

UNIVERSIDAD NACIONAL
REVISTA DE LA FACULTAD DE MEDICINA

Director, Profesor JORGE E. CAVELIER

VOL. I

Bogotá, Mayo de 1933.

N.º 12

**ALGUNAS CONSIDERACIONES SOBRE LA
BIOLOGIA DEL BACILO DE HANSEN**

*Comunicación hecha a la Academia de Medicina el día
30 de mayo de 1933.*

Señores Académicos:

Hace ya mucho tiempo que me ocupo en un estudio sobre la bacteriología de la lepra y creo haber obtenido resultados tan interesantes y alentadores, que me han hecho concebir la esperanza de señalar al menos una vía nueva en el estudio del bacilo de Hansen y acaso llegar a orientar la terapéutica de la lepra en un nuevo camino.

No me parece oportuno todavía sacar conclusiones de mis investigaciones, pues tratándose de asunto de tanta trascendencia, todo lo que se haga debe someterse a la más rigurosa comprobación so pena de exponerse a hacer afirmaciones intrépidas. Estos estudios tienen que ser lentos máxime si se tiene en cuenta las condiciones en que los llevo a cabo. No teniendo un servicio de leprología en el Hospital, nos falta a veces material y sobre todo falta lugar donde poder tener enfermos en buenas condiciones. Si algo se ha logrado, lo debo a la gentileza de mi amigo el doctor José I. Uribe, quien me ha facilitado en su servicio todo lo necesario y me ha dado útiles indicaciones. Aprovecho la ocasión para hacer público mi agradecimiento a quien a sus cualidades de hombre de ciencia une las de un sincero amigo y cumplido caballero.

En las manipulaciones de Laboratorio he sido eficazmente ayudado por mi Jefe de trabajos doctor Alfonso Rueda, distinguido médico que hace honor a la actual generación, y fuera injusto si no dejara constancia de la constante colaboración de quien es mi ayudante, mi preparador, mi amigo y mi compañero de todas las horas, el señor Federico Lleras Restrepo.

Ante todo debo declarar que no pretendo haber hecho descubrimientos trascendentales, ni haber revolucionado la Medicina, ni menos haber resuelto el problema de la lepra, ni haber curado ningún le-

proso. Únicamente, a manera de una comunicación preliminar, vengo a dar cuenta a la Academia del resultado de mis investigaciones. En cuanto a la originalidad no respondo: he consultado muchas revistas, pero entre nosotros la bibliografía siempre es deficiente, de manera que muchas veces creemos haber hecho un descubrimiento y resulta que es asunto que hace mucho han resuelto en otra parte. Pero de lo que sí respondo, y quiero que de ello quede constancia, es que entre nosotros nadie ha seguido el camino seguido por mí en el estudio del bacilo de Hansen, y nadie ha obtenido resultados como los obtenidos por mí.

Cuando se emprende el estudio bacteriológico de cualquier entidad, es necesario ante todo conocer a fondo la verdadera morfología y constitución del germen que la produce, pues no de otra manera puede seguirse su evolución en los cultivos y apreciar los cambios de morfología que sufre toda bacteria en los medios artificiales.

Para conocer la verdadera morfología del bacilo leproso, me he valido de una técnica que no he encontrado descrita en ninguna parte y que considero original mía; esta es el examen al ultra-microscopio. Si se hace una emulsión en un líquido isotónico, solución salina normal, de una partícula de cultivo o de un jugo de leproma rico en bacilos y se examina al ultra-microscopio, se asiste a un hermoso espectáculo. Sobre el fondo oscuro de la preparación se destacan los globos leproso o los bacilos aislados, con una refringencia extraordinaria y puede uno darse cuenta fácilmente de que cada bacilo está formado de varios gránulos, 3, 4 ó 5, a manera de pequeñísimas cadenas de estreptococo. Cada bacilo, o mejor, cada serie de granos, está contenido dentro de una sustancia cética que forma el protoplasma y que se destaca muy bien, pues aparece con una menor refringencia que el cuerpo bacilar. Observando pacientemente la preparación, he logrado comprobar que estos bacilos están dotados de cierta movilidad y que no se trata de movimientos brownianos sino de movimientos verdaderos debidos a retracciones del protoplasma.

