

CONTRIBUCION AL ESTUDIO DE LA IDENTIDAD DEL
MYCOBACTERIUM ULCERANS Y LA
ENFERMEDAD DE BAIRNSDALE

DR. V. PARDO-CASTELLÓ

DR. ARTURO CURBELO

DR. FERNANDO TRESPALACIOS

DRA. VIOLA MÁRQUEZ

*De las Cátedras de Dermatología y Sifilografía
y de Bacteriología*

*Escuela de Medicina, Universidad de La Habana
Habana, Cuba*

A principios de 1949 uno de nosotros (V. P. C.) recibió una copia de una carta por el Dr. P. D. Winter, Oficial Médico Investigador de la "Westfort Institution," Pretoria, Africa del Sul,¹ respecto a una publicación por MacCallum y colaboradores de Melbourne, Australia, titulada "A New Mycobacterial Infection in Man" (4), en la cual se presentaban seis casos de lesiones ulcerosas de la piel, profundas y necróticas, hallándose el Dr. Winter cierta semejanza con las lesiones de lepra lazarina descritas por Caballero (1) y más tarde por Pardo-Castelló y Caballero (5) en Cuba y mencionada por otros investigadores en Filipinas (6).

Uno de nosotros (V. P. C.) se comunicó con los investigadores Australianos y recibimos una cordial y atenta carta del Dr. Jean C. Tolhurst, Bacteriólogo Jefe del "Alfred Hospital" en Melbourne y varios cultivos del germen aislado de las úlceras en cuestión, parecido al bacilo de Hansen y al bacilo de la tuberculosis por su forma y su ácido-resistencia. El nombre científico de este bacilo ha sido finalmente *Mycobacterium ulcerans*.

La enfermedad y el bacilo han sido llamados también de Bairnsdale por provenir los pacientes de un distrito rural de ese nombre. Inoculaciones practicadas con este bacilo en ratas y ratones blancos, dieron lugar después de una larga incubación a la formación de úlceras cutáneas, peritonitis, epididimitis y edema generalizado, terminando por la muerte.

El parecido de la afección en sus aspectos clínicos, con la lepra lazarina y la presencia en las úlceras de enormes cantidades de bacilos ácido-resistentes, nos impresionaron al principio para pensar como el Dr. Winter que ambos procesos fueran iguales.

¹ Recibida del Dr. H. W. Wade, de Cullion, Filipinas. Esta carta fué publicada más tarde en la International Journal of Leprosy (8).

El Dr. Tolhurst, después de leer nuestros artículos sobre lepra lazarina, expresó en una carta personal su opinión contraria. Los cultivos del *M. ulcerans*, que habían sido al principio en Australia completamente negativos, fueron obtenidos positivos después de larga incubación a 32 ó 33 grados C. en vez de la incubación usual a 37 grados C., pero siempre con un crecimiento extremadamente lento.

INFORME PRELIMINAR DE LOS CULTIVOS EXAMINADOS
POR EL DR. ARTURO CURBELO

Los cultivos enviados por el Dr. Tolhurst fueron estudiados por uno de nosotros pero solamente los marcados R.T. y S.F., pues los demás se perdieron y fué imposible resembrarlos. Ambos cultivos tienen caracteres idénticos.

Morfología.—Es un bacilo, pleomorfo, de mediano tamaño pero irregular en su aspecto que puede recordar al *M. tuberculosis* procedente del mismo medio. Es fuertemente ácido y alcohol resistente con granulaciones múltiples en su protoplasma aunque muchos elementos lo presentan homogéneo y se advierten formas cocoides. No se observan agrupaciones en "globi." Es inmóvil.

A la coloración por el Gram no retiene nada la violeta lo cual no luce posible a la mentalidad de un bacteriólogo, ya que ningún mycobacterium ofrece este carácter. Sin embargo, la edad del cultivo puede justificar que este bacilo pierda la propiedad clásica del género con más rapidez que la especie tipo.

