

MICOBACTERIACEAS DEL MEDIO AMBIENTE COLOMBIANO

POR GUILLERMO MUÑOZ-RIVAS

Presentado al VI Congreso Internacional de Leprología.

Madrid, 3 a 10 de octubre de 1953.

Basta conocer los trabajos de Soule y MacKinley (1), F. Solana y Gutiérrez Solana (2), de Hauduroy (3), Bergey (4), Souza Araujo (5), Vaudremer (6), Souza Lima (7), para darse una idea de las serias dificultades que encuentra el investigador que desea estudiar el cultivo del *Mycobacterium leprae*, dados el inmenso número de b. a. a. r. que se encuentran en la naturaleza y la carencia de técnicas especiales para su debida clasificación.

Interesados en los resultados que habían tenido en hemocultivos de leprosos Ota y Sato (8), Such (9) y Lleras Acosta (10) iniciamos hace 15 años nuestras investigaciones sobre los bacilos ácido alcohol resistentes, que pueden obtenerse no sólo de enfermos de lepra, sino en general del medio ambiente colombiano.

Todos los libros clásicos hacen mención de los gérmenes a. a. r. de la naturaleza, pero en general no hay datos que permitan clasificarlos; el laudable intento del Manual de Bergey apenas cubre unos pocos b. a. a. r. Hauduroy (11) tiene que conformarse con hacer un inventario y algunas descripciones de estos seres, y se ve obligado a numerarlos y colocarlos en orden alfabético. Podemos considerar que el estado actual de nuestros conocimientos de sistemática del género *Mycobacterium* son un tanto caóticos, y que dada su frecuencia en el medio ambiente, son de importancia ya que suelen producir paratuberculinas, que podrían llegar a falsear los resultados de Tuberculinas y Leprominas, cuando éstas no se hacen con proteínas puras.

Este trabajo tiene por finalidad informar a los interesados acerca de los resultados obtenidos por nosotros con material colombiano.

Para evitar confusiones debidas a las frecuentes disociaciones de estas bacterias, hemos trabajado rutinariamente en los medios de Hohn (12), Petragani (13) y Loewenstein (14), tratando siempre el material por el ácido sulfúrico al 10 por ciento y en los últimos tiempos prolongando su acción durante 45 minutos.

Los resultados obtenidos hasta la fecha son los siguientes:

MATERIAL PROVENIENTE DE LEPROSOS

Material sembrado	Nº de cultivos	Nº de cultivos +
Sangre	208	7
Leproma	108	0
Jugo ganglionar	92	0
Medula ósea	14	1
Moco nasal	62	0
Materias fecales	10	1
Total de cultivos	494	9

De los nueve cultivos obtenidos: ocho son cromógenos, lisos, húmedos, siete de hemocultivos y uno de médulocultivo. El aislado de materias fecales, es seco rugoso y no cromógeno, no tiene acción sobre el curi.

Los bacilos aislados de los hemocultivos, cuando se trasplantan rápidamente de velo a velo, se hacen secos y rugosos.

El aislado de medula, se comporta como los aislados de hemocultivo, en cuanto a la acción sobre el animal. Chala y Lleras Restrepo (15) aislaron otro bacilo que es igual al obtenido por nosotros.

Creemos que este germen es un saprófito banal como lo consideró Sáenz (16) y como nosotros lo informamos en otro estudio (17).

MATERIAL PROVENIENTE DE TUBERCULOSOS

Material sembrado	Nº de cultivos	Nº de cultivos +
Sangre	51	0
Expectoraciones bacilíferas . .	35	35 *
Expectoraciones sospechosas .	25	1
Orinas bacilíferas	38	38
Número total de cultivos . . .	149	74

* (M. tub.).

Prácticamente, siempre que hay baciloscoopia positiva, se obtiene cultivo de *M. tuberculosis*. En este material no fue posible aislar otra clase de b. a. a. r., pero bien sabemos cuánto se han desvalorizado los hallazgos microscópicos sin cultivo de confirmación, por la facilidad con que en otras partes algunos autores han aislado b. a. a. r. Sáenz (18) en hemocultivos, y Lester (19) quien de 1932 a 1936 aisló de material tuberculoso 130 cepas de b. a. a. r. saprófitos.