Esta prueba repetida muchas veces me ha llevado a la conclusión de que todo bacilo de Hansen es granuloso. Si con una pipeta capilar introducimos en la preparación una sustancia solvente de las grasas y ceras del protoplasma bacilar, tal como la acetona, y seguimos observando pacientemente la preparación, vemos que a medida que va penetrando el solvente se va desintegrando el bacilo, se funden las materias que constituyen el protoplasma del bacilo y llega un momento en que veremos invadido todo el campo por una verdadera laguna de sustancias grasas disueltas, que el alumbrado de fondo oscuro hace aparecer, dotada de poca refringencia y en medio flotan las granulaciones libres, animadas de movimientos brownianos. Al contemplar este fenómeno, lo primero que viene a la mente es buscar el medio de provocar in vivo esta fusión de las materias grasas del bacilo y acaso



una vez desintegrado; estas granulaciones se hagan más vulnerables a los agentes terapéuticos.

La forma granular del *microbacterium leprae*, puede también apreciarse con toda nitidez en los frotis teñidos ya sea de cultivo o de productos leprosos; el secreto para hacer aparentes las granulaciones reside en la manera como se conduzcan la decoloración: si practicando la coloración por el método de Ziehl se decolora con solución nítrica al 1/3 o al 1/6, el bacilo presenta en la generalidad de los casos un aspecto homogéneo, pero si la decoloración se hace con alcohol clorhídrico al 10% todos, absolutamente todos los bacilos, aparecerán granulados; de igual manera se observará si se tiñe por el método de Fontés, con el cual se obtienen bellísimas preparaciones. Por consiguiente no deben considerarse los bacilos granulados, como bacilos degenerados; muy al contrario, yo creo que estas granulaciones una vez salidas de su cubierta cereo-grasa representan, al igual que las granulaciones del bacilo de Koch, formas de resistencia que aseguran la conservación de la especie.

Paso a relatar mis ensayos de cultivo del bacilo de Hansen: mis primeras tentativas datan de muchos años. En 1916 mi distinguido amigo el doctor Miguel Jiménez López, puso en mis manos una monografía de los Profesores Duval, Fraser, Gard y Hopkins del Laboratorio de la Universidad de Nueva Orleans, monografía interesante en que se describían todos los ensayos hechos hasta entonces para cultivar el bacilo leproso y en especial se resumían allí los interesantes estudios de Kedroski. Desde entonces me interesó este estudio y en varias ocasiones intenté obtener cultivos siguiendo la técnica aconsejada por esos autores. Ayudado por mi amigo el doctor Julio Aparicio, extrajimos algunos lepromas y cortados en tajadas muy delgadas los sembramos en una gelosa preparada con caldo de placenta humana y glicerina humedecida con una solución de tripsina. Después de 10 días de verificada la siembra, observé que una vez disgregados los fragmentos del leproma se desarrollaban unas colonias húmedas de color amarillo de oro. Estas colonias estaban formadas por bacilos ácidos resistentes formológicamente iguales al bacilo de Hansen, pero nunca en estado puro, pues a su lado se veían innumerables gérmenes saprofitos. De este bacilo logré obtener hasta tres repiques, nunca en cultivo puro, y al cuarto aparecía el bacilo más delgado y ya no ácido resistente. El no ser ácido resistente me hizo creer que no se trataba del bacilo de Hansen, pues entonces creía en el dogma inmutable de la ácido resistencia.