Un carácter raro también es que se tiñe muy bien con la coloración simple de azul de Loeffler que es raro en el género. Estos detalles serán ratificados o rectificados en el estudio de las resiembras.

Cultivos.—La observación atenta y detallada de la germinación (probablemente en Petraghani) no recuerda la germinación del *M. tuberculosis* ni de sus variantes. El tipo de germinación que puede considerarse abundante no permite hacer estudio de las colonias, pero en las resiembras parece coincidir con la descripción original (4).

Cada cepa fué sembrada en cuatro tubos de: (a) agar-yema de huevo (conforme a MacCallum); (b) Petraghani; (c) Dubos. El medio preconizado por los autores (agar-yema de huevo) presenta germinación evidente en incubación a 32°C. El medio de Petraghani luce con muy escasa germinación. El medio de Dubos no presenta germinación.

El tiempo de incubación parece más rápido y es lógico que sea así y esto puede estar justificado por su adaptación a la vida

artificial como sucede con todos los saprofitos discrecionales. La supervivencia de la cepa está pues asegurada. Más adelante se ensayarán otros medios sobre todo líquidos.

Por el interés que pudiera tener a título de la primera impresión, nos parece bien lejos de un bacilo de Koch. Como no hemos visto el bacilo de la lepra en cultivo no podríamos hacer afirmación análoga en cuanto al *M. leprae*, aunque algunos datos tampoco parecen conformar con este bacilo. En cuanto al grupo paratuberculoso estamos obligados a esperar ulteriores informes, sobre todo de las inoculaciones.

INOCULACIONES EN ANIMALES

En Julio 20 de 1950, tres ratas machos jóvenes fueron inoculadas por vía peritoneal (Dres. A.C. y V.M.), con cada uno de los dos cultivos S.F. y R.T. En Enero 18, 1951, o sea 6 meses después, el informe emitido es el siguiente:

Estas ratas han sido observadas muy cuidadosamente en forma periódica, esperándose desde luego, una manifestación lenta o tardía del cuadro patológico señalado en el trabajo original de Buckle y Tolhurst. Son ratas macho, jóvenes, como aconsejan estos autores y en la última observación llevada a cabo (Enero 18, 1951), se advierte que los animales se han desarrollado normalmente duplicando su tamaño y sin presentar manifestación patológica alguna, tanto a la simple inspección como a la palpación de órganos particularmente susceptibles.

Conclusión provisional.—Aunque no se puede concluir por lo expuesto que ambos cultivos son avirulentos, sí puede señalarse una virulencia muy disminuida si tomamos como índice el informe de los autores Buckle y Tolhurst. Los animales todos continúan en observación y no serán sacrificados hasta que muestren algún síntoma parecido a los descritos, tal como ascitis o inflamación escrotal.

Uno de los manipuladores (A. C.) sufrió accidentalmente una puntura profunda con una aguja lista para inocular (cepa S. F.) la que indudablemente contenía en su exterior y en su luz alguna cantidad de bacilos vivos. Esta inoculación fué en un dedo de la mano izquierda. Esto constituyó motivo de preocupación y la observación de la lesión cuidadosa y atenta no desarrolló, en absoluto otra manifestación que la natural del trauma sufrido, como si hubiese ocurrido con una aguja estéril.

INVESTIGACIÓN DE LA REACTIVIDAD CUTÁNEA A ESTE BACILO

La reacción local y general a la inoculación intradérmica de un antígeno hecho con este germen ácido-resistente, fué investi-

gada conjuntamente con la reacción a la lepromina tipo Mitsuda y a la lepromina tipo Dharmendra. Cuatro alergenos bacterianos fueron preparados, como sigue:

A. Lepromina de Mitsuda.—Fue usada para lograr un patrón de suspensión bacteriana análogo en los alergenos "M. ulcerans" RT y SF. Este producto es rico en bacilos y en tejido lepromatoso. La turbiedad que presenta se debe a los elementos tisulares y no a las bacterias.

