

REVISTA DE LA FACULTAD DE MEDICINA

Director, Profesor JORGE E. CAVELIER

VOL. VI

Bogotá, mayo de 1938.

N.º 11

LOS TRABAJOS DEL PROFESOR FEDERICO LLERAS ACOSTA, SOBRE LEPROA

*Informe de la Comisión que estudió los trabajos del profesor Lleras
Acosta sobre bacteriología de la lepra.*

Señores Académicos:

El profesor Federico Lleras Acosta, uno de los más reputados bacteriólogos con que cuenta el país, presentó a esta Corporación un trabajo titulado "Pruebas de la especificidad de un bacilo ácido-resistente aislado de la sangre de los leprosos" fruto de pacientes investigaciones llevadas a cabo en los últimos años. Nombrados en comisión para el estudio de este trabajo, pasamos a rendir el informe correspondiente no sin hacer presente la imposibilidad en que nos hemos hallado para efectuar ensayos de comprobación, lo que nos limita a hacer un estudio crítico más bien, que se funda en los trabajos mismos de Lleras y en los que posteriormente hicieron algunos investigadores sobre este tema y que son ya conocidos de la Academia.

Debemos declarar de manera franca que no pretendemos haber agotado la materia en este asunto, y que no nos es posible llegar a conclusiones definitivas en materia de suyo tan ardua y delicada. La reseña histórica y cronológica que haremos en el lugar correspondiente, en relación con las principales investigaciones que se han hecho sobre bacteriología de la lepra, nos muestra las dificultades con que tropieza la ciencia para poder decidir sobre el valor definitivo de los trabajos que los investigadores le presentan.

La lepra, enfermedad legendaria y de tan antiguo conocida, ofrece todavía muchas incógnitas y ha opuesto siempre barreras casi infranqueables a los investigadores que han querido sorprender sus secretos. Su etio-

logía, su profilaxis, su tratamiento son temas que por lo mismo que no han sido resueltos, ofrecen un amplio campo al estudio. De ahí que tentaran el espíritu siempre inquieto y siempre curioso de quien como Lleras ha dedicado toda su vida a la bacteriología y a ella le debe su fuerte personalidad científica.

Los trabajos a que venimos refiriéndonos comprenden tres puntos principales: Cultivo de un bacilo ácido-resistente aislado de la sangre de los leprosos; resultados de su inoculación en los animales de laboratorio, finalmente reacción de fijación del complemento en la que se hace obrar el mismo bacilo como antígeno. Nos referiremos a cada uno de ellos.

Cultivo del bacilo.—La bibliografía respectiva nos da los siguientes datos: (Anexo N° 1).

Se ve por esta lista el esfuerzo hecho por los investigadores, para resolver el problema, del cultivo del bacilo de la lepra, y de las dificultades casi insuperables para demostrar la especificidad de los gérmenes hallados, nos da cuenta el hecho de que la ciencia aún no sabe cuál es el verdadero bacilo de Hansen.

Siguiendo la técnica de Loewenstein y usando el medio de cultivo de Petragnani, el profesor Lleras ha aislado un bacilo ácido-resistente cuyos cultivos tienen caracteres bien definidos y constantes: cromógenos, húmedos, etc., conservados iguales después de más de 50 repiques hechos en los varios años que llevan estas investigaciones. Igual cosa sucede con los caracteres morfológicos del bacilo: coloración, modo de agrupación, etc. A esta constancia de los caracteres de los cultivos le da la Comisión gran importancia.

Tenemos, pues, una nueva cepa, podemos llamarla la cepa Lleras en la ya larga lista de bacilos aislados de la sangre y de las lesiones leprosas, pero que parece tener caracteres distintos de los señalados por otros investigadores. Uribe Misas de Medellín y Muñoz Rivas, de Ibagué, obtienen los mismos cultivos siguiendo la técnica indicada por Lleras.

La dificultad con que siempre se ha tropezado para probar la especificidad de los bacilos aislados se debe principalmente a que la lepra es una enfermedad exclusivamente humana y a que los animales de laboratorio siempre se han mostrado refractarios a la inoculación, o al menos las lesiones halladas no permiten conclusión sobre su verdadera naturaleza. De ahí que Lleras quisiera dar un paso adelante en la solución de este problema y buscara hacer los receptivos agregando el llamado factor T de Durán Reinalds a las inoculaciones practicadas con su bacilo.

Inoculaciones del bacilo. — Queremos también hacer aquí la reseña bibliográfica correspondiente. (Anexo N° 2).

En este punto las investigaciones de Lleras nos muestran una modificación importante a las técnicas empleadas por otros investigadores: la

adición del factor T. de que ya hicimos mención, que no es otra cosa que un extracto testicular y que según Durán Reinalds tiene tres propiedades: exaltación de las infecciones, difusión de partículas inertes y poder anticanceroso. Curies, conejos, ratas, y finalmente un mono (macacus rhesus) fueron inoculados con el bacilo Lleras con la adición del factor T. por vía intradérmica unos, otros por vía subcutánea, intravenosa e intraperitoneal. El estudio de las lesiones encontradas muestran hipertrofia ganglionar y lesiones en el bazo y en el hígado, cuyos frotis mostraron el mismo bacilo y con caracteres idénticos.

