

Fig. 11

prae de rojo, quedando incoloro el bacilo de Koch.³

La técnica de *Ziehl-Neelsen* (Fig. 12) desparafinando previamente los cortes en pases sucesivos en xilol y alcohol tiñiendo las láminas posteriormente han dado resultados más pobres. En cambio, las técnicas de *Faraco* o *Fite* han proporcionado magníficos resultados.

La principal diferencia entre los resultados comparando ambas técnicas de coloración estriba en la cantidad de bacilos que se demuestran en una y otra técnica. Notándose gran escasez de ba-

**COLORACION DE ZIEHL-NEELEN
PARA ACIDOS RESISTENTES**

- 1. Fijar el frotis al calor.**
- 2. Cubrir con Carbofucsín. Calentar suavemente durante 5 min. sobre una llama directa o durante 20 min. sobre un baño de agua.**
- 3. Lavar con agua.**
- 4. Decolorar en alcohol ácido hasta que sólo permanezca una coloración rosada muy tenue.**
- 5. Lavar con agua.**
- 6. Teñir durante 10-30 seg. con azul de metileno de Loeffler (coloración de contraste).**
- 7. Lavar con agua y dejar secar.**

Fig. 12

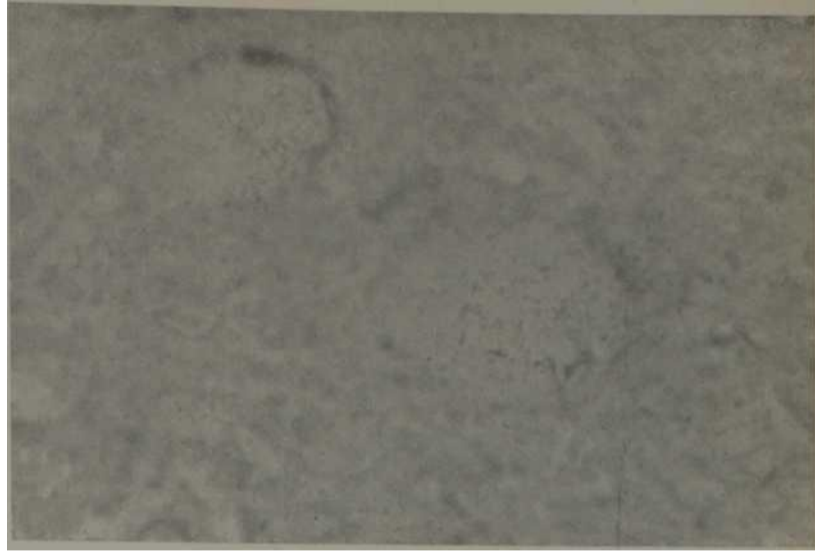


Fig. 13



Fig. 14

Fig. 15



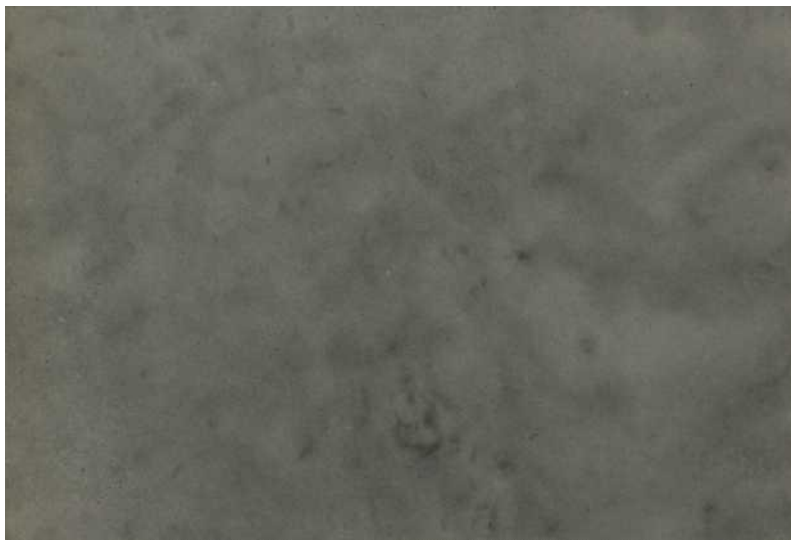


Fig. 16

Figs. 13, 14, 15 y 16.—Coloración del M. leprae con la Técnica de Ziehl-Neelsen. Bacilos extraídos de un paciente con lepra lepromatosa.

