

Sobre algunas características antigénicas de micobacterias aisladas en cultivo a partir de material lepromatoso: viraje de Mitsuda en pacientes L. L. y contactos

Dres.
Ennio Ferreira ¹
César Barroso ²
Romer Fernández ³
Alexis Ilukevich ⁴

INTRODUCCION

En nuestro trabajo anterior hemos participado sobre algunas particularidades bacteriológicas de bacilos alcohol-ácido-resistentes aislados por uno de nosotros (4) (6) (8) a partir de pacientes leproso. Nos hemos referido en particular a la cepa bacilar denominada "Zulia" (5) cultivable "in vitro", a la que hemos considerado de utilidad para el diagnóstico serológico de la enfermedad de Hansen (7). Además, hemos observado que el aspecto histopatológico de las lesiones cutáneas experimentales en el hom-

* Trabajo galardonado con el premio "César Lizardo" correspondiente al mejor trabajo libre de carácter científico presentado durante la XI Reunión Anual de la Sociedad Venezolana de Dermatología y III Congreso Bolivariano de Dermatología, Maracaibo 22 al 25 de noviembre de 1975.

1 Profesor de Anatomía Patológica. Facultad de Medicina, Universidad del Zulia. Jefe de Departamento de Anatomía Patológica del Hospital Central de Maracaibo.

2 Profesor de la Cátedra de Dermatología. Facultad de Medicina, Universidad del Zulia. Médico Dermatopatólogo del Hospital Central, Maracaibo.

3 Médico Coordinador de los Servicios de Dermatología Sanitaria del Estado Zulia. Ministerio de Sanidad y Asistencia Social.

4 Profesor Jefe del Departamento de Enfermedades Transmisibles de la Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad del Zulia.

bre, usando bacilos muertos, muestra granulomas epiteloides y gigantes celulares, testimonio de la acción inmunizante, lo que es lo mismo, manifestación de la resistencia despertada por la inoculación, tal como fue interpretada por de Souza Araujo (12).

Hemos señalado también que, dentro de la clasificación que fuese, la micobacteria en cuestión inyectada a pacientes con lepra lepromatosa, simultánea o posteriormente a la lepromina clásica, origina reacciones positivas para ambos antígenos usados, es decir, provoca un viraje inmunológico muy significativo que hoy por hoy se intenta de obtener mediante repetidas aplicaciones de B.C.G. en individuos Mitsuda negativos (1) (3) (10). Dicho viraje según Katz y colaboradores (9) puede ser interpretado como manifestación de la capacidad linfocitaria de producir el factor de migración de macrófagos, fenómeno que indica una reactividad inmunológica positiva. Por otra parte, Saint-Andre y Bueno Numez (11) señalan que en sujetos Mitsuda negativos en general y, en pacientes lepromatosos en particular, existe un déficit de inmunidad celular específica para el **Mycobacterium leprae**, deficiencia relacionada con la tolerancia de los linfocitos correspondientes. Esta inmunidad celular puede ser estimulada mediante aplicación parenteral de antígenos poderosos, tales como B.C.G., suspensiones de **Neisseria perflava** y otros.

El propósito del presente trabajo fue averiguar la capacidad de nuestro antígeno de originar el viraje de la reacción de Mitsuda en sujetos negativos para la misma.

MATERIAL Y METODOS

Nuestros ensayos abarcan los 4 grupos siguientes:

Grupo I: 28 pacientes adultos, de ambos sexos, diagnosticados clínica e histológicamente como lepromatosos (LL), Mitsuda negativos.

Grupo II: 10 pacientes adultos, diagnosticados clínica e histológicamente como enfermos hansenianos del tipo tuberculoide (LT), Mitsuda positivos.

Grupo III: 7 contactos (niños de 7 a 14 años de edad), Mitsuda negativos.

Grupo IV: 26 contactos (niños de 6 a 15 años de edad), Mitsuda negativos.