Nos alargariamos demasiado si quisiéramos referir uno a uno los resultados señalados por Lleras en los experimentos de inoculación. Remitimos al lector a la comunicación original en la que se encuentran todos los detalles así como el estudio de los anatomopatologistas doctores Llinás, Uribe Piedrahita y Sánchez Herrera, quienes están acordes en considerar las lesiones encontradas como de estructura leprosa.

No se nos oculta, por señalarlo así los investigadores, que los bacilos ácido-resistentes tienen por carácter común el de producir reacciones granulomatosas de difícil interpretación. Los resultados de la inoculación hecha por Lleras en el macaco son de mayor valor, ya que no se limitan las lesiones al punto de la piel inoculado sino que se generalizan a la cara y dieron a esta un aspecto bastante significativo. Si éste resultado se confirma y se logran las mismas lesiones en inoculaciones en serie, creemos que se habrá hecho un real progreso en la diferenciación del bacilo Lleras con respecto a los ácido-resistentes banales.

Leprolina.—El profesor Lleras ha querido también utilizar su bacilo para la preparación de una leprolina destinada a la práctica de intradermo reacciones. Para ésto siguió la técnica usual de la tuberculina bruta de Koch. La reacción da resultado negativo en los leprosos, en una alta proporción, y en cambio es positiva en los sanos. La tesis de la Facultad presentada por el doctor Jacobo Tovar versa sobre este tema y los resultados que el autor anota son bastante interesantes.

Por el momento parece imposible dar una interpretación de la naturaleza de esta reacción: alergia, inmunidad? no lo sabemos, y el profesor Souza Araújo, que ha estudiado este punto según la comunicación que se nos leyó en la Academia, tampoco nos da datos que permitan avanzar en este problema.

Agglutinación.—Los ensayos de sero-aglutinación hechos por el profesor Lleras no parece que tengan la misma extensión que los de las otras pruebas, pues apenas los menciona en su comunicación. No nos detendremos pues en este punto.

Reacción Lleras.—Sin duda el capítulo más extenso del trabajo y al que mayor atención ha dedicado Lleras es el de la reacción de fijación del complemento hecha utilizando su cultivo en calidad de antígeno. Cer-

ca de 7.000 observaciones y reacciones hechas, minuciosamente detalladas, fundamenta el valor que su autor da a la reacción como específica de la lepra.

Antes de ocuparnos en este punto haremos una reseña bibliográfica sobre serología de la lepra. (Anexo N° 3).

Hasta el 1° de diciembre el número de reacciones hechas llegaba casi a 7.000, cifra muy importante para juzgar el valor del método. Los resultados obtenidos concuerdan mostrando un porcentaje de positividad en los leprosos superior al 90%; exactamente 99.37 en las formas bacteriológicamente positivas y 92.5% en las formas sin bacilo.

Para ponerse a cubierto de un error posible dado al alto valor anti-complementario de los sueros leprosos (Eliesberg, 1928), al mismo tiempo que se hacía la reacción Lleras, a cada enfermo se le practicaban las de Wassermann y de Kahn. Estas últimas dieron un porcentaje de positividad de 47% para el primer grupo (bacilo positivo) y 24% para el segundo (Bacilo negativo). En los individuos sanos y en los enfermos con afecciones distintas de la lepra, el porcentaje de la reacción Lleras fue de cero, cero ocho 0.08% y 1.52% respectivamente.

Como se ve por estos datos la reacción Lleras da un porcentaje de positividad de los más altos encontrados hasta hoy en la lepra, hecho que comprueban los investigadores colombianos Uribe Misas y Muñoz Rivas y el profesor Cerqueiraes del Brasil.

La reacción se aplicó también a los niños sanos o aparentemente sanos, hijos de leprosos, y a las personas sanas que viven en las Leprosorias. Los resultados son en extremo interesantes. En efecto, la reacción aplicada en el primer grupo da un resultado positivo de 11.38% y en el segundo de 18.48%.

Aún más el profesor Lleras ha querido utilizar su reacción para el control de los curados sociales y ha obtenido el siguiente resultado: sobre 160 reacciones practicadas en estos individuos obtienen un porcentaje positivo de 38.12%. Las reacciones Wassermann y Kahn, practicadas al mismo tiempo apenas dan un porcentaje de 12-21 de positividad.

En el estudio minucioso que hace Lleras, para fundamentar el valor de sus reacciones, nos cita varias observaciones en que un nuevo examen clínico, la investigación bacteriológica o la aparición posterior de síntomas claros de lepra, han venido a confirmar el valor diagnóstico de una reacción positiva, que en un principio pudo colocarse entre las causas de error. Fundado en estos hechos llama la atención hacia la importancia que tiene la prueba para el diagnóstico de casos latentes o incipientes y por lo tanto hacia su utilidad en la profilaxis de la lepra.

