

LA CITOESTRUCTURA DEL *Mycobacterium leprae* EN PELLET Y VACUOLAS FAGOCITICAS DEL NODULO HANSENIANO ACTIVO

Dra. I. Campo-Aasen*
Dr. J. Convit**
Dra. N. Aranzazu***

* Jefe del Laboratorio de Histoquímica
** Director del Instituto de Biomedicina
*** Profesor Asistente de Dermatología

Instituto de Biomedicina, Facultad de Medicina
Universidad Central de Venezuela

RESUMEN

Se hace estudio ultraestructural del bacilo de Hansen a 20.000 x en pellet y en vacuola del nódulo hanseniano activo. Se observa su pared celular, membrana plasmática mesosoma y nucleóide. En su citoestructura no se diferencia de otras bacterias ya sean éstas Gram positivas o Gram negativas. Sólo la diferencia su ácido resistencia la cual le da sus características tintoriales especiales

ABSTRACT

A structural study of *Mycobacterium leprae* is made at a magnification of 20.000 x. We make the observation of the cell wall, the plasmatic membrane, the mesosome and the nuclear body, similar to other bacteria. Only the tintorial characteristic due to alcohol acid resistance defines the difference with Gram positive or Gram negative bacteria.

PALABRAS CLAVES: *Mycobacterium leprae*. Ultraestructura bacilar hanseniana.

INTRODUCCION

El *Mycobacterium leprae* (ML) agente causal de la infección hanseniana ha sido estudiado por sus características de oxidación del 3-4-dihydroxyphenylalanine¹ técnica que ha sido criticada con respecto a su especificidad² y también por resultados negativos en nuestro laboratorio.³ Hemos utilizado el procedimiento de Baker para fosfolípidos,⁴ método fácil para la identificación y diferenciación de dos micobacterias no cultivables, *Mycobacterium leprae* y *Mycobacterium lepraemurium*, siendo el ML la única micobacteria no cultivable que produce una coloración definida con este método. Se ha utilizado la hextracción con piridina⁵ la cual elimina la ácido resistencia y por último se fía utilizado el estudio ultraestructural del ML en su identificación y reconocimiento en el interior de vacuolas fagocíticas y en el ci-

toplasma de la célula huésped no hipersensible.^{6,7}

En este trabajo se hace estudio ultraestructural del bacilo obtenido de pellet de nódulo de paciente y de "globos" en el interior de células hansenianas en pacientes de lepra lepromatosa.

MATERIAL Y METODOS

Se obtiene nódulo, 0,5 cm. de tamaño, de paciente de lepra lepromatosa (LL), sin tratamiento. Se divide en dos partes, una para el "pellet" de bacilos y la otra para el estudio del bacilo en el tejido. El pellet se obtuvo rompiendo previamente la parte del nódulo con bisturí y tijeras y luego centrifugando a 1500 g. x 10 m. en centrífuga de Fisher modelo 57. Se deshecha el sobrenadante y se utiliza el macerado para la obtención del pellet, el cual se procesa para M.E. siguiendo los procedimientos habituales. Se postfija en os-

mio al 1% x 1 hora, se lava por 2 veces en agua destilada, se deshidrata en alcoholes y en óxido de propileno x 15 m. cada vez. El pellet obtenido se polimeriza e impregna en Epon. Se hacen cortes del pellet y se observan a 20.000 x. El mismo procedimiento se utilizó para el tejido obtenido del nódulo.

DISCUSION

La ultraestructura del ML refleja exactamente la estructura bacteriana caracterizada por una envoltura celular constituida por una pared celular, una membrana plasmática y un mesosoma y estructuras cromosómicas fibrilares o cuerpo nuclear o nucleóide. A la magnificación de 20.000 x no observamos otras características de la estructura bacteriana tales como inclusiones o gránulos de almacenamiento o volutina, ribosomas, etc. Si observamos el