MATERIAL PROVENIENTE DE BOVIDOS PARATUBERCULOSOS

Material sembrado	Nº de cultivos	Nº de cultivos +
Deyecciones	2	2

Este grupo se empezó recientemente, con el *M. paratuberculosis* Johne; también se presentan dificultades culturales; entre nosotros, Albornoz (20) no ha podido aislarlo. Nosotros pudimos aislar de dos cultivos tres cepas, dos cromógenas y una acromógena, todas tres las consideramos como saprófitas, similares a las aisladas de material sano.

MATERIAL PROVENIENTE DE LEPRO DE LAS RATAS

Material sembrado	Nº de cul- tivos	Nº de cul- tivos +
Nódulos, sitios de inoculación	7	0
Sangre	7	0
Total de cultivos.	14	0

Se trata de muy pocos cultivos, porque solamente en diciembre del año pasado pudimos conseguir la cepa de Stefansky, gracias a la amabilidad del Director del Instituto Nacional de Higiene, doctor Abraham Afanador, a quien en esta oportunidad presentamos nuestros agradecimientos una vez más. La cepa en referencia es originaria del Instituto Pasteur, de París.

MATERIAL PROVENIENTE DE PERSONAS PRESUNTAMENTE SANAS DE LEPRO Y TUBERCULOSIS

Material sembrado	Nº de cul- tivos	Nº de cul- tivos +
Sangre	80	0
Materias fecales	50	1
Total de cultivos.	130	1

El germen obtenido de materias fecales es ligeramente cromógeno (amarillo), seco y rugoso. En la inoculación al curí se comporta como un b. a. a. r. saprófito.

MATERIAL PROVENIENTE DE RESTOS CADAVERICOS HUMANOS

Material sembrado	Nº de cul- tivos	Nº de cul- tivos +
<i>Restos óseos de leprosos:</i>		
De Agua de Dios.	7	7
De Caño de Loro.	2	2
De Contratación	4	2
<i>Restos óseos de sanos de lepra al morir:</i>		
Bóvedas de Bogotá.	20	20
Indígenas de Sogamoso	8	0
Indígenas de Chocontá.	2	0
Total de cultivos.	43	31

En este grupo llama la atención la ausencia de b. a. a. r. en los restos de los indígenas y la positividad de los restos sanos y leprosos, datos que invalidan algunas de las observaciones comunicadas sobre la presencia del b. de la tuberculosis y de la lepra en los cadáveres.

El germen aislado de casi todos los restos óseos, se presentó como especie nueva *Mycobacterium ovis* (Muñoz-Rivas, 1944) al Congreso de Microbiología de Río de Janeiro, 1950. Este germen es muy interesante biológicamente porque tiene la característica de conservarse entre cajas de latón con capacidad cultural hasta por diez años. Su acción sobre los animales es la misma de todos los b. a. a. r. banales.

MATERIAL PROVENIENTE DE AGUAS NEGRAS

ORIGEN DEL MATERIAL	Nº de cul- tivos	Nº de cul- tivos +	CEPAS AISLADAS	
			Acromógenas	Cromógenas
Ibagué	10	9	9	3
Agua de Dios.	8	8	4	7
Contratación	6	6	0	6
Medellín	2	1	1	0
Bogotá	12	11	8	6
Fontibón	2	2	2	0
Cajicá	2	1	0	1
Totales.	42	38	24	23

En este grupo se consiguen sobre 42 cultivos, 38 positivos y de éstos se obtienen 47 cepas de b. a. a. r.: 23 cromógenas y 24 acromógenas. El bacilo más estudiado de este grupo el Cr. No. 8, de Ibagué, que se comporta en forma idéntica a los obtenidos de

hemocultivos de leprosos, en cuanto se refiere a la acción sobre el animal (Fig. Nº 1) y la posibilidad de obtener antígenos metilicos que fijan el complemento en presencia de sueros leprosos (17).