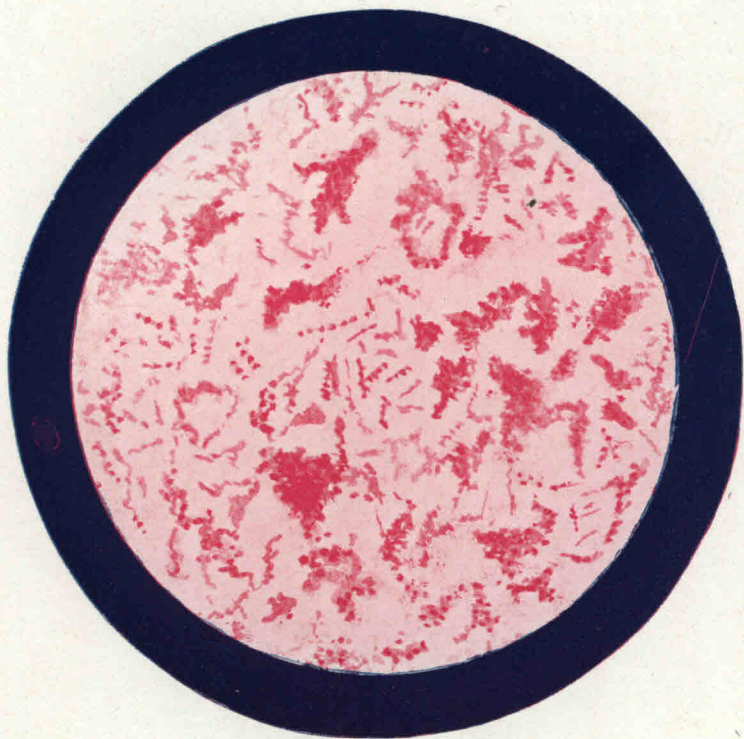
Hoy estoy convencido que el bacilo de Hansen, así como el bacilo tuberculoso en ciertas faces de su desarrollo en los medios artificiales de cultivo, pierde la propiedad de ser ácido resistente.

En varias ocasiones que intenté obtener cultivos en esta forma llegué al mismo fracaso.

Posteriormente, estudiando los cultivos del bacilo de Koch, por el método de Loewestein y habiendo obtenido cultivos de bacilo de Koch, por hemocultivo, siguiendo rigurosamente la técnica de este autor y usando como medio de cultivo el medio de Petragrani, pensé que acaso fuera posible obtener en la lepra iguales resultados. Al efecto, he aplicado al cultivo del bacilo de Hansen los métodos usados hoy con tan brillantes resultados en el cultivo del bacilo de Koch. He obtenido resultados halagadores. En todos los casos de lepra tuberculosa he logrado aislar de la sangre, esto es por hemocultivo, un bacilo que presenta todos los caracteres morfológicos y reacciones colorantes del bacilo de Hansen.

Voy a describir, con algún detalle, la técnica y resultados de mi primer cultivo, advirtiéndole que todos los otros ensayos intentados me han dado idéntico resultado. Con jeringa esterilizada y con las más rigurosas precauciones de asepsia, tomé sangre de una de las venas del pliegue del codo, a un leproso de forma tuberculosa y en el cual habíamos encontrado abundantes bacilos en los frotis de linfa. La sangre se mezcló con 3 c. c. de solución de citrato de soda al 3%, preparada en solución salina normal, luego se centrifugó y decantó, al coágulo se agregó una solución de ácido acético al 3% para producir la hemólisis, una vez conseguido esto se centrifugó nuevamente, se lavó una vez el coágulo con solución salina, nueva centrifugación y decantación, al coágulo agregué 10 c. c. de solución de S O4H2 al 10%, se mezcló bien y se dejó obrar el ácido por espacio de 30 minutos; nueva decantación y nuevo lavado con solución salina, este último no es indispensable. El coágulo convertido después de estas manipulaciones en una especie de mastic, se sembró abundantemente en varios tubos de medio de Petragrani. Estufa a 37°. Diez días después me llama la atención mi Jefe de Trabajos para que examinara dos de los tubos sembrados que presentaban unas grandes colonias amarillas, húmedas y cremosas.

Por el primer momento pensamos que se trataba de colonias de estafilococo dorado, pero hicimos varias preparaciones que teñimos por el método de Zielh decolorando unas con solución nítrica y otras con alcohol clorhídrico. Cuál sería nuestra sorpresa, señores Académicos, cuando observamos que se trataba de un cultivo puro, de un bacilo ácido resistente, granuloso agrupado en globis, y que tenía en una palabra todos los caracteres morfológicos del bacilo de Hansen. Inmediatamente practicamos resiembras en el mismo medio y hemos venido observando que a medida que se multiplican los pases el cultivo aparece con mayor rapidez, abundante y siempre con iguales caracteres. Hoy tenemos ya 15 repiques y seguramente obtendremos muchos más. Hemos podido observar algunas modalidades interesantes repicando en otros medios.