La comisión está de acuerdo con el Profesor Lleras en reconocer el alto valor que tiene su reacción, dada su especificidad, y estima que debe considerarse como de aplicación muy útil para el diagnóstico de la Lepra. Esta opinión la respaldan cerca de 7.000 reacciones practicadas con cuidadosa técnica y con resultados constantes de un año a otro. No

sabemos de ningún otro investigador que pueda exhibir, ni de cerca, un tan crecido material en apoyo de sus conclusiones.

Reconociendo, como ya los dijimos el altísimo valor de la reacción Lleras y su utilidad en el diagnóstico de la lepra, creemos sin embargo prematuro el considerarla como de una especificidad absoluta, en el sentido de considerar como leproso a todo individuo a quien la reacción dé resultados positivos, aunque los signos clínicos y bacteriológicos sean negativos. Serán precisos nuevos y más detenidos estudios, observación larga y cuidadosa, para poder fijar este punto, máxime cuando sabemos que la serología requiere una técnica severa en quien la práctica y disciplina del Laboratorio no es muy común. De ahí los errores frecuentes que todos los días observamos en lo relacionado con las reacciones serológicas de la sífilis. "Una reacción serológica vale tanto como el técnico que la practica".

Pero en todo caso los hechos y observaciones que nos presenta el doctor Lleras en relación con los niños sanos hijos de leprosos y con las personas sanas que habitan en las leproserías, son de un enorme interés y justifican la continuación de investigaciones destinadas a fijar el valor de la reacción Lleras para el diagnóstico precoz de la lepra y su utilización en la campaña antileprosa.

Creemos también muy conveniente que la reacción se practique en los individuos llamados curados sociales, antes de su salida de los Leprosorios, con el objeto de investigar si son justamente los que la han dado positiva quienes reingresan más pronto víctimas de un nuevo brote de la enfermedad. Si esta observación se hiciera y el resultado fuere positivo, tendríamos un elemento más de gran valor en favor de la especificidad de la reacción.

La comisión cree cumplir con un deber de justicia rindiendo aquí una voz de aplauso al Profesor Lleras Acosta por las investigaciones sobre la Lepra que nos ha tocado estudiar, y se felicita de que la Academia lo hubiera elegido como acreedor al premio que estableció el Congreso Nacional. "Para el investigador Colombiano cuyos trabajos hubieran contribuido más al progreso de los estudios de la lepra". Para quienes sabíamos de sus pacientes e importantes labores no nos sorprendió que esa elección se hubiera hecho por unanimidad y con el aplauso general de la corporación.

La Comisión, como ya lo dijimos, no cree que este informe agote la materia y mucho menos que pueda considerarse como completo. Apenas quiso expresar su concepto acerca de un asunto tan difícil y delicado antes de que la Academia entrara en sus vacaciones anuales y con el objeto de someterle algunas conclusiones que son aprobadas, como lo esperamos, permitirán a la Corporación hacerse presente ante el Gobierno Nacional en apoyo a la iniciativa del señor Presidente de la República para enviar al profesor Lleras a la conferencia internacional de lepra de El Cairo, como Presidente de la Delegación Oficial de Colombia. Ninguna desig-

nación más aceptada y ninguna ocasión mejor para el doctor Lleras de poder presentar personalmente sus trabajos a la consideración de los leprologos extranjeros que han de unirse en la capital de Egipto.

Finalmente y como resultado del estudio de los trabajos del profesor Lleras Acosta, vuestra Comisión se permite expresar los siguientes conceptos que somete a la consideración de la Academia con carácter de conclusiones de este informe:

Primera. Las investigaciones del profesor Lleras Acosta son de un alto valor científico y deben continuarse para poder fijarle su valor definitivo en relación con la bacteriología de la lepra.

Segunda. La reacción serológica de Lleras puede considerarse como la parte más importante de sus trabajos y ofrece perspectivas de extraordinario interés en su aplicación al diagnóstico y profilaxis de la lepra.

Tercera. Los trabajos de investigación a que nos referimos representan un progreso indudable en el estudio de la lepra y merecen todo el apoyo que les han dispensado el Gobierno Nacional y la Academia de Medicina.

Cuarto. Copia de estas conclusiones debe pasarse al Gobierno Nacional por conducto del señor Ministro de Educación.

Vuestra Comisión,

Roberto Franco, Julio Aparicio, Alfonso Esguerra, Pedro J. Almazar.

(Anexo N^o 1)

BREVE RESUMEN HISTORICO DE INVESTIGACIONES SOBRE LEPROA

Cultivos.

Desde 1874 y a raíz del descubrimiento del bacilo por Hansen, se intentó el primer cultivo.

1881. Gaucher intenta el cultivo del caldo Liebig.

1882. Rake emplea numerosos medios con productos de degradación albuminoidea (ácidos animados), y empleando material leproso de todos los tipos. Obtuvo varias colonias de bacilos ácido-resistentes.

1889, y años siguientes, Campana. Ducrey, Rocca, Rake, Sprong, cultivan en medios glicerinados, gérmenes ácido-resistentes.

1889. Carrasquilla anuncia el cultivo del germen (móvil).

1903. Karliski aisló en tres ocasiones del suero de tres pacientes gérmenes ácido-resistentes y Kedrowski sostiene nuevamente que ha cultivado el bacilo.