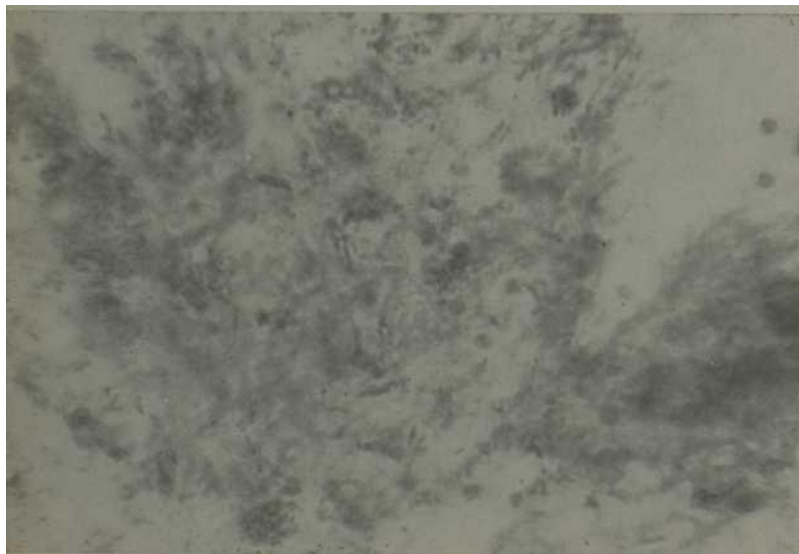


Fig. 18

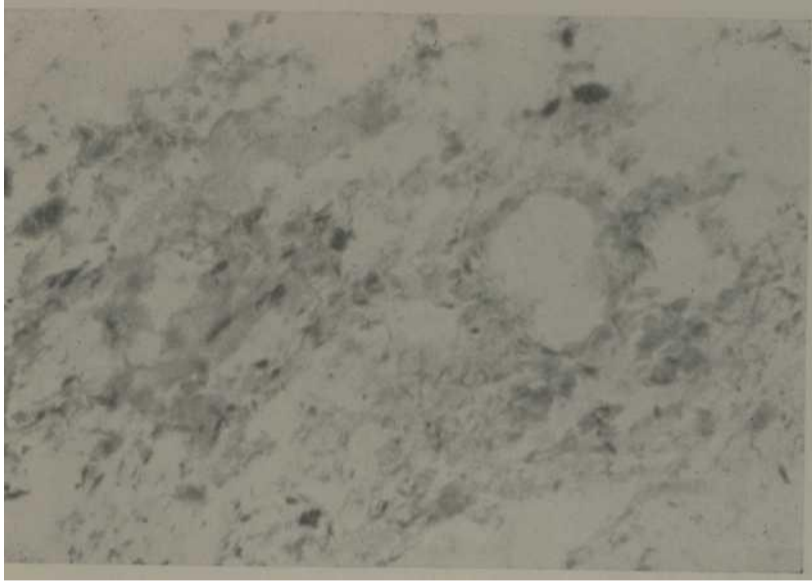
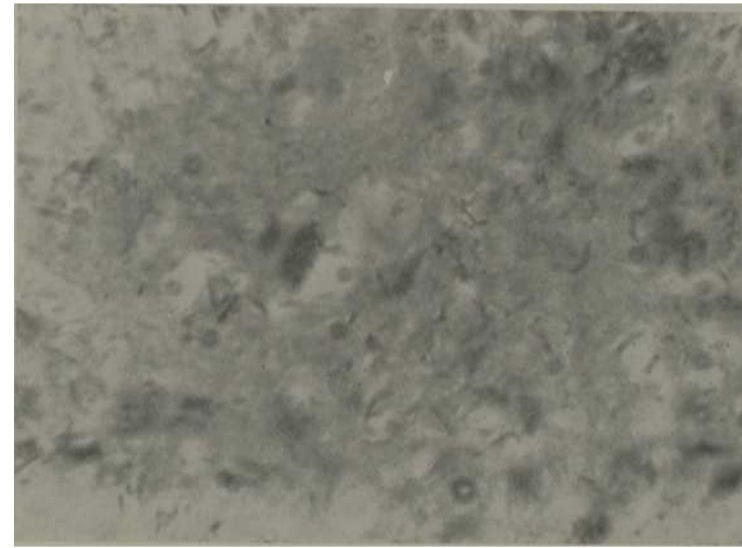


Fig. 19

Fig. 20



Figs. 17, 18, 19 y 20.—Coloración del *M. leprae* con la Técnica de Fite. Bacilos extraídos de paciente de las Figs. 13, 14, 15 y 16.

cilos con la técnica de Ziehl (Figs. 15, 16, 13 y 14), y por el contrario una enorme cantidad de bacilos con la técnica de *Fite* (Figs. 19, 20, 17 y 18).