Todos los integrantes de los primeros tres grupos mencionados fueron inoculados con nuestro antígeno (0,1 ml. por vía intradérmica) constituido por una suspensión de bacilos alcohol-ácido-resistentes cultivados a partir de lesiones lepromatosas (cepa bacilar denominada Zulia I), muertos a calor (autoclavizados) y a concentración de $10^6 \times 16$ de bacilos por cada c.c. de la solución salina isotónica, y sometidos a la prueba simultánea o inyección posterior (de 1 a 3 meses) con lepromina clásica de producción nacional (en el antebrazo opuesto al sitio de aplicación del Antígeno Zulia).

Las lecturas se practicaron, en cada uno de los casos, a los 3 días y luego a los 21 días de la inoculación con el antígeno correspondiente.

Los sujetos reunidos en el grupo IV fueron ensayados con fines comparativos, aplicándoles B.C.G. (0,1 ml. a 0,2 ml. por vía intradérmica), en sustitución de nuestro antígeno. La inyección de B.C.G. fue repetida con intervalos de 3 meses (hasta 3 repeticiones consecutivas, en algunos casos) con el fin de obtener el viraje inmunológico mencionado.

Se utilizó el B.C.G. líquido, producto empleado rutinariamente por los Servicios Antituberculosos y Antileproso de Venezuela, según la técnica indicada por Delgado Blanco y Quevedo Segnini (2).

RESULTADOS OBTENIDOS

Los resultados obtenidos en nuestros experimentos son resumidos en los siguientes cuadros No. 1, 2, 3 y 4.

De los cuadros No. 1, No. 2 y No. 3 se desprende que la aplicación intradérmica del ANTIGENO ZULIA, tanto en sujetos negativos para la prueba de Mitsuda (integrantes de los grupos I y III) como en los individuos lepromino positivos del grupo II, origina fuertes reacciones locales en su fase temprana (equivalente a la de Fernández) y especialmente en la etapa tardía (correspondiente al tipo de la reacción tardía de Mitsuda).

Por otra parte, se hace notorio que en 24 de los 28 pacientes LL del Grupo I y en 5 de los 7 contactos, todos inicialmente Mitsuda negativos, se presentó un inminente viraje de los valores inmunológicos, inducido por la aplicación del Antígeno Zulia y manifiesto por la aparición de reacciones positivas a la lepromina clásica.

CUADRO No. 1
 RESULTADOS DE LA PRUEBA DE MITSUDA DESPUES DE LA APLICACION INTRADERMICA DEL ANTIGENO ZULIA, EN PACIENTES LEPROMATOSOS.

No.	Paciente LL (Mitsuda neg)	Antígeno Zulia (Aplicación única)		Lepromina (Segunda prueba)	
		R. tempr.	R. tardía	R. tempr.	R. tardía
1	A.B.	x	xxx	x	xx
2	F.T.	x	xxx	-	x
3	M.G.B.	x	xxx	x	xx
4	M.C.	-	xx	-	-
5	P.C.	x	xxx	x	xx
6	A.A.A.	xx	xx	-	x
7	M.C.U.	x	xxx	x	xx
8	J.M.	x	xxx	x	xx
9	C.A.	-	x	-	-
10	M.Ch.	x	xxx	x	x
11	J.L.	-	xx	-	x
12	J.S.R.	xxx	xx	x	x
13	S.B.	x	xxx	x	xx
14	R.R.	xx	xxx	x	xx
15	J.T.	x	xxx	x	xx
16	P.C.	xx	xxx	x	xx
17	J.C.	x	xx	-	xx
18	C.A.	-	xxx	-	-
19	P.A.	x	xxx	-	xx
20	P.G.	xx	xxx	-	xx
21	J.M.	xx	xx	x	xx
22	F.V.	xx	xxx	x	x
23	J.S.	xx	xx	x	xx
24	C.G.F.	x	xxx	-	xx
25	M.G.	xx	xxx	-	xx
26	J.B.	xxx	xxx	x	xxx
27	F.D.	xxx	xxx	x	xx
28	D.V.	x	xx	-	-