1904. Rosto presenta cultivos obtenidos quitando las sales. De ellos prepara la leprolina.

1905. Deycke cultiva el germen que lleva su nombre, no patógeno y extrae de él la nastina.

1905. Weiel, Klint y otros, describen cultivos en huevo. Los gérmenes inoculados, se pueden recobrar de las lesiones producidas y se cultivan indefinidamente.

1909. Clegg en las Filipinas cultiva el bacilo en simbiosis con amibas y partiendo de emulsiones del bazo de los leprosos. Strong considera "que parecía que Clegg había tenido éxito". En el mismo año y con ese bacilo, Clegg obtiene en curies lesiones macro y microscópicamente similares a las de la lepra humana. El germen de Clegg es ácido-alcoholo-resistente.

1910. Duval en cinco trabajos (Journal of Exp. Med. 12—649,665 y N. Orl. Med. etc. Surg. Journal—11,63549-559), confirma los trabajos de Clegg e intenta sus cultivos partiendo directamente de los tejidos leprosos y sin recurrir a las simbiosis. Las conclusiones extractadas del autor, son las siguientes: De los tejidos leprosos se aísla un germen ácido-alcoholo-resistente. Los caracteres morfológicos y las propiedades tintoriales no difieren en los varios cultivos y corresponden estrechamente a los bacilos de los tubérculos leprosos. El crecimiento indefinido del germen fue demostrado por Clegg. No sólo he confirmado los experimentos de este autor—dice Duval—sino que he cultivado el germen y reproducido las lesiones en el ratón japonés: este animal adquiere la infección en cuatro a seis semanas por inoculación intra-peritoneal o subcutánea, bien sea con emulsión de tejidos leprosos, bien sea con los cultivos. Comparativamente pocos bacilos son necesarios para infectar el animal. Las lesiones experimentales son de carácter proliferativo e idéntica a las humanas. En mi experiencia, ni los cultivos, ni el material humano dan lesiones en otros animales. Los bacilos en los cultivos, en todo tiempo son ácido-alcoholo-resistentes y sólo difieren de los tejidos en la mayor variedad que muestran de la distribución de la cromatina: son más largos y más incurvados. El éxito obtenido en el bacilo de la lepra y el hecho de que los cultivos conservan sus propiedades patógenas son de importancia capital respecto de la producción de un inmuni-suero para combatir la enfermedad.

1912. Duval (New And Efficiente Method for cultivatin bacillus leprae—Journal of Am. Med. assoc. 1912,58-1427 y J. inf. dis. 11-116-) dice, y continuamos extractando: "los amino-ácidos son indispensables en el cultivo y éste inicialmente solo se logra con productos de digestión trípica. De 29 casos de lepra se ha aislado el bacilo ácido-alcoholo-resistente en 22; en un caso se aisló el organismo descrito por Kedrowski.

1910-1911 y 1912. Kedrowski, Campana, etc., describen nuevos cultivos y Currie Hollman y otros confirman independientemente los trabajos de Clegg. William cultiva dos gérmenes, ácido-alcoholo-resistente el

uno, el otro no, pero que inyectados a los leprosos dan reacciones general y local y no son patógenos para los animales.

1911. Rost comunica las curaciones obtenidas con las vacunas preparadas con los *Estreptothyx* cultivados por él.

1911 y 12. Duval y Harris (J. inf. dis. 1911-9,350-J. med. Res. 1913, 28 165- Science 1912-36,281-), al describir las necesidades del germen y algunas de sus propiedades, opinan así: el B. de Kedrowski y otros de los descritos corresponden al B. tuberculoso tipo aviario o al de Moeller en el Smegma.; el de Karliski, es el mismo de la mantequilla; el de Rost y el de William son el mismo saprofita de Grassburger etc.; y agrega más abajo: el suero de conejos inmunizados con dosis repetidas de nódulos leprosos no contaminados, reacciona netamente con los cultivos. (Se refiere a los de él), y no da reacciones específicas con ningún otro bacilo de los descritos como B. de la lepra "Las lesiones experimentales no suministran un medio de confianza "reliable" para diferenciar los gérmenes ácido-alcoholo-resistentes diferentes de aquellos de la familia de los tuberculosos, porque en todos los casos la apariencia es igual. Todavía más, no es posible establecer el papel etiológico de algunos de los cultivos aislados de lesiones leprosas humanas, por el carácter microscópico de las lesiones experimentales, puesto que, idénticas imágenes pueden ser determinadas con cultivos de B. de Tymothy, B. de la mantequilla, leche, smegma, etc."

1911. Bayón comunica que es capaz de determinar lesiones nodulares del conejo inyectado bacilos de smegma, otros gérmenes ácido-resistentes y gérmenes del tipo tuberculoso aviario.

1911. Paldrock demuestra la presencia del bacilo en la sangre circulante de los leprosos.

1913. Martínez Santamaría inyecta animales con tejidos leprosos y aísla de ellos un germen ácido-alcoholo-resistente.

1913. Reenstierna aísla de tejidos y de sangre leprosos un germen (el de la sangre fue más tarde aislado y cultivado por Walker en Honolulu en 1929.