La explicación que se da a este fenómeno, según los trabajos revisados son variables. Unos dicen que los bacilos pierden su propiedad de ac. resistentes debido al proceso que sufren los tejidos durante su deshidratación e inclusión en

parafina. Para otros la cosa estriba en el desprendimiento de los bacilos de los tejidos, a causa de violentas interacciones entre el xilol, alcohol y agua usados para desparafinar los cortes antes de las tinciones. Para evitar estas interacciones entre el xilol, alcohol y agua que causan el desprendimiento del bacilo se idearon técnicas de desparafinación lenta usando aceites y grasas.

METODO DE LA COLORACION DE LA VARIACION
DE LAS TECNICAS DE FITE Y FARACO

1. Desparafinar los cortes con la mezcla de Xilol-Aceite de Oliva 2 cambios de 5 min. c/u.
2. Escurrir y secar las láminas con papel filtro.
3. Lavado en agua corriente 5 minutos.
4. Teñir con la sol. de fenol-fucsina 20 min. a la temperatura ambiente.
5. Lavado en agua corriente.
6. Decolorar con sol. acuosa de Ac. Sulfúrico al 5%, de 2-5 min. procurando que las láminas tomen un color rosa pálido.
7. Lavado en agua corriente 10 min.
8. Contrastar con sol. de verde claro amarillento 30-60 seg. dando un color verde pálido.
9. Secar las láminas con papel de filtro ligeramente y dejarlas secar completamente durante una hora a la temperatura ambiente.
10. Montar en Bálsamo del Canadá o Goma Damar o cualquier medio sintético.

Faraco impregna los cortes con grasa de gallina antes de teñirlos y deja para último la desparafinación en xilol y alcohol. *Fite* desparafina antes de teñir con una mezcla de xilol y aceite de oliva, o de xilol y aceite de cacahuete o algún otro aceite como el de algodón y también el petrolato químico. Obteniéndose mejor contraste que con la técnica anterior, pero como usa para decolorar una solución alcohólica de ac. clorhídrico hace que se desprendan numerosos bacilos reteniéndose menor cantidad de estos que con la técnica anterior.

Según el Dr. Antonio Reyes, del Centro Anticanceroso de Yucatán, la técnica que mejores resultados ha proporcionado es una variante de las técnicas de *Fite* y de *Faraco*. (Figs. 21 y 12.) Supera a la de *Fite* porque se sustituyó el alcohol clorhídrico para decolorar y se utilizó una solución acuosa de ac. sulfúrico. Con lo que se logró retener la misma cantidad de bacilos que con la técnica de *Faraco*, con mejor diferenciación y con contraste más uniforme. Figs. 25, 24, 23 y 22). Sustituyendo también el Azul de Metileno por el Verde Claro Amarillento.

Con el método de coloración de la variante de las técnicas de *Fite* y de *Faraco* se pueden observar los bacilos ac. resistentes de color rojo brillante y las otras estructuras de color verde.^{0, 19>20}

Según *Tilden* si las células leprosas se colorean con tinciones para grasas, se demostrará que contienen lípidos, pero no presentan birrefringencia.^{21, 12a}

La coloración de Verde de Malaquita-Fucsina ideado por *Murohashi*, para diferenciar bacilos ac. alcohol resistentes vivos y muertos, fue aplicado al bacilo leproso, examinándose los efectos de la temperatura en el paso de la coloración. Al colorearse los bacilos leproso con Verde de Malaquita al 1% disuelta en