CUADRO No. 2
 RESULTADOS DE LA PRUEBA DE MITSUDA ENSAYADA SIMULTANEAMENTE CON EL ANTIGENO ZULIA EN PACIENTES LT, POSITIVOS A LA PRUEBA DE LEPROMINA

No.	Paciente LT (Mitsuda positivo)	Antígeno Zulia		Lepromina	
		R. temprana	R. tardía	R. tempr.	R. Tardía
1	G.P.M.	x	xxx	-	xx
2	V.E.B.	xx	xxx	x	xx
3	M.O.B.	xx	xxx	-	xx
4	L.U.	x	xxx	x	xxx
5	A.E.F.	xx	xxx	x	xx
6	I.A.N.	xx	xxx	x	xxx
7	M.T.	x	xx	-	x
8	J.A.P.	xx	xxx	x	xx
9	E.F.M.	xxx	xxx	xx	xxx
10	M.U.F.	x	xxx	x	xx

CUADRO No. 3
 RESULTADOS DE LA PRUEBA DE MITSUDA ENSAYADA SIMULTANEAMENTE CON EL ANTIGENO ZULIA EN CONTACTOS, NIÑOS DE 7 A 14 AÑOS DE EDAD, NEGATIVOS A LA PRUEBA DE LEPROMINA

No.	Contacto (Mitsuda negativo)	Antígeno Zulia		Lepromina	
		R. Temprana	R. tardía	R. temprana	R. tardía
1	A.J.I.	xx	xxx	x	xx
2	G.R.	x	xx	-	-
3	S.F.	xxx	xxx	x	xx
4	R.F.	xx	xxx	x	xx
5	A.S.	xx	xxx	x	xx
6	E.G.F.	x	xx	-	x
7	S.F.L.	xx	xxx	x	-

He aquí, el cuadro No. 4, en el cual hemos expuesto los resultados obtenidos en nuestras experiencias comparativas, donde se utilizó el B. C. G. en vez del Antígeno Zulia.

CUADRO No. 4
EL EFECTO DEL B.C.G. SOBRE EL VIRAJE DE LA REACCION DE
MITSUDÁ EN CONTACTOS (NIÑOS DE 6 a 15 AÑOS DE EDAD)
NEGATIVOS A LA PRUEBA DE LEPROMINA

No.	Contacto (Mitsuda neg.)	B.C.G. (Número de aplicaciones)	Viraje a Mitsuda positivo
1	M.G.S.	3	no
2	G.S.Ch.	3	no
3	A.R.	3	no
4	N.R.	3	no
5	E.S.	3	no
6	M.G.	3	sí
7	H.H.	3	sí
8	A.M.M.	3	sí
9	A.J.	3	sí
10	A.S.	2	sí
11	A.B.	2	sí
12	A.L.	2	sí
13	M.M.	1	sí
14	E.C.	1	sí
15	B.B.S.	1	sí
16	M.P.	1	sí
17	L.P.	1	sí
18	N.P.H.	1	sí
19	C.C.	1	sí
20	M.J.	1	sí
21	A.B.F.	1	sí
22	J.B.	1	sí
23	B.S.	1	sí
24	D. de la T.	1	sí
25	R.A.	1	sí
26	C.M.	1	sí

Descripción de los signos (cuadros No. 1, No. 2 y No. 3):

- R = reacción.
 x = reacción débilmente positiva
 xx = reacción íntensamente positiva.
 xxx = reacción muy íntensamente positiva.
 — = reacción ausente.

En el cuadro No. 4 se puede observar que de los 26 contactos vacunados con la única dosis de B.C.G., solamente 14 (casos 13 a 26) habían virado su Mitsuda a positivo, mientras 12 (casos 1 a 12) persistían negativos. Una segunda vacunación con B.C.G., en estos 12, originó un viraje en 3 niños (casos 10 a 12) y 9 (casos 1 a 9) seguían negativos. Después de la tercera y última vacunación en estos 9, el Mitsuda se viró en 4 casos (No. 6, 7, 8 y 9), mientras 5 (No. 1, 2, 3, 4, y 5) persistían negativos.