MATERIAL PROVENIENTE DE APOSENTOS

(Polvo recogido superficialmente en los suelos de los dormitorios, en malas habitaciones)

ORIGEN DEL MATERIAL	Nº de cul- tivos	Nº de cul- tivos +	CEPAS AISLADAS	
			Acromógenas	Cromógenas
Bogotá	32	2	1	1
Cajicá	18	1	0	1
Tabio	6	1	0	1
Tenjo	4	0	0	0
Guateque	12	0	0	0
Guayatá	6	0	0	0
Mogotes	1	0	0	0
Medellín	5	0	0	0
Cartagena	2	0	0	0
Montería	2	0	0	0
Campo de la Cruz.	1	0	0	0

ORIGEN DEL MATERIAL

Tierras de ranchos con leprosos:

	Nº de cul- tivos	Nº de cul- tivos +	CEPAS AISLADAS	
			Acromógenas	Cromógenas
Leprocomio de Caño de Loro.....	12	0	0	0
Leprocomio de Contratación.....	96	22	22	0
Leprocomio de Agua de Dios.....	130	13	13	0
San Gil, Casa de Leproso.....	2	1	0	1
Ibagué, Casa de Leproso.....	1	0	0	0
Mogotes, Casa de Leproso.....	1	0	0	0
Totales.....	331	40	36	4

Como puede advertirse por los resultados de los cultivos, la frecuencia con que se aíslan b. a. a. r. no cromógenos de los suelos de los aposentos que ocupan leprosos es muy grande en relación con los aislamientos logrados en aposentos presuntamente libres de lepra. Es muy importante hacer resaltar que los resultados obtenidos en los tres leprosorios, no es igual. En Caño de Loro, no se consiguen cultivos, disminuyen en Agua de Dios, donde solamente se obtiene el 10 por ciento, y son muy frecuentes en Contratación, en donde llegan al 22 por ciento.

Este leprocomio está situado en uno de los mayores focos leprógenos de nuestro país. También es conveniente hacer saber que el mejor cultivo se obtuvo del polvo del Hospital de San Bosco, indudablemente el más contaminado.

Los bacilos aislados de este material son acromógenos en su mayoría, secos y rugosos, altamente fluorescentes y la mayoría dan la reacción de Dubos para virulencia negativa. Inoculados en los animales dan los resultados conocidos por todos los que han trabajado con b. a. a. r. saprófitos.

MATERIAL PROVENIENTE DE ANIMALES

ORIGEN DEL MATERIAL

	Nº de cul- tivos	Nº de cul- tivos +	CEPAS AISLADAS	
			Acromógenas	Cromógenas
Deyecciones de vacas.....	4	2	2	0
" " corderos	15	15	15	0
" " gatos	4	0	0	0
" " perros	4	0	0	0
" " gallinas	6	0	0	0
Escamas (patas congeladas de gallina).....	1	1	0	1
Deyecciones de gallinazos.....	14	3	3	0
" " palomos	2	0	0	0
" " ranas (Cajicá).....	8	2	0	2
" " sapos (Fusagasugá).....	9	1	0	1
Triturados de Limnea.....	10	2	1	1
" " Planorbis	10	3	2	1
" " Physa	10	1	1	0
" mosca doméstica.....	10	3	3	0
" Stomoxis calcitrans.....	2	1	1	0
" Lucilias	1	1	1	1
" Amblyoma cayenense.....	8	0	0	0
" Dermacentor nictens.....	5	1	0	1
" Ornithodoros rudis.....	13	0	0	0
" Cucarachas	6	4	4	0
" Rhodnius prolixus.....	16	0	0	0
" Pediculus capitis.....	14	0	0	0
" larvas Simulidae.....	2	0	0	0
" larvas Anophelinae.....	4	1	0	1
" larvas Culex.....	6	2	0	2
Totales.....	184	43	33	10

Los b. a. a. r. obtenidos en este grupo de animales son muy parecidos a los aislados de aguas negras. Los resultados de los cultivos en corderos llaman la atención, puesto que se consiguen en el 100 por 100 de los casos. Se trata de un bacilo grueso, fuertemente ácido resistente, de escasa fluorescencia, acro-

mógeno y de aspecto mucoide. En la actualidad nos ocupamos de estudiar si la presencia de este bacilo es una de las causas de que el 100 por 100 de los corderos den una falsa biológica de la reacción de Kahn.