CULTIVO DEL BACILO DE HANSEN

PRIMERA SIEMBRA

COLORACION AL ZIEHL

DECOLORACION CON ALCOHOL CLORHIDRICO

Sembrando en caldo glicerinado se forma en los primeros días un velo delgado, semejante al velo de los cultivos de bacilo tuberculoso, pero menos rugoso y más delgado y a medida que pasan los días aparece el pigmento amarillo que se va depositando en el fondo del balón.

Al examen microscópico de este depósito cromógeno encontramos el mismo bacilo con iguales caracteres. En algunos velos encontramos una forma ramificada no ácido resistente y que casi parecía un hongo, Creímos entonces que se hubieran infectado nuestros caldos, pero mi distinguido amigo y discípulo el doctor Almanzar, me hizo presente que podría tratarse de una forma de involución del bacilo y que esta forma de hongo podría ser una prueba de que el bacilo de Hansen representa el paso entre la bacteria y el hongo. Esos velos formados de formas ramificadas no ácido resistentes, los sembramos en el primitivo medio de Petragrani y en medio de Dorcet y al cabo de unos 6 días aparecieron en estos medios colonias amarillas, cremosas y húmedas, formadas de nuestro primitivo bacilo ácido-alcohol resistente, y con su clásica agrupación. La agrupación en globis o grupos compactos es un carácter muy constante del bacilo leproso. Emulsiones de nuestros cultivos las hemos agitado en un frasco con perlas de vidrio durante media hora y hechas luego las preparaciones hemos comprobado que la agitación no disgrega las masas bacilares. El cultivo puede ser a veces tardío; en una de nuestras siembras que creíamos ya de resultado negativo, aparecieron colonias al cabo de tres meses.

En todos los casos de lepra tuberculosa hemos aislado de la sangre el mismo bacilo. Yo me atrevo a considerar que los casos de lepra tuberculosa son formas de lepra verdaderamente septicémicas.

Hemos hecho igualmente hemocultivos en casos de lepra máculo-anestésica, pero en esta forma hasta hoy al menos no hemos obtenido ningún resultado. Pero es de pensar si esta última forma, lo mismo que la forma nerviosa, sean producidas por alguna forma filtrable del virus leproso. Es lógico pensar que así como en la tuberculosis hay formas francas, en las cuales encontramos abundantes bacilos de Koch y formas atípicas o atenuadas producidas por el ultravirus, también en la lepra podemos considerar las formas tuberculosas como formas graves, clásicas y las formas máculo-anestésicas y nerviosas como formas atípicas o atenuadas de la lepra producidas por un ultravirus.

Sabido es que la lepra de las ratas es muy semejante a la lepra humana, tanto clínica como bacteriológicamente hablando, y que el Profesor Marchoux ha demostrado que en la lepra murina existe un ultra-virus; por analogía podemos también suponer en la lepra humana la existencia de un virus filtrable.

Como alguien podrá pensar que el bacilo aislado por nosotros de la sangre de los leprosos fuera un bacilo tuberculoso, hemos descartado este posible error, primero porque a los enfermos que hemos hecho hemocultivos han sido examinados por hábiles clínicos y no podrá pen-

sarse que en todos ellos pudiera existir una infección tuberculosa concomitante; segundo, porque los caracteres macroscópicos de los cultivos son totalmente diferentes; aquí tenéis cultivo de bacilo tuberculoso en medio de Petragrani y cultivos de leprosos, y podéis observar los caracteres totalmente diferentes. Además, la morfología de los dos bacilos es distinta para observadores medianamente experimentados. Por último, y esta prueba es concluyente, el resultado de las inoculaciones. En efecto, hemos inoculado emulsiones concentradas de nuestro bacilo a numerosos curies por vía subcutánea, intra-peritoneal, intraganglionar e intra-venosa. Después de 6 meses ninguno de nuestros animales ha presentado la menor lesión, y conservamos aún algunos de estos animales en perfecto estado de salud. Si nuestro bacilo fuera un bacilo tuberculoso en las dosis en que lo hemos inyectado, habría producido una infección tuberculosa de forma granúlica.

Pero, ¿qué bacilo es el encontrado por mí?

Para mí tengo, señores Académicos, y es una íntima y honrada convicción, que he cultivado el verdadero bacilo de la lepra, pero la prueba definitiva e irrefutable aún no puedo darla. No conociendo, como no conocemos, animal receptivo del virus leproso, el bacilo aislado no puede llenar el postulado de Koch.