1913. Frasser (Jour. of trop. med. 16-164-) estudia nódulos de 32 leprosos y hace 373 siembras en medios diferentes. Demuestra que procediendo asépticamente y con todo cuidado, no se obtiene cultivo alguno o sólo difteroides de contaminación.

1914. Mc-Coy entre otros, aísla 9 muestras cromógenas ácido-alcoholo-resistentes.

1916. Harris, Lanford, presentan su trabajo sobre aglutinación y consideran que sólo hasta que se describan procedimientos refinados, poco se puede confiar en esta prueba como medio de identificación de cualquier cultivo aislado y descrito como B. de Hansen.

1918. Wherry y Erwin estudian la tensión gaseosa en los cultivos de B. tuberculoso y echan bases para aplicar más tarde ésto al *Mycobae. Leprae*.

1920. Varios investigadores presentan intento de cultivo.

1921. Kohda presenta estudio sobre el B. de Kadrowiski y concluye que se trata de un tuberculoso aviario de débil poder patógeno, que da reacciones inmunológicas en presencia del suero de los leprosos, pero que no es específico.

1927. Souza Araújo describe el germen cultivado por él en medios con manosa, calcio, carne, peptona, etc. Concluye que ha cultivado el *Mycob. Leprae* y ha producido lesiones experimentales.

1928. Publicaciones de Kedrowiski, Souza Araújo, Greco, para no citar sino a unos pocos y que no prueban nada.

1929. Shiga describe un nuevo cultivo del cual cree Souza Araújo que es un *actionomyces*. Giordiano describe otra muestra que crece vigorosamente en los repiques.

1930. Wherry en Filipinas describe cultivos lentos obtenidos cambiando la tensión gaseosa y la composición de la atmósfera en los tubos del cultivo. Las colonias obtenidas son repicables. En este mismo año Sonnenschein cultiva lo que él cree el B. de la lepra en huevo glicerinado y en huevo con verde de malaquita.

1932. Y en tres años anteriores Mckinley Markianos, Vaudremer, Sezary, Brum, sostienen haber obtenido cultivo de myco. Lepras partiendo de formas filtrables del organismo leproso y que en los cultivos se convierte en bacilo típico.

1931. Ota y Sato (Comp. Rend. Soc. Biol. 1831. Tomo 107. 062), obtiene por hemocultivo de 54 leprosos sobre medios de Petraghani, Petroff, Hans, etc., nueve muestras de un germen ácido-alcoholo-resistente. En cambio, partiendo de lepromas hay más dificultad y sólo obtienen una muestra después de 39 ensayos sobre 37 leprosos. Igualmente han cultivado B. tuberculoso partiendo de los gánglios de un leproso (véase lo referente a inoculaciones).

1931. Soule y Mckinley en este año y posteriormente (1933) publican sus trabajos sobre cultivos partiendo de lepromas extraídos con técnica quirúrgica. Emplean 10 medios de cultivos diferentes y mencionan también haber empleado los medios de Twort, Petraghani. Cambiando las tensiones gaseosas y empleando mezclas de anhídrido carbónico y aire obtienen hasta principio de 1934, 26 generaciones de un germen ácido alcoholo-resistente, con todas las características del B. de Hansen.

1933. Los mismos autores publican su resultado sobre cultivos del bacilo en cultivos de tejido y concluyen "no nos hacemos ilusiones respecto de esto y consideramos que la investigación debe ser repetida, cuidadosa y rígidamente por otros investigadores".

1933. (mes de abril). Watanabe y Harazawa intentan cultivos partiendo de la sangre de los leprosos, tratada ésta por el método de Lowenstein y obtienen un 8.6% de cultivos con dos clases de bacilos. Partiendo de tubérculos obtienen el 40% de resultados positivos. Por este mismo año (mes de marzo), Lepine y Markianos practican hemocultivos por el método de Lowenstein con resultados negativos.

1933. En enero de este año Lowenstein había publicado su trabajo titulado: "Diagnóstico bacteriológico de la lepra por hemocultivo" (Intern. Jour. Leprosy. Manila), el autor siembra el sedimento de la sangre, después de seguir su técnica, en medios en los cuales reemplaza la peptona por asparagina.

1933. Manuel Sánchez de Madrid obtiene cultivos de leproma en caldo de placenta y jugo de naranja. Los gérmenes ácido-resistentes crecen al principio en 8 días y más tarde en 48 horas. Inyectados los leprosos dan reacciones nodulares que persisten 10 días.

1933. Lleras Acosta por hemocultivo aisla un bacilo que ofrece caracteres constantes en su morfología y cultivos.

1933. Souza Araújo (Brasil-médico- mes de febrero) publica su trabajo "*Tentativas infructuosas de cultivo de myco-bacterium leprae*, partiendo de la sangre y por el método de Lowenstein" estudia 26 muestras de sangre de 17 leprosos en estado activo (C2 y C3. clasif. de Manila). En cada uno intentó por lo menos 12 cultivos en algunos 24 y en otros 36. Como medio de cultivo usó M. de Lowenstein. M. de Petroff, M. de Petragani y M. de Shiga. En la manipulación de la sangre siguió la técnica de Shiga por Lowenstein. Los cultivos fueron examinados durante seis meses sin haber obtenido ningún resultado.