MATERIAL PROVENIENTE DE ARTROPODOS VINCULADOS AL SUELO DE LA HABITACION

ORIGEN DEL MATERIAL	Nº de cul- tivos	Nº de cul- tivos +	CEPAS AISLADAS	
			Acromógenas	Cromógenas
<i>Pulgas capturadas en sitios presuntamente libres de infección leprosa:</i>				
<i>Pulex irritans</i> (Lotes de 50).....	25	0	0	0
<i>Ct. canis</i> (Lotes de 50).....	23	0	0	0
<i>X. cheopis</i> (Lotes de 4).....	2	0	0	0
<i>Ctenopsyllus segnis</i> (Lotes de 7).....	2	0	0	0
Larvas de pulgas (Lotes de 50).....	52	2	2	0
Totales.....	104	2	2	0
<i>Pulgas capturadas y alimentadas experimentalmente sobre lepromatosos:</i>				
<i>Pulex irritans</i> (Lotes de más de 50).....	10	2	2	0
<i>Pulex irritans</i> , provenientes de larvas experimentalmente infectadas	15	2	2	0
Larvas de pulgas experimentalmente infectadas con bacilos de leproma, lotes de 50. Algunos aislados.....	135	12	12	0
Totales.....	160	16	16	0
<i>Corrodentia</i> sin infectar.....	10	0	0	0
<i>Corrodentia</i> infectado con b. de leproma.....	15	2	2	0
<i>Tyroglyphidae</i> sin infectar.....	15	4	2	0
<i>Tyroglyphidae</i> infectado con b. de leproma.....	16	11	11	0
Totales.....	56	17	15	0

Este grupo de b. a. a. r. aislados de artrópodos tiene bastante interés, ya que se trata de seres que invaden las malas habitaciones y si bien cierto que de material no contaminado pueden aislarse b. a. a. r., el aislamiento se facilita cuando se infectan experimentalmente con bac'los de leproma.

En relación con los b. a. a. r. aislados de larvas de pulgas, nos llama la atención, el que los sacados de larvas normales, no dan la reacción de Dubos para virulencia, en cambio, los aislados cuando se infectan experimentalmente, siempre son Dubos positivos y estamos en capacidad de asegurar que esos bacilos no tienen relación con el *M. tuberculosis*.

Todos los gérmenes aislados de artrópodos tienen bastante interés, puesto que con el tiempo se ha acumulado una extensa bibliografía sobre el papel que los insectos y ácaros puedan desempeñar en la transmisión de la lepra.

Descontando 149 cultivos practicados en material tuberculoso, hemos practicado 1.560 cultivos para obtener b. a. a. r.: de éstos fueron positivos 199 que dieron un total de 207 cepas, 158 no cromógenas y 49 cromógenas. La mayoría de estas cepas (salvo las repetidas) se conservan en nuestra Mycobacterioteca. La clasificación sistemática de estos gérmenes es hasta el momento prácticamente imposible, desde luego hay algunos caracteres que fijan grupos, tales como su capacidad de crecer rápidamente o hacerlo lentamente, la fluorescencia, la reacción de virulencia de Dubos, el tipo de colonia sobre agar glicerinado con telurito, con subacetato; la reducción de los colorantes en los medios de cultivo, la utilización

del sorbitol. Las dificultades se acentúan por las frecuentes disociaciones, incluso de su pigmento, y la posibilidad de dar reacciones, incluso de su pigmento, y la posibilidad de dar reacciones cruzadas cuando se trabaja con proteínas derivadas de ellos. Consideramos que sería muy importante, para los investigadores de estos problemas, la creación de una Mycobacterioteca internacional, que inicie una clasificación que facilite en cualquier momento una consulta al respecto.