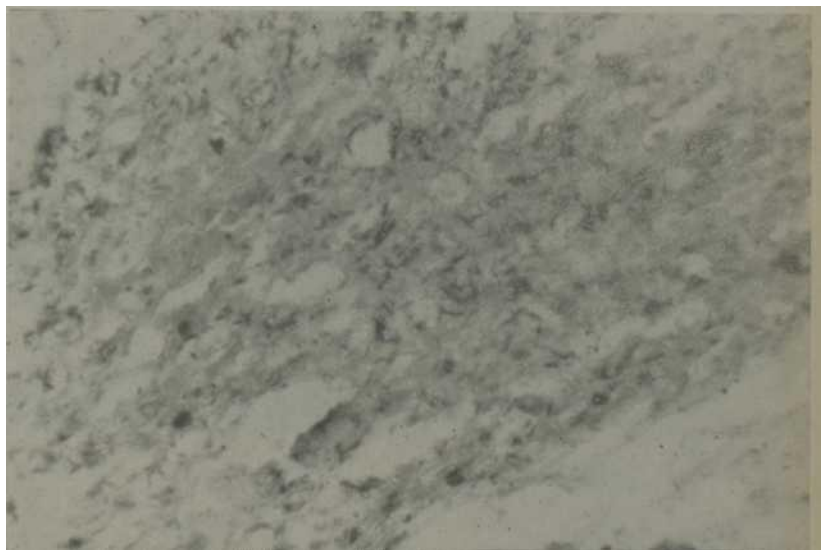
0. 2M de Acetato de buffer a un pH de 4.3, se demostró la presencia de sustancias basofílicas que fueron liberadas desde el bacilo leproso a 60°C en la presencia del colorante. Después de varios exámenes histoquímicos se determinó que esas sustancias basofílicas no eran D.N.A. sino lípidos presumiblemente derivados por la oxidación de ac. grasos insaturados.

La presunción de que el Verde de Malaquita combina específicamente con el D.N.A. altamente polimerizado a un pH de 4 no es válido para el bacilo lepro-

Fig. 22



Fig. 23



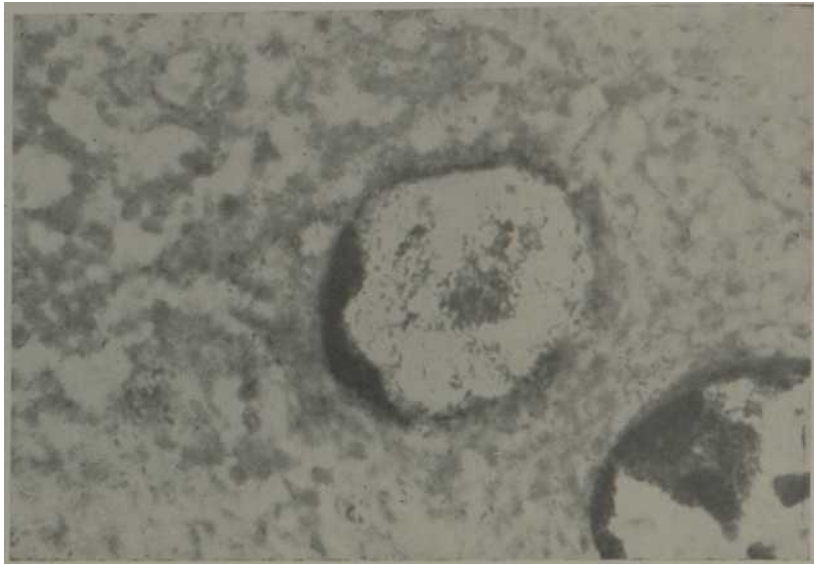


Fig. 25

Figs. 22, 23, 24 y 25.—Coloración del *M. leprae* con la Técnica de la variante de Fite y Faraco. Bacilos extraídos del mismo paciente de las Figuras 13, 14, 15 y 16).

so y por tanto la coloración de Verde de Malaquita-Fucsina no puede ser aplicada al *Mycobacterium leprae* para la diferenciación entre el bacilo vivo y el bacilo muerto.¹³

Utilizando el método de Ziehl en cortes de tejidos de las lesiones leprosas, o mejor aún la variante del método empleado por *fite y Faraco*, puede determinarse el llamado Índice Morfológico (*Reis*) que no es más que el tanto por ciento de organismo que se tiñen uniforme y brillantemente.

Modernamente este Índice, ha adquirido vigencia de nuevo, ya que equivale al número de bacilos presumiblemente viable, y además permite valorar la eficacia de la terapéutica: el descenso del índice morfológico durante el tratamiento de un enfermo, que no había recibido medicamento anteriormente, es característico de una buena respuesta a la droga. Si esto no sucede así, debe pensarse que o bien los organismos, que están

produciendo la infección son resistentes a la droga empleada, o que la concentración del medicamento no es la adecuada debido a una mala absorción, o a que el enfermo no está llevando correctamente su tratamiento.³⁴