1934. Holt, Salle, Moser, intentan cultivos en embriones de pollo, con resultados poco satisfactorios.

1934. Ota y Sato, resumen sus trabajos anteriores y concluyen; "Los bacilos ácido-alcoholo-resistentes cultivados de material leproso no son necesariamente bacilos leprosos" así, han obtenido cultivo de *B. tuberculosis*, partiendo de nódulos y de linfomas leprosos. Los autores han cultivado dos variedades *myco, leprae, var. album* y *myco Leprae var. auraticum*.

1935. Lowenstein publica el resultado de dos cultivos obtenidos por su método y que tardaron seis meses en desarrollarse.

1935. Vudremer y Brum, publican su trabajo de siete años; filtran por bujías L3 sangre leprosa y jugo de lepromas y cultivan el filtrado. De 15 a 30 días después aparecen pseudo meningococos gran positivos que más tarde se convierten en bacilos ácido-resistentes. Los cultivos obtenidos han sido conservados durante cuatro años, son aglutinados por suero leproso y no por otro suero, además el suero leproso produce bacteriiosis.

1937. Eddy emplea 68 medios de cultivo diferentes para tratar de obtener el desarrollo del *B. de Hansen*. Obtiene resultados negativos.

1937. Uribe Misas (Colombia) confirma las investigaciones de Lleras sobre cultivo del bacilo aislado de la sangre de los leprosos.

1937. Muñoz Rivas (Colombia) confirma también los resultados de la investigación de Lleras Acosta sobre cultivos del bacilo.

1937. Souza Araújo considera el bacilo Lleras como de un poder antigénico superior al de las otras cepas estudiadas por él.

(Anexo N^o 2)

INOCULACIONES—ANATOMIA PATOLOGICA

1882. Hansen, fue el primero que intentó la inoculación de su bacilo en conejos y gatos sin ningún éxito; más tarde inoculó monos. Neisser fracasó igualmente en la misma época.

1886. Arning inyectó en un prisionero material leproso (en el brazo): 14 meses después los bacilos persistían sin producir ninguna otra lesión.

1899. Carrasquilla inoculó conejos, en los cuales según él—reprodujo la enfermedad con lesiones y síntomas leprosos pero en forma muy aguda.

En los años siguientes, esporádicamente varios autores intentaron inoculaciones sin éxito alguno.

1900-1901. Kedrawiski utilizando sus cultivos produce granulomas en los conejos. Las lesiones contienen bacilos 8 meses después de hecha la inoculación.

1905. Nicolle inocula por diferentes vías emulsiones de lepromas en monos. A los 62 días obtiene nódulos subcutáneos que se extienden y se adhieren a la piel tres días más tarde; diez días después el nódulo, que no progresa, es extirpado y muestra agrupaciones linfocitarias y de grandes mononucleares que contienen el germen.

1908. Marchoux, no obtiene ningún resultado en chimpancés.

1910. Stanzyole inocula en la cámara anterior del ojo del conejo con resultado positivo.

1910. Nicolle, Blaizot demuestran que la inoculación repetida en el mono, se traduce por acortamiento en la incubación (para dar nódulos), persistencia de las lesiones por más largo tiempo.

1911. Bayón inyecta en ratas y curies el bacilo ácido-resistente aislado por él. Lo recobra de los ganglios. Demuestra además la producción de lesiones experimentales inyectando al rededor del nervio ciático, B. del smegma lo mismo que B. tuberculoso tipo aviario o aún simples gérmenes muertos.

1911. Duval inocula *Macacuss Rhesus* y describe zonas de analgesia y de hiperestesia.

1911. Couret comunica que el B. de la lepra sobrevive y se multiplica en animales de sangre fría conservados en climas cálidos.

1912. Duval y Couret publican una comunicación mostrando que la producción de la lepra obtenida por ellos en el *Macacuss Rhesus* demuestra en forma concluyente que han cultivado el B. de la lepra y no un saprofito.

1913. Comunicaciones más o menos interesantes de diversos autores.

1914. Bayón inocula un total de 400 animales de laboratorio y cree

que aunque muy raramente se infectan, las lesiones obtenidas son de tipo nervioso.

1915-16-17 y 18. Repetición de lo anterior.

1919. Bradley, describe extensas lesiones nodulares en el M. Rhesus y Limousine por inoculación en el ojo del conejo, obtiene 22 meses después lesiones pulmonares donde se encuentran bacilos ácido-alcoholo-resistentes.

1920-1925. Mariani entre otros, inyecta en hombres material virulento y material muerto; únicamente obtiene reacciones locales.

1926. Reenstierna y Rofo determinan en el M. Rhesus y en el M. sinicus lesiones nodulares que al microscopio muestran células cargadas de bacilos ácido-resistentes.

1928. Souza Araújo produce nódulos cutáneos en el ratón blanco.

1929. Franchiani, practica la inoculación en monos.

1930. Tisseui inyecta hombre con myco. Leprae y B. puliforme por vía intradérmica: obtiene abscesos de evolución lenta. Franchiani, obtiene un nódulo cargado de bacilos en un Macacus inyectado tres años antes.