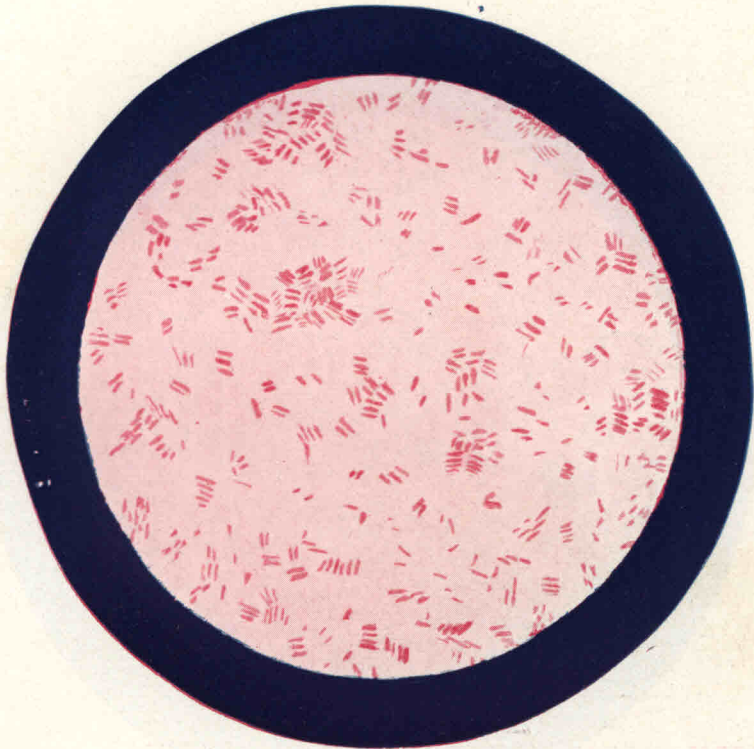
Con los cultivos he preparado un antígeno metílico, siguiendo la técnica de Boquet y Negre para su antígeno tuberculoso y con él busco en la reacción de desviación del complemento una prueba de la especificidad de mi bacilo. Hasta hoy no tengo suficiente cantidad de reacciones que me permitan sacar conclusión sobre su valor. En leprosos tuberculosos he obtenido reacciones positivas, en leprosos máculo-anestésicos ha sido negativa.

En sífilíticos hemos tenido reacciones positivas pero es bien sabido que la reacción de Wassermann suele también ser positiva en los leprosos.

Para sacar conclusiones, necesitaríamos hacer por lo menos mil reacciones en leprosos y otras tantas en individuos sanos o en sífilíticos y tuberculosos.

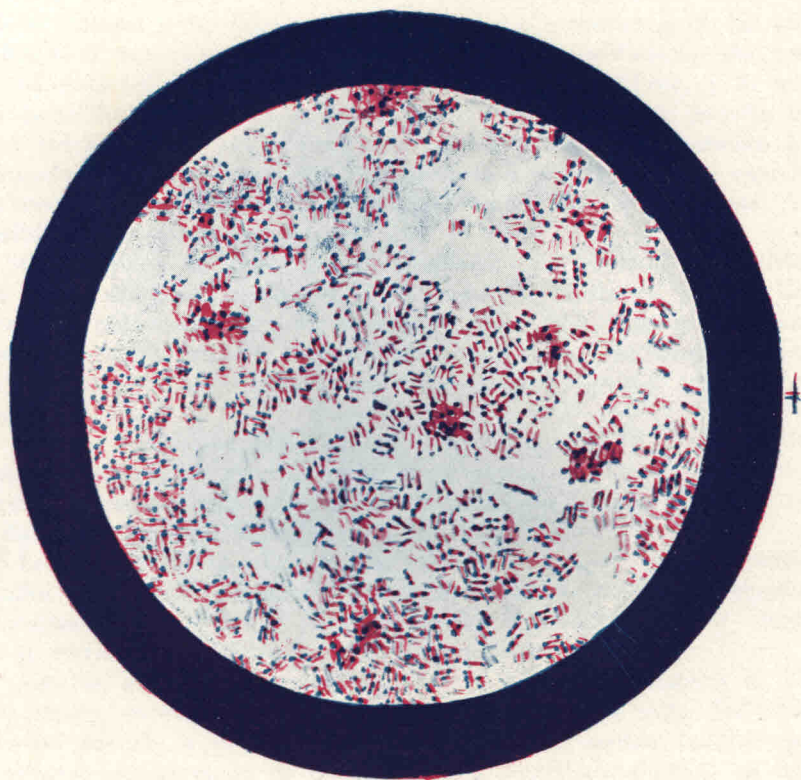
Con el fin de dar a estos estudios un fin práctico y entusiasmado con los resultados obtenidos en el tratamiento de algunas formas de tuberculosis con el famoso antígeno de Boquet y Negre y siguiendo su técnica, preparé con mis cultivos un antígeno metílico y un antivirio por el método de Besredka. Una vez más doy las gracias al doctor Uribe, quien ha tenido la gentileza de respaldar con su prestigiosa autoridad estos ensayos de tratamiento.