EXPERIMENTACION

Varios autores reclaman el hecho de haber cultivado la *Mycobacteria ac.* resistente procedente de nodulos leprosos *in vitro*, aunque se encuentra en debate el rol de estas bacterias cultivadas como agentes causales de la lepra.¹³

Tenemos los estudios de *Kedrowski, Reenstierna y col.* que determinaron que los bacilos extraídos de lepromas tienen todos los caracteres microquímicos del bacilo de Hansen, faltándole sólo la prueba de inoculabilidad que no ha podido ser posible todavía en el hombre.⁸

El *M. leprae* no es cultivable en los medios de cultivo habituales para las

bacterias. *Dhamendra* y *Mukherju* demostraron que la exposición a la luz ultravioleta los modifica rápidamente.⁸

En 1939 en Siam, *Oberdoerffer*, consiguió inocular la enfermedad obteniendo manifestaciones generalizadas en monos (*Macacus Rhus*) alimentados con Colacasa, tubérculos ricos en Sapotoxina, substancia que es nociva a las suprarrenales. Este mismo individuo había comprobado que la Lepra Tuberculoide es muy frecuente en las poblaciones que consumen abundancia de estos tubérculos.⁸

El método más seguro para la inoculación experimental fue la obtenida por *Shepard*, en la zona plantar posterior de las patas de las ratas blancas, provocando constantemente una infección limitada a esa zona y transmisible en serie, lo cual ha sido aceptada como una infección de lepra humana por el VIII

Congreso de Leprología (celebrado en Río de Janeiro en 1963) en vista de que ha sido reproducida en varios laboratorios con *M. leprae* procedentes de enfermos de todas partes del mundo.^{3,7}

Bindfordk, obtuvo transmisión en el hámster inoculable en la cara interna de las orejas y testículos. Esto fue obtenido con mayor minuciosidad por *Conwit e Inuieda*, siendo también transmisible en serie; pero según las investigaciones de *Conwit* se observó en los pases finales de la inoculación una disminución gradual de los bacilos.^{3,15}

A partir de 1964, *Rodríguez Pérez, Alonso Huertas y Gay-Prieto* lograron producir lesiones granulomatosas en la alantoides de embriones de pollo con 12 días de incubación; produciéndose lesiones en serie hasta en 14 pases, pero no se encontraron bacilos ac. resistentes después del 7mo pase.³



Fig. 26.—Tatuaje del caso de los marinos de Michigan publicado por Porrit y Olsen.

(Reproducido de Porrit y Olsen, *Accidental transmission of Leprosy in humans*. Publicaas do centro de Estudos Leprológicos, Vol. 4: 15-16. No. 1, 1964.

Las experiencias de *Danielssen*, en Noruega, de *Mouritz* en Hawai, de *Profeta*, *Contreras* y *Gay-Prieto* de inoculaciones fortuitas o voluntarias de enfermos a sanos han resultado generalmente negativas. *Arning* en Hawai tuvo éxito, pero no se pudo excluir en forma segura una infección previa del sujeto. Por el contrario parecen evidentes los casos de *Marchoux*, en que hubo aparición de lepra en uno de sus asistentes pinchado accidentalmente con una aguja, ayudándole a operar un paciente enfermo de lepra; el caso de *Langen*, que fue pinchado con una jeringuilla hipodérmica, con la que antes se había inyectado un

enfermo de lepra; el caso de *Lagoudaky*, inyectado repetidas veces con sangre; el caso publicado por *Porrit* y *Olsen*, de los marinos de Michigan que se tatuaron en 1943 en Australia y en 1946 desarrollaron típicas lesiones tuberculoides en el sitio del tatuaje (Fig. 26). Según *JVade*, la vía intradérmica es el mejor medio para obtener inoculaciones positivas, bastando con pequeñas cantidades de bacilos.^{3,3A>14}

En 1956 *Ranadive*, *Bapat* y *Col.* en el Indian Cancer Research Center (I.C. R.C.) continuaron sus investigaciones a fin de cultivar el *M. leprae* *in vitro* y pudieron cultivar una *Mycobacteria* (Fig 27) ac. resistente aislada de nodulos leproso humanos en líquido de cultivo tisular modificado. Designaron este bacilo con el nombre de bacilo

I. C.R.C. Durante los últimos 6-7 años, *Ranadive* y su grupo han aislado y cultivado organismos morfológicamente idénticos procedentes de 6 casos de lepra lepromatosa y los bacilos han estado cultivándose constantemente por más de 5 años. Ellos determinaron que sea posible que los bacilos crezcan en medios libres de suero. Las investigaciones realizadas por *Ranadive* y *Col.* indicaron que la inmunización con el *M. leprae* y el bacilo I.C.R.C. producía en conejos y cobayos anticuerpos que solamente reaccionan con los componentes del suero sanguíneo humano. No pudiendo encontrar antígenos específicos para el bacilo: y como consecuencia los experimentos inmunológicos realizados con el *M. leprae* y el bacilo I.C.R.C. dieron idénticos resultados.¹³

Los estudios inmunológicos con el *M. leprae* han presentado dificultades por la difícil obtención de este *Mycobacterium* en cantidades suficientes para las investigaciones inmunológicas.