1932. Ota y Sato (Comp. Ren. Soc. Biol. T. 109- Pág. 2), publican el resultado de inoculaciones de las muestras aisladas por hemocultivo sobre medios de Petroff, Petragani, etc.; cinco ratas inoculadas bajo la piel del vientre muestran entre los tres y cuatro meses lesiones de la mejilla del tamaño de una lenteja que más tarde se ulceran, cicatrizan después dejando un depilación definitiva. En una de las ratas encuentran lesiones pulmonares.

Cinco curies y cuatro conejos inoculados dan lesiones del hígado, el bazo, los pulmones, y los ganglios linfáticos.

1932. Mckinley y Soule inoculan mono, curies y conejos por vías intraperitoneal, intratesticular, intracerebral e intracutáneo (Material de tubérculos-leprosos). Por esta última vía obtienen 20 días después nódulos que más tarde se ulceran; en la exudación de ellos se encuentran bacilos. Los estudios histológicos muestran granulomas formados por acumulación de células tipo gran mononuclear, infiltración linfocitaria y polinuclear, con bacilos. Crean estos investigadores que el aspecto microscópico corresponde a las lesiones iniciales de la lepra humana.

Igualmente inoculan Macacus con emulsiones de los cultivos obtenidos por ellos y reproducen lesiones semejantes a las ya descritas: En algunas aparecen células de protoplasma claro o con tumefacción turbia y escasos bacilos en su interior. Posteriormente Mckinley y Verder inyectan curies con lipoides y en la ingle opuesta inoculan el germen cultivado por el primero: Lesiones ulcerosas progresivas con abundantes bacilos. Los resultados posteriores a esto aún no han sido publicados o por lo menos no son conocidos por nosotros.

1932. Cantacuzenex y Longhin tratan ratas por el método de Van Deinse e inoculan luégo filtrados de leproma. Al cabo de cinco a seis

meses, muerte de los animales: hay infartación ganglionar y esplenomegalia. Se encuentran bacilos tipo Hansen en los cortes y en los frotis.

1933. Denney y Eddy (Arch. Dermat. and Siph.), estudian 50 muestras de gérmenes ácido-alcoholo-resistentes. Emulsiones de éstas mezcladas a leucocitos de conejo y líquido de Tiroides, muestran 48 horas más tarde la formación de la célula leprosa y de Globis. Empleando jugo de leproma y en las mismas condiciones no lograba reproducir nada.

1934. Lépine, Markianos, etc., en ratones inoculados previamente con vidrio molido por vía intraperitoneal y luégo con jugo de leproma obtienen lesiones ganglionares extensivas y producción de globis con abundantes bacilos.

(Anexo Nº 3)

SEROLOGIA

La literatura que se puede obtener sobre Serología de la lepra es mucho más limitada que la que se obtiene respecto de cultivos. Y tiene que ser así ya que no sólo los cultivos del Bacilo de Hansen ha sido demasiado discutidos para poder avanzar en la inmunología, sino que las técnicas serológicas datan de 25 años poco más o menos.

1906. Eitner, el primero, nota que en el suero de los leprosos hay anti-cuerpos que reaccionan con el extracto etero-alcohólico de lepromas.

1906-1914. Se podría citar una serie de trabajos poco importantes para el momento actual, y en que los diversos autores estudian propiedades aléxicas, anticomplementarias, el carácter positivo de los sueros en relación con la sífilis, etc.

1915. Fletcher en los Estados Malayos observa que 13.6% de leprosos sin antecedentes sifilíticos dan reacción de Wassermann positiva.

1919. Cok (Your. inf. dis.) tabula los resultados obtenidos hasta ese año en 2.000 casos de lepra cuyas sangres han sido examinadas. Obtiene la convicción de que el suero de los leprosos reacciona con gran número de antígenos no específicos.

1923. Lewis, Aronson (J. exp. med. mes de agosto Nº 1), es el primer trabajo a fondo que nos ha sido posible consultar. Los autores estudian 440 sueros leprosos y 605 de individuos sanos en presencia de antígeno de diverso tipo; B. Leprae de Clegg, B. de Duval, B. de Kedrowski, B. tuberculoso, antígeno de Petroff antígeno colesterinado, etc. y obtienen estos resultados:

Antígeno tuberculoso + Suero leproso positividad del 97.7%

Antígeno tuberculoso + Sueros sanos positividad 31%

Antígeno Petroff + Suero leproso positividad 96.8%
 Antígeno Kedrawiski + Suero leproso positividad 86.1%
 Antígeno Clegg + Suero leproso positividad 93.9%
 Antígeno Duval + Suero leproso positividad 81%

1927. J. N. Gómez de San Paulo sigue en su trabajo sobre fijación del complemento las ideas de Dreyer y de Taylor, desengrasando bacilos ácido-alcoholo-resistentes (stere pthothrin Leproides), para preparar el antígeno. En presencia de 167 sueros normales, sifilíticos, tuberculosos y leprosos. Con los tres primeros tipos de suero la reacción es negativa en tanto que con los leprosos obtiene estos resultados:

En lepra tipo mixto	95.23%	de positividad
En lepra tipo tuberculoso	88.88%	de positividad
En lepra tipo anestésico	87.50%	de positividad
En lepra tipo máculo-anestésica	70.37%	de positividad
En formas frustras	50.	% de positividad

Los resultados negativos correspondientes a estos porcentajes fueron obtenidos en individuos socialmente curados o en mejorías. Finalmente en 28 portadores de bacilo sin signos clínicos ningunos, obtuvo 37.71% de positividad.