B. Lepromina Dharmendra.—Este producto preparado estrictamente con la técnica de su autor, representa una suspensión "casi pura" de bacilos procedente de leproma. El término usado es porque se estima que aun esa técnica no permite la eliminación total de tejido lepromatoso, aunque la influencia de éste como alergenico debe considerarse mínima.

C. Alergeno M. ulcerans R. T.—Esta es una suspensión de bacilos procedentes del cultivo original recibido por Pardo-Castelló, en una concentración (grosso modo) parecida a la que en bacilos demuestra la lepromina de Mitsuda; o sea, hervida durante una hora, homogenizada y suspendida en solución salina fenolada al 0.5%.

D. Alergeno M. ulcerans S. F.—Suspensión preparada en forma exactamente igual a la anterior.

Cuatro pacientes fueron escogidos en el Hospital "San Lázaro" del Rincón, Cuba, dos de tipo tuberculoide, uno de tipo lepromatoso, y uno de tipo lepromatoso difuso con fenómeno de Lucio. Las inoculaciones fueron observadas durante un mes, examinándose los pacientes primero cada 48 horas y más tarde cada 3, 4 y 7 días, anotándose la reacción precoz de Fernández y la reacción tardía tipo Mitsuda-Hayashi desde la segunda a la cuarta semana. Los resultados se presentan en el cuadro I.

Piñeyro (7) ha publicado los resultados obtenidos con un antígeno hecho con material proveniente de los tejidos de un caso de lepra lazarina, observando la reacción paralelamente con la producida por la lepromina de tipo Mitsuda. En el propio paciente, la reacción de Mitsuda y la reacción del antígeno de lepra lazarina fueron intensamente positivas; en tres pacientes de lepra tuberculoide, la reacción con el antígeno de lepra lazarina fué igualmente intensamente positiva; en lepra lepromatosa, la reacción fué negativa. Como se vé el resultado de esta investigación fué paralelo a la de la lepromina de Mitsuda, y completamente diferente a la que se obtiene con el antígeno de *M. ulcerans*.

Consideraciones.—Los enfermos han respondido a los alergenicos clásicos como era de esperarse según el tipo de la enferme-

CUADRO 1.—Reacciones cutáneas a leprominas Mitsuda y Dharmendra y suspensiones de las cepas de *M. ulcerans*.

Alergeno	Día de observación							
	2	4	7	11	14	21	28	35
<i>Caso 1. Lepra tuberculoide</i>								
Mitsuda	2+	+ ^a	—	—	2+	2+	2+	----
Dharmendra	—	—	—	—	—	—	—	----
<i>M. ulcerans</i> , R. T.	—	—	—	1+ ^b	1+	1+	1+	----
<i>M. ulcerans</i> , S. F.	—	—	—	1+	1+	1+	1+	----
<i>Caso 2. Lepra tuberculoide (predominantemente neural)</i>								
Mitsuda	2+	—	—	1+	2+	2+	2+	2+
Dharmendra	2+ ^c	—	—	—	1+	1+	1+	1+
<i>M. ulcerans</i> , R. T.	2+	1+	1+	1+	2+	3+	3+	3+
<i>M. ulcerans</i> , S. F.	2+	1+	1+	1+	2+	3+	3+	3+
<i>Caso 3. Lepra lepromatosa</i>								
Mitsuda	—	—	—	—	—	—	—	----
Dharmendra	—	—	1+	—	—	—	—	----
<i>M. ulcerans</i> , R. T.	2+	+	2+	3+	3+	2+	2+	----
<i>M. ulcerans</i> , S. F.	2+	+	2+	3+	3+	2+	2+	----
<i>Caso 4. Lepra lepromatosa, tipo difuso de Lucio.</i>								
Mitsuda	4+ ^d	2+	1+ ^e	1+	1+	1+	—	—
Dharmendra	4+	2+	1+	1+	—	—	—	—
<i>M. ulcerans</i> , R. T.	4+	2+	1+	—	1+	2+	2+	2+
<i>M. ulcerans</i> , S. F.	1+	—	—	+	+	2+	2+	2+

a Ligero eritema.