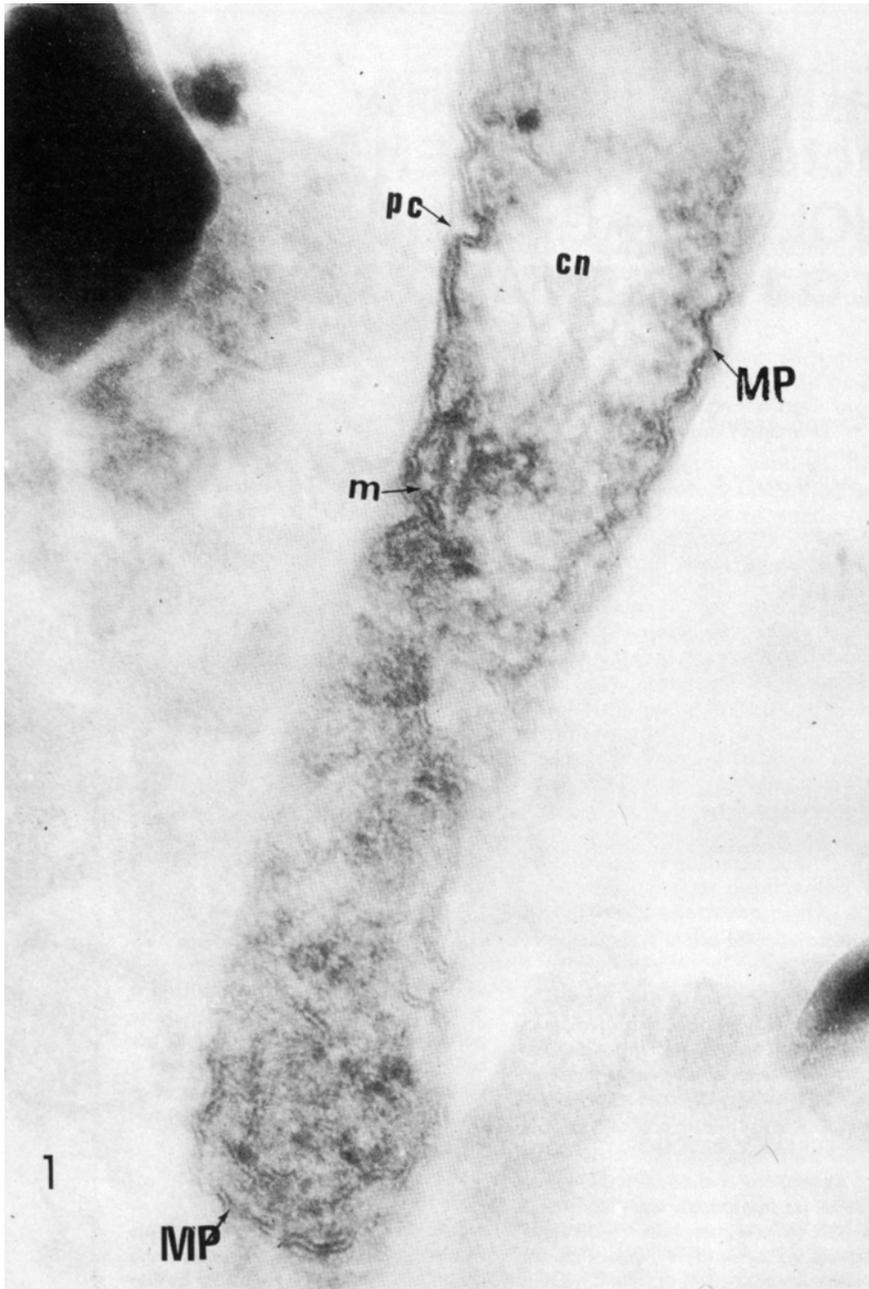


Fig. 1. Pellet. ML. 20.000x. Corte de bacilo en sección longitudinal. Muestra pared celular (pc) en extenso complejo de membrana plasmática (MP) en su citoplasma, esbozo de mesosoma (m), espacio claro atravesado por fibrillas longitudinales en su parte superior y relacionado al cuerpo nuclear (cn).

mesosoma en división y la presencia de "globos" que indican crecimiento activo en el citoplasma del huésped así como plasmolisis bacilar.^{8, 9}

Hemos hecho la observación de ML del pellet y de un nódulo de paciente con enfermedad activa no tratada. Creemos que se trata de un estado activo, debido a la actividad de la membrana plasmática y de los mesosomas en los cuales se produce la división celular.^{8, 9} Además hemos observado crecimiento bacteriano dentro de la vacuola fagocítica y bacilos libres en contacto directo con el citoplasma del huésped y por lo tanto activación del crecimiento posiblemente después de la ruptura de la membrana fagocítica del citoplasma, hechos que nos indican actividad de la infección hanseniana en el momento del estudio. Podemos concluir que la ML del pellet y del tejido del nódulo corresponden a la actividad clínica observada en el paciente.

Otras características bioquímicas, la actividad serológica antigénica, la tipificación con bacteriófagos, la patogenicidad para animales de laboratorio, la caracterización genética, la sensibilidad a los antibióticos o sea las múltiples propiedades generales que se estudian en la identificación de bacterias no se realizaron en este trabajo, habiéndose limitado sólo a la citoestructura de la micobacteria, la cual se presenta similar a la de otras bacterias.

Podemos llegar a la conclusión que por el hecho de ser lipófilas y por poseer características de ácido resistencia producidas por la naturaleza química de la estructura de la envoltura celular, estos caracteres siguen dando al ML la única distinción característica diferencial con otras bacterias ya sean éstas Gram positivas o Gram negativas.⁹

AGRADECIMIENTO

Este trabajo fue parcialmente financiado por el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICIT) Proyecto S1-15.82 y por el Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la U.C.V., Proyecto M-09-16.82. Se agradece también la asistencia técnica de Z. Cova y N. Ghersi.

BIBLIOGRAFIA

1. Prabhakaran, K., Kirchheimer, W.F.- Use of 3-4-dihydroxyphenilalanine oxidation in the identification of Mycobacterium leprae. J. Bact. 92: 1267-1268, 1966.