Con los experimentos realizados por *Convit*, *Lapinta*, *Imaeda* y col. se pudo transmitir la lepra al hámster por la

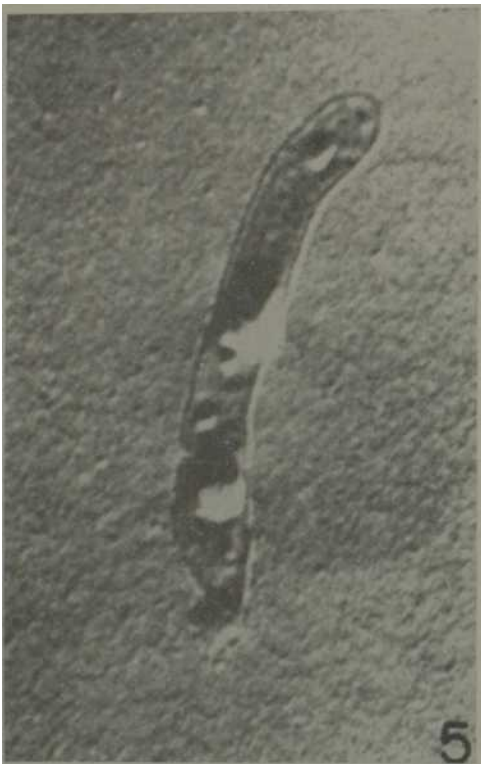


Fig. 27.—Microfotografía electrónica del bacilo I.C.R.C. cultivado de un nódulo de lepra humana.

(Reproducido de *Shanta, Rao, Nadkarmi* y *Khasoekar*. *Immunologic studies with Mycobacterium leprae and an acid-fast Mycobacterium cultivated from human leprosy nodules*, *Int Jour Lprs*, Vol. 32: 103-116 No. 2 April-June 1964).

inoculación de bacilos provenientes de lesiones de lepra borderline del hombre. Estos autores consideran que por medio de la mutación se produjo una variante del *M. leprae* y apoya esta teoría el hecho de las diferencias observadas entre la lesión humana y la del hámster, en los estudios realizados al microscopio electrónico, así como diferencias del bacilo en dichas lesiones y diferencias en las propiedades inmunológicas entre la cepa humana y la del hámster (Fig. 28 y 29).

Convit y col. piensan continuar sus investigaciones, a fin de poder estudiar la estructura molecular del factor inmunizante, que creen pueda ser un lípido, así como la inducción de la capacidad biológica para producirlo. Y considera la posibilidad de desarrollar una terapia inmunológica teniendo como base los mutantes del *M. leprae* para ser usados como mínimo en las etapas iniciales de la lepra lepromatosa.¹⁵

F.W. Twort afirma que ha obtenido resultados positivos añadiendo bacilos TB al medio, ya que parece altamente probable que ambos organismos requieran la misma sustancia química para ela-



Fig. 28.—En la célula huésped los bacilos (*My*) están rodeados por una membrana (*PhM*), que presumiblemente es la membrana fagocítica. No se observan cambios apreciables en el citoplasma de la célula huésped.

(Reproducido de Convit, Lapenta et al. Experimental inoculation of human leprosy in laboratory animals, *Int Jour Lrps* Vol. 32 No. 2, April-June, 1964).

Fig. 29.—Bacilos en una célula reticular inmadura en una lesión. La sustancia amorfa o fibrosa rodea los bacilos (*My*) dentro de la membrana fagocítica (*PhM*). Nótese una densa microgota (*D*) adherida al bacilo. (Reproducido de Convit, Lapenta et al. Experimental inoculation of human leprosy in Uiboratory-animals. *Int Jour Lrpr* Vol. 32 No. 2, April-June, 1964).



borar su citoplasma y el bacilo TB es el único que puede hacerlo en un medio normal. Los bacilos de la lepra inoculados a este medio crecen al principio muy despacio, pero posteriormente el crecimiento se acelera pudiéndose obtener marcada evidencia microscópica del mismo, aproximadamente a las 4 semanas. A simple vista el crecimiento solamente se hace más visible después de las 6 semanas.