CONSIDERACIONES FINALES

El hecho de que la aplicación intradérmica de nuestro antígeno sea capaz de despertar la propiedad de reaccionar positivamente a la inyección intradérmica de lepromina en sujetos Mitsuda negativos, tanto en pacientes L.L. como en contactos de "baja resistencia," nos permite opinar que el fenómeno mencionado obedece a la aparición de mecanismos defensivos en individuos en los cuales estos estaban bloqueados.

Basándose en el concepto de que "VACUNAR CONTRA LEPROA NO ES INOCULAR B.C.G. SINO COMPROBAR QUE MITSUDA HA VIRADO" (10), podemos considerar que el inóculo bacteriano obtenido en cultivo "in vitro" a partir de pacientes lepromatosos y denominado ANTIGENO ZULIA, se destaca ampliamente por su capacidad de convertir a los pacientes lepromatosos y contactos lepromina negativos, en sujetos reactivos positivos a la prueba de Mitsuda.

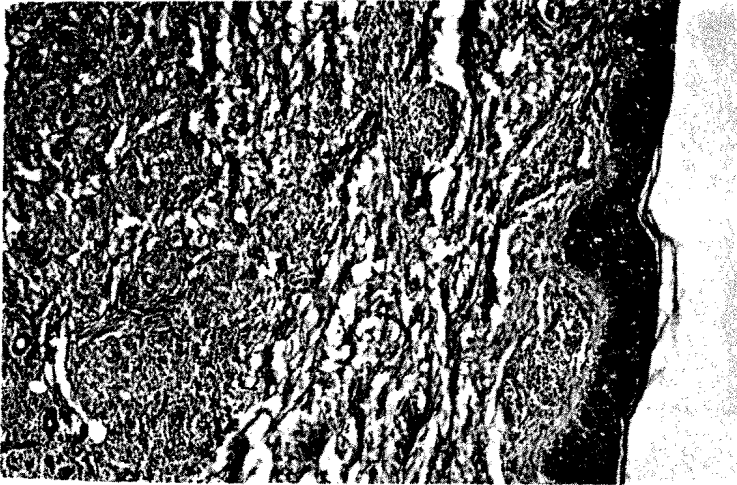
Finalmente queremos señalar las ventajas y conveniencias del uso de un antígeno de esta naturaleza frente al B.C.G.:

- 1) Facilidad de preparación, control y mantenimiento.
- 2) Reducción del riesgo de infecciosidad antigénica ya que se utilizan bacilos muertos por el calor.
- 3) Menor número de aplicaciones necesarias para conseguir el viraje inmunológico.

4) El bajo costo de producción del antígeno en referencia.

5) Mejor especificidad antigénica por tratarse de microorganismos aislados a partir de material lepromatoso humano y NO de una cepa bacteriana de procedencia bovina, como es el Bacilo de Calmette-Guérin, ampliamente conocido con el nombre de B.C.G.





Infiltración de tipo lepromatoso en la piel después de la inoculación con antígeno Zulia.

RESUMEN

Basándose en el concepto de que "vacunar contra la lepra no es inocular B.C.G., sino comprobar que Mitsuda ha virado", los autores exponen sus experiencias con los 4 siguientes grupos de sujetos:

Grupo I: 28 pacientes lepromatosos (LL), Mitsuda negativos.

Grupo II: 10 pacientes tuberculoides (LT), Mitsuda positivos.

Grupo III: 7 contactos (niños de 7 a 14 años de edad), Mitsuda negativos.

Grupo IV: 26 contactos (niños de 6 a 15 años de edad), Mitsuda negativos.

A los integrantes de los primeros 3 grupos mencionados se les aplicó el Antígeno Zulia, constituido por una suspensión bacilar de micobacterias aisladas en cultivo a partir de pacientes lepromatosos (0,1 ml. por vía intradérmica), y simultáneamente, o de 1 a 3 meses después, se les sometió a la prueba clásica de Mitsuda.