b Pequeña pápula.

c A las 24 horas; negativo a las 48 horas.

d Confluencia del eritema en este día; fiebre 37 a 37.8°C.

e Brote leprótico; fiebre 39°C.

dad. En el caso de lepra lepromatosa difusa tipo Lucio, la reacción precoz intensa positiva llamada también reacción de Medina por Latapí y Chevez (2, 3) fué la usual, según estos autores. Difieren estos resultados de los obtenidos con los antígenos de *M. ulcerans* R. T. y S. F. con los cuales todos los pacientes reaccionaron igualmente como lo hubiera hecho la mayoría de los seres humanos normales, con cualquier suspensión antigénica de bacilos ácido-resistentes.

CONCLUSIONES

Los bacilos de las cepas R.T. y S.F. del *Mycobacterium ulcerans* procedentes de lesiones ulcerosas de pacientes observados en el distrito rural de Bairnsdale en Australia, parecen ser por sus caracteres morfológicos, tintoriales, culturales e inmunológicos diferentes del *M. leprae* y del *M. tuberculosis*.

Este trabajo constituye un aporte más para considerarlo como una especie distinta.

Las reacciones cutáneas obtenidas con antígenos de estos bacilos son completamente diferentes a las obtenidas con un antígeno hecho con material procedente de un caso Cubano de lepra lazarina ulcerosa; y por lo tanto, puede inferirse que la enfermedad de Bairnsdale y la lepra lazarina son afecciones distintas, con toda probabilidad.

CONCLUSIONS

Bacilli of the R.T. and S.F. strains of *Mycobacterium ulcerans*, originating from ulcerous lesions of patients seen in the rural district of Bairnsdale, Australia, appear to be—because of their morphological, tinctorial, cultural and immunological characteristics—different from both *M. leprae* and *M. tuberculosis*.

This study constitutes a further reason for considering *M. ulcerans* as a different species.

Cutaneous reactions to antigens of these bacilli are entirely different from those obtained with antigens made from material obtained from a Cuban case of ulcerous lazarine leprosy, and it may therefore be inferred that, in all probability, the Bairnsdale affection and lazarine leprosy are distinctly different diseases.

BIBLIOGRAFIA

1. CABALLERO, G. M. Sobre algunos casos de lepra desconocida entre nosotros y sobre la verdadera naturaleza de la chappa descrita en Cuba. *Vida Nueva* 21 (1928) 63.
2. LATAPÍ, F. y CHEVEZ ZAMORA, A. Lepra manchada de Lucio. *Mem. V Congr. Internac. Lepra, Havana, 1948; Havana, 1949, pp. 410-413.*

3. LATAPÍ, F. y CHEVEZ ZAMORA, A Interpretación actual de la lepra manchada de Lucio. Mem. V Congr. Internac. Lepra, Havana, 1948; Havana, 1949, pp. 1019-1024.
4. MACCALLUM, P., TOLHURST, J. C., BUCKLE, G. y SISSONS, H. A. A new mycobacterial infection in man. J. Path. & Bact. **60** (1948) 93-122.
5. PARDO-CASTELLÓ, V. y CABALLERO, G. M. Lepra lazarina. Arch. Dermat. & Syph. **23** (1931) 1-11.
6. PARDO-CASTELLÓ, V. y PIÑEYRO, R. Lazarine leprosy. Its position in the present classification of leprosy. Proc. Fourth Internat. Congr. Trop. Med. & Malaria, Dept. of State, Washington, D. C., Vol. 2, pp. 1314-1317.
- 7. PIÑEYRO RODRIGUEZ, R. Reacción de Mitsuda: Estudio histopatológico. Bol. Soc. cubana Dermat. y Sifil. **7** (1950) 1-16.

23.4