Como resultados de estos trabajos, *Twotrt*, considera posible en un futuro no muy lejano la preparación de una vacuna del bacilo de la lepra para el tratamiento de aquellos que padezcan la enfermedad.¹⁶

RESUMEN

Se hace una revisión de la literatura sobre el *M. leprae* insistiendo en su morfología, características tintoriales, haciendo una comparación entre las diferentes técnicas de tinción y sus resultados, citando también varios trabajos de experimentación sobre el cultivo, inmunología e importancia del índice morfológico, así como el lugar que este organismo ocupa dentro del mundo de las *Mycobacterias*.

SUMMARY

A revisión de the literature on *M. leprae* lengthly dwelling on its morphology and staining features, and comparing the different staining technics has been made. Also several experimental works on culture and immunology have been cited and the importance of the Morphological Index as well as the place this microorganism holds in the in-verse of mycobacteria have been stated.

RESUME

On y fait une révision de la littérature au sujet du *M. leprae* en appuyant sur sa morphology et ses caracteristiques tinctoriales et on y compare les différentes techniques de coloration et leurs résultats. On y cite aussi différents travaux d'expérimentation sur la culture et l'immunologie et on manifeste l'importance de l'indice morphologique ainsi que la place que ledit microorganisme tient dans le monde des mycobactéries.

BIBLIOGRAFIA

1. —A. J. Salle: *Bacteriología* Zed, edición de la 5ta. edición americana, p. 783-784, 1966.
- 1-A-R. E. Cott: *Cutaneous Diseases Caused by Atypical Mycobacteria*. Arch Derm. Vol. 95: 259-267 No. 3, March, 1967.
2. —E. Jawetz-J. Melnick: *Manual de Microbiología Médica* p. 167-173.
3. —J. Gav-Prieto. *Dermatología*, 6ta. edición, p. 323-326, 1966.
- 3-A-J. Gay-Prieto, M. Rubio Huertas y Alonso Puerlats: *Experiments in the transmission of human leprosy to the Choric-Allantoic Membran of the Chiken*, Acta Leprológica, p. 5-17 Nouvelle Serie No. 23, Oct-Dec., 1965.
- 3-b-A. R. Amorreti: *Nuevos conceptos en leprología*. Rev. Mex. Derm. No 34, p. 235-241. Dic., 1964.
- 3-C-T. N. Hurrison: *Medicina Interna*, 3ra. edición de la 4a. edición inglesa. Vol I. Ediciones Revolucionarias, 1966.
4. —C. C. Andrews, Kardel-Vegas: *Enfermedades de la Piel*. Tomo 1, pg. 491-492.
5. —O. S. Ormsby, and Montgomery: *Diseases of the Skin*, p. 1096.
6. —Castañedo, Díaz de la Rocha, Mederos: *Dermatología*, p. 98, 1965.
7. —Conclusiones del VIII Congreso Internacional de Leprología en la Ciudad de Río de Janeiro, Brasil. Minsap. Cuba. 1963.
8. —Darier-Civatte: *Compendio de Dermatología*, 6ta. edición p. 731-732, 1963.
9. —A. Reyes P.: *Modificaciones de la Técnica de Fite-Faraco para la Coloración de Bacilos Ac. Alcohol Resistentes en Cortes de Tejidos*. Rev. Mex. Derm. Vol. 7: 138-142 No. 2. Junio, 1963.
10. —Hanks, J. H.: *Retención and Differentiation of Mycobacteria in Tissus Sections*. Am Rev. Tub and Pulmonary Disc. 74: 4, 1956.