1928. Elliesverg demuestra que el suero leproso a la dosis de 0.04 c. c. puede por sí solo fijar el complemento.

1930. Blanco, Joamides, Pangelos, usan antígeno metílico de B. de Kedrowiski con resultado positivo en 12 casos de lepra nodular, en 5 de siete casos maculosos y tres de 5 nerviosos.

1930. Gómez y Antunez. Nuevo trabajo sobre los buenos resultados obtenidos con el B. de Deycke desengrasado. Toyama describe una reacción de floculación aprovechable como medio de diagnóstico.

1931. Morales Otero en Puerto Rico muestra en estudio comparativo sobre 33.000 R. de Wassermann, que en individuos sanos se obtienen el 14.54% de resultados positivos en tanto que en los sueros leprosos la positividad sube a 65%.

1932. Cowan en el asilo de los Estados Malayos, para comprobar la afirmación de Kolmer de que su técnica no da resultados falsos en los leprosos verifica reacciones en 593 leprosos y 444 controles no leprosos y obtiene el 53.9% de positividad en los casos cutáneos y mixtos.

1932. Witebesky, Klingestin y Kuhn con antígenos lipóidicos de B. tuberculoso practica reacciones en 50 leprosos nodulares y obtiene el 100 por 100 de positividad y en 26 casos nerviosos 20 fueron también positivos. Consideran que en leprosos con R. de Wassermann positiva debe hacerse la reacción con antígeno tuberculoso para diferenciar.

1933. Miyoshi, practica la fijación del complemento en 332 leprosos usando como antígeno extracto alcohólico de nervios humanos mezclando ovolesitina. Obtiene 53.6% de positividad.

1933. Gómez y Antunez, demuestran que la reacción de la fijación del complemento con el antígeno de Deycke, se convierte en positiva, merced a la administración a los leproso de Yoduro de Potasio.

1934. Jordan obtiene que los leproso con R. de Wassermann negativa den reacción positiva con extractos alcohólicos de actinomyces.

1934. Gómez (inter. jour. of. leprosy) publica su trabajo titulado: "La reacción Gómez de fijación del complemento en la lepra", llevado a cabo en el Brasil desde el año de 1926. Da la técnica de preparación de un antígeno, partiendo del B. de Dycke: desengrasando los cultivos previamente. Ha verificado hasta este año 2.000 reacciones incluyendo en ellas 559 leproso, 713 sospechosos y 149 casos diferentes (no leproso) los resultados son éstos:

Lepra nodular	96.7%	de positividad
Lepra mixta	95.4%	de positividad
Lepra máculo anestésica	65.6%	de positividad
Lepra nerviosa	64.8%	de positividad
Casos sospechosos	54.5%	de positividad
Casos de portadores	31.8%	de positividad
Individuos que estaban en contacto con leproso	42.6%	de positividad

En muchos casos positivos de individuos que vivían en contacto con leproso, se encontraron bacilos ácido-alcoholo resistentes en los ganglios.

1934. Ota e Ishbashi, consideran que los gérmenes ácido-alcoholo-resistentes no pueden ser diferenciados entre sí por pruebas de fijación del complemento. Creen los autores que la reacción está ligada a los elementos étero solubles.

1935. Gómez (del Brasil) opina que la reacción de fijación del complemento no es específica porque da en casos de tuberculosis, ozena, micosis profunda y leishmaniosis.

1936. Pereira (Filipinas), practica la desviación del complemento con el antígeno de Witebisky; obtiene 100 por 100 de positividad en lepras de tipo cutáneo y tipo mixto y el 80% en los tipos nerviosos. 84 personas que están en contacto con leproso dieron resultado positivo en 31.1%.

1937. Ishbashi practica reacciones de desviación del complemento empleando como antígeno emulsiones salinas de fracciones éterosolubles de gérmenes ácido-alcoholo-resistentes (B. del smegma y otros). Los resultados son:

Formas nodulares	90.9%	de positividad
Formas nerviosas	83.7%	de positividad

Con antígeno de B. tuberculoso aviario obtuvo resultados positivos de 78.9 al 91.1%.

1936. Lleras Acosta (Colombia) practica la fijación del complemento empleando como antígeno los cultivos obtenidos por él—obtiene un porcentaje de positividad de... 96.89.

1937. Uribe Misas y Muñoz Rivas (Colombia) confirman los resultados obtenidos por su autor en la aplicación de la Reacción Lleras.

1937. Cerqueira (Brasil) obtiene resultados semejantes con la Reacción Lleras a los anotados por éste.