La primera enferma escogida por el doctor Uribe es una mujer de unos 25 años, robusta, que presenta una lepra tuberculosa clásica con abundantes bacilos en su linfa. El rostro infiltrado le da un aspecto leonino y tiene un tinte de color de mina de lápiz. Presenta numerosos lepromas en los brazos y miembros inferiores y un lepro-



**CULTIVO DEL BACILO DE HANSEN
PRIMER REPIQUE**

**COLORACION AL ZIEHL
DECOLORACION CON ACIDO NITRICO**



**CULTIVO DEL BACILO DE HANSEN
CUARTO REPIQUE**

COLORACION DE FONTES

ma voluminoso en el pecho. Algunas anestias; cubitales gruesos, etc. En noviembre del año pasado, principiamos el tratamiento así: dos veces por semana inyectamos el antígeno, que dicho sea de paso, no produjo reacción fuerte, aún a dosis elevadas y en inyección intravenosa. La temperatura nunca pasó el día de la inyección de 38°. Al mismo tiempo inyectábamos el anti-virus en inyección intradérmica al rededor de los lepromas.

Dos meses después de iniciado el tratamiento, el doctor Uribe, su Jefe de Clínica y los internos del servicio se sorprendieron de las modificaciones realizadas. En efecto, desapareció la infiltración del rostro, el tinte color subido se cambió por una ligera palidez, y la mayor parte de los lepromas se habían reabsorbido. Pero esta mejoría no duró mucho, quedó sin avanzar por varios meses y últimamente ha retrocedido hasta el punto que hoy presenta igual aspecto que cuando iniciamos el tratamiento; rostro leonino, numerosos lepromas, etc. La sensibilidad se conserva bien.

Otro enfermo de lepra máculo-anestésica para el cual el diagnóstico clínico fue confirmado con el hallazgo del bacilo en preparación de sangre (método de la gota gruesa), tomada sobre una de las manchas, inyectamos también nuestro antígeno y en él la anestesia que era completa, se ha convertido en hiperestesia y algunas manchas se han decolorado.

Aunque estos resultados que en un principio nos hicieron forjar algunas ilusiones, no prueban nada, sí al menos nos hacen esperar que talvez no estemos lejos del camino que deba conducir a encontrar el verdadero tratamiento específico de la lepra.

Los señores Académicos o los médicos a quienes interesen estos estudios encontrarán en nuestro Laboratorio la más entusiasta acogida, y estaremos siempre listos para mostrarles nuestros cultivos y tenerlos al corriente de nuestras investigaciones.

Esto es, en síntesis, el resultado de mis estudios en materia de lepra. Aspiro, en cuanto me lo permita la lucha por la vida, dedicarle toda mi energía a estas investigaciones que representan únicamente el esfuerzo desinteresado de quien aspira a contribuir siquiera en mínima parte al estudio de uno de los problemas médicos de mayor trascendencia que confronta el país.

Cualquiera que sea la suerte que esté reservada a estas iniciativas, creo haber señalado un camino a nuestros investigadores; y declaro que nunca me ha movido ni me moverá ningún otro interés que el puramente científico.

Cuando se piensa que tantos sabios de verdad están empeñados en resolver este magno problema, es natural que venga el desaliento; pero también se cobran bríos al recordar las palabras que hace poco me decía mi amigo el doctor Zea Uribe: "Adelante!, que a veces el milagro no lo hace el prior sino el lego".

F. LLERAS ACOSTA