11. —Lillie, R. D.: Histopathologic Technics and Practical Histochemistry New York, The Blankiston Co. p. 381, 1954.
12. —Tilden, I. L.: Lepromatous Leprosy: a reticulo-endothelial disease, Am. J. Clin. Path. 15: 165, 1945 (Descripción Histológica).
12. A-ÍF. F. Lever: Histología de la Piel, 3ra. edición, p. 299, 1964.
13. —Shanta, S. Rao, Nadkarmi, J. S. Khasakar: Immunologic studies with Mycobacterium Leprae and acid-fast Mycobacterium cultivated from human leprosy nodulos. Int. Jour Leprosy. Vol. 32: 103-116 No. 2, April-June, 1964.
13. A-Kanstsuna, F.: A study of Malachito Cree staining of Leprosy. Int. Jour Leprosy. Vol. 32: 185-194 No. 2, April-Jun. 1964.
14. —Mukherje A. Sircar, A. K.: Experimental Human Leprosy in the Foot pad mice, Lep. Rev. Vol. XXXVII, No. 1, January, 1966.
15. —Convit, Lapenta, P. Imaeda, T and Col.: Experimental Inoculation of Human Leprosy in Laboratory Animáis Int Jour Leprosy, 32: 136-149, No. 2, April-Jun., 1964.
16. —Tuort, F. W.: A Method for Isolating and Crowing the Lepra Bacillus of Man. Preliminary Note. Int Jour Leprosy, 34: 4244, No. 1, January, March, 1966.
17. —Hadler, W. A., Ferreira, A. L.: An Attempt to Stimulate and Depress the Functional Activity of the Inflammatory Cells from Lesions experimentally induce by M. Leprae and M. Lepramarium, Lerosey Rev. Vol. XXXVI: 163-170, No 5, Oct., 1965.
18. —Sr. Marie de la Trinité: Characteristics of Mycobacterium Strain (Chabotier) Isolated from a leprosy patient. Leprosy Revw. Vol. XXXVI: 207-209. No. 4, Oct., 1965.
19. —Arnold, H. L.: Honolulu Hawaii. Differentiation of Lepromatous from neural Leprosy: The basis a Method and reported five cases. Vol. 52: 354-364, No. 5, Nov-Dec., 1945.
20. —V.Pardo-Castelló. F. R. Tiant, R. Piñeiro: Habana, Cuba: Nerve lesions/Of Leprosy Arch Derm and Syph, Vol. 55: 783-192, No. 6, June, 1947.
21. —Alien, A. C.: Survey of pathologic studies of cutaneous diseases during world War II, Arch Derm and Syph, 57: 19, 1948.
22. —V.Pardo Castelló: Dermatología y Sifilografía, 4ta. edición, p. 506, 1953.
23. —Cecil, H. L. y Loeb, R. F.: Tratado de Medicina Interna. Tomo I. p. 280-281, 1961.
24. —Jour Infeet Dis. Vol. XVII: 376, 1915.
25. —Elimination of Hansen's bacilli through the epidermis of lepers, Rev. Argent. Derm. Vol. XXVII: 423, 1943.
26. —Harrell, G. T. und Horns, S. F.: The Reaction to Lepromin of Patients with Sarcoid of Tuberculosis. Compared with that of patient in general Hosp. with a discussion of Mechaning of the reaction, Jour Trop. Med. Vol. XXV: 523, 1945.
27. —Pardo-Castelló and Tiant: Jour Amer. Med. Assc. 1943. Vol. CXXI 1264 (For details of Lepromin Test) Fernández J. M. M. Arch Derm. and Syph. Vol. XIX: 554, 1964.
28. —Pillsbury: Dermatología, p. 531-535, Saunders, 1956.
29. —Simons: Handbook of Tropical Dermatology. Vol. L: p. 471479, 1952.
30. —Pedro Forreras Valenti: Medicina Interna. Tomo II, p. 1666, 6ta. edición. Ediciones Revolucionarias, 1966.
31. —Coreos, H. G.: Mycobacterium leprae: A House divided. Leprosy Revw. Vol: XXXV, No. 3. April, 1964.
32. —Inter Jour of Leprosy Han-March. Vol. 34: No. 1, 1966.
33. —Malocara: Resumen de las Sesiones celebradas en la Ass. Mex. de acción contra la Lepra durante 1964. Rev. Mex. Derm. Vol. IX: 105, No. 1. Marzo, 1965.
34. —Levy, L., Fosal, P. and Murray, L. P.: Morphology of Mycobacterium Leprae in Tissue Sections, Arch. Derm. Vol. 95 : 451- 455. No. 5. May, 1967.
35. —J. Gómez Orbaneja y A. García Pérez: Trat. Lepra. Madrid, 1953. p. 13-18, Editorial Paz Montalvo.
36. —Malfetti: Int. Jour. Lepr. Vol. 20: No. 1, 1952.
37. —Porrity Olsen (Transcription). Accidental Transmition of Leprosy in Humans Publicaor do Centro de Estudos Lepro- logicos. Vol. 4: 15-16, No. 1, 1964.