A los contactos reunidos en el Grupo IV y ensayados con fines comparativos, se les aplicó B.C.G., en sustitución del Antígeno Zulia.

Estos ensayos demostraron que en 24 de los 28 pacientes L.L. (Grupo I), y en 5 de los 7 contactos (Grupo III), todos inicialmente Mitsuda negativos, se presentó un inminente viraje de los valores inmunológicos, fenómeno inducido por la aplicación del Antígeno Zulia y manifiesto por la aparición de reacciones positivas a la lepromina clásica.

Por otra parte se hizo notorio que de los 26 contactos vacunados con la única dosis de B.C.G., solamente 14 habían virado su Mitsuda a positivo.

Los autores suponen que el "viraje" mencionado es una expresión de mecanismos defensivos en individuos en los cuales estos estaban bloqueados (probablemente por desaparición de la capacidad linfocitaria de producir el factor de migración de macrófagos) y señalan que el Antígeno Zulia se destaca ampliamente por su capacidad de convertir a los sujetos Mitsuda negativos en sujetos Mitsuda positivos.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1 – CONVIT, J.: Studies of leprosy in the German ethnic group of colony Tovar, Venezuela. V – The morbidity rates in B.C.G. vaccinated and unvaccinated groups during five years. *Internat. J. Leprosy*, **24**:269-274, 1956.
- 2 – DELGADO BLANCO, J. y Quevedo Segnini, L.: Estudios sobre alergia tuberculínica y B.C.G., Ed. Instituto Nacional de Tuberculosis, Caracas, 1963.
- 3 – FERNANDEZ, J.M.M.: The use of B.C.G. in leprosy, *Internat. J. Leprosy*, **30**:332-337, 1962.
- 4 – ILUKEVICH, A. y Convit, J.: El cultivo de micobacterias a partir de pacientes leprosos. Reunión Anual de Dermatología, Hospital Universitario, Caracas, 24-25 de junio de 1966.
- 5 – ILUKEVICH, A., Barroso, C. y Hómez, J.: Cultivo e inoculación experimental de una micobacteria aislada de un caso de lepra lepromatosa reaccional. V Reunión Anual de Dermatología. Hogar Clínica San Rafael, Maracaibo, 19-24 de junio de 1969.
- 6 – ILUKEVICH, A.: Sobre el aislamiento de micobacterias a partir de pacientes leprosos. Particularidades bacteriológicas y el poder patógeno de las cepas cultivadas en medios artificiales. *Kasmera (Maracaibo)*, **3**: 111-139, 1969.
- 7 – ILUKEVICH, A.: Antigenic properties of some mycobacterial strains isolated and cultivated from leprosy tissue. *Internat. J. Leprosy*, **39**:581-584, 1971.
- 8 – ILUKEVICH, A., Ferreira, E., Barroso, C. y Fernández, R.: Consideraciones sobre la etiología de la enfermedad de Hansen. *Rev. de Leprología Fontilles (España)*, **9**:1-17, 1973.
- 9 – KATZ, S. L., Debetz, B. H. and Zaias, N.: Production of macrophage inhibitory factor by patients with leprosy. *Arch. Der.*, **103**: 358-361, 1971.

- 10 – PEREZ PEREZ, B. : Profilaxia antileprosa en países de pequeña endemia. El B.C.G en la profilaxia de la lepra. Rev. de Leprología Fontilles (España), **9**: 559-629, 1974.
- 11 – SAINT-ANDRE, P. y Bueno Numez, A. M.: La lepra. Problemas inmuno-alérgicos. Med. Trop., **35**:7-15, 1975.
- 12 – SOUZA ARAUJO, H. C. de: Experiments in immunology of leprosy by means of inoculation of patient with living and dead suspensions of acid-fast bacilli cultures. Departamento de Imprensa Nacional, Rio de Janeiro, Brasil, 1959.