RESUMEN

El autor hace un resumen de los 1.560 ensayos de cultivos practicados para obtener b. a. a. r. de material leproso, aguas negras, barridos de los aposentos de leprosos y familias presuntamente libres de infección; deyecciones de aves, reses; artrópodos, etc. Llama la atención sobre la facilidad y constancia con que se aíslan de las aguas negras toda una serie de b. a. a. r. muy semejantes a los obtenidos por varios investigadores de material leproso.

Insinúa que las dificultades de una clasificación exacta, aumentadas por las frecuentes disociaciones de los gérmenes, hacen que el problema sea árduo, y recomienda que los investigadores del Bacilo de Hansen tengan siempre presente la facilidad con que pueden obtenerse contaminaciones que los desorienten.

Propone la creación de una Mycobacterioteca internacional y hacer un esfuerzo por encontrar técnicas que permitan clasificar debidamente los innumerables b. a. a. r.

BIBLIOGRAFIA

- 1 Soule y McKinley—**Cultivation of B. Leprae with experimental lesions in Monkeys.** Am. J. of Trop. Med. 12, 1932, Nº 1.
- 2 Federico Solana y Gutiérrez-Solana—**Sobre el cultivo "in vitro" del B. de Hansen.** Medicina de los países cálidos—Año VIII Nos. 4-5-6, 1935.
- 3 Hauduroy Paul—**Inventaire et description des bacilles paratuberculeux.** Masson, 1946.
- 4 Bergey, Bergey—**Manual of determinative Bacteriology,** by R. Beed, E. G. D. Murray A. Parker Hitchens—The Williams & Wilkins Company, 1948.
- 5 Souza Araujo—**Poderá o carrapato transmitir a lepra?** Mem. Int. Oswaldo Cruz, T. 36, Fasc. 4, 1941.
Souza Araujo H. C.—**Cultura cromogénica dum bacilo a. a. r. isolado de pus de lesao fochada de lepra humana.** Mem. Int. Oswaldo Cruz, T. 37, Fasc. 1, 1942.
Souza Araujo H. C.—**Culturas de bacilos a. a. r. isolados de hemotófagos infectados em leprosos. Evidencias de se tratar do B. de Hansen.** Mem. Inst. Oswaldo Cruz, T. 40, Fasc. 1, 1944.
- 6 Vaudremer—C R. Soc. Biol. 109, 1931.
- 7 Souza Lima, Moacyr—**Cultura do Mycobacterium leprae.** Rev. Brs. Leprol. Vol. V, Junio, No. 2, 1937.
- 8 Ota y Sato—C. R. Soc. Biol 107, 1,062, 1931.
- 9 Such—Publicaciones oficiales de la C. P. I. S., 1933.
- 10 Lleras Acosta, Federico—Rev. Fac. Med. Bogotá. Nos. 1 2. Vol. 5.
- 11 Hauduroy—Loc. Cit.
- 12 Hohn—Citado por Sonnenschein Curt. Zeitschrift für Tuberculose—1930, p. 123.
- 13 Petragnani—Bull Int. Sierot Milanese, Fasc. 3, junio, 1926.
- 14 Loewenstein E.—**Bacteriological Diagnosis of leprosy by means of blood culture.** Int. Jour. of Leprosy—Jan. Vol. I, No. 1, 1933, pág. 39.
- 15 Chala J. I., Lleras Restrepo F.—**Tratamiento en la lepra. Sueroterapia antileprosa.** Rev. Col. de Leprol. Vol. 3, Nos. 1 y 2, 1941.
- 16 A. Sáenz—Presentación de M. Marchoux—Acad. de Med. París, Sesión 24 Mayo, 1938.
- 17 Muñoz-Rivas Guillermo—**El Hemocultivo en la Lepra.** Bol. Lab. Muñoz-Rivas, Nov. 1946, Bogotá, Edit. Cromos.
- 18 Sáenz—C. R. Soc. Biol., 1933, T. 112, pág. 436.
- 19 Lester—Acta tuberculosa scandinávica, 1939, T. 13, Nos. 3-4, Pág. 251.
- 20 Albornoz—Comunicación personal.



Macaco inoculado con B. Cr. No. 8, Ibagué (Agua Negra)