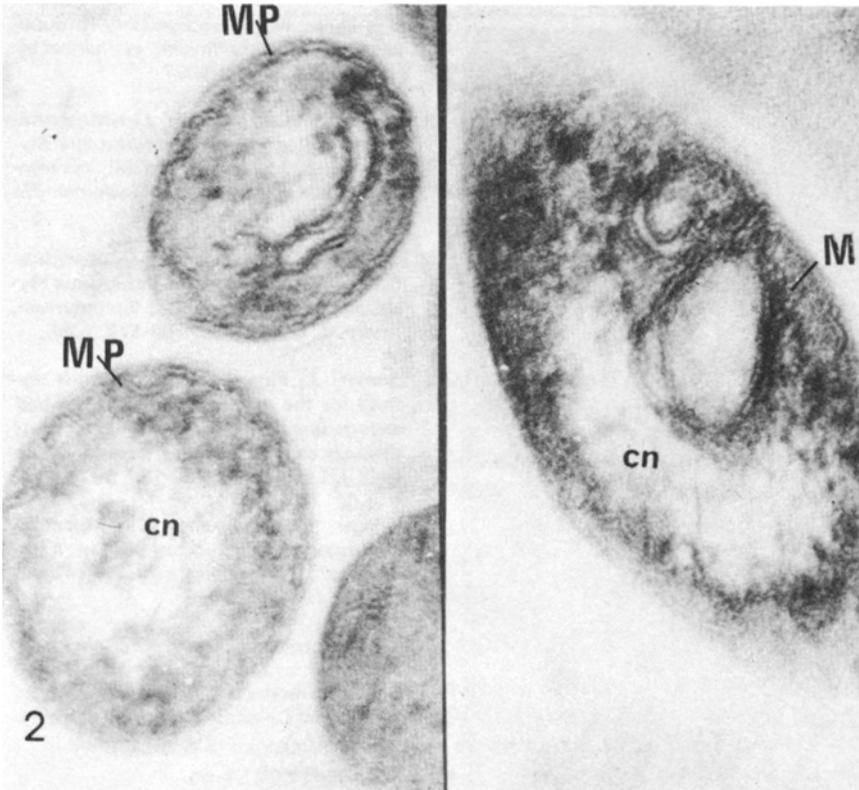


Fig. 2. Pellet. ML. 20.000x. Corte transversal de 3 micobacterias. Los sistemas de membranas desarrollados a partir de la membrana plasmática (MP), se observan claramente en la fotografía izquierda. En la fotografía del lado derecho se observa el mesosoma (m).

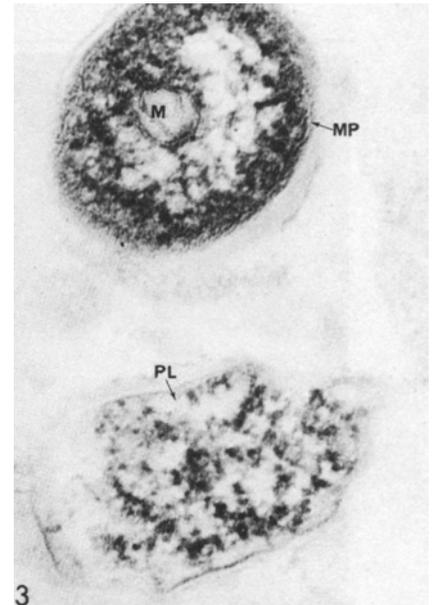


Fig. 3. Pellet. ML. Corte transversal. 20.000x. Se observa en la parte superior de la fotografía un bacilo con su membrana plasmática (MP), mesosoma (m). En la parte inferior se observa un bacilo en plasmolisis (PL).

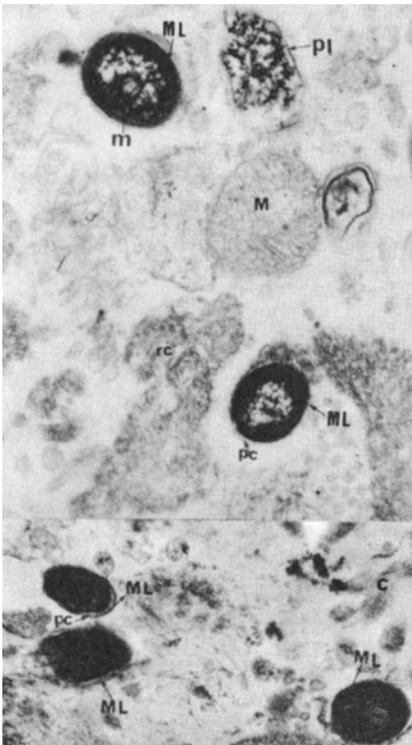


Fig. 4. Pellet. ML. 20.000x. Composición fotográfica. Se observan fibras conjuntivas desintegradas (c), restos celulares granulosos y fibrilares (rc), MI íntegros y plasmolisis (pl) con membrana plasmática, mesosoma y pared celular. Se observa también plasmolisis de bacilos (pl), mitocondria (m) del tejido, nucleolide (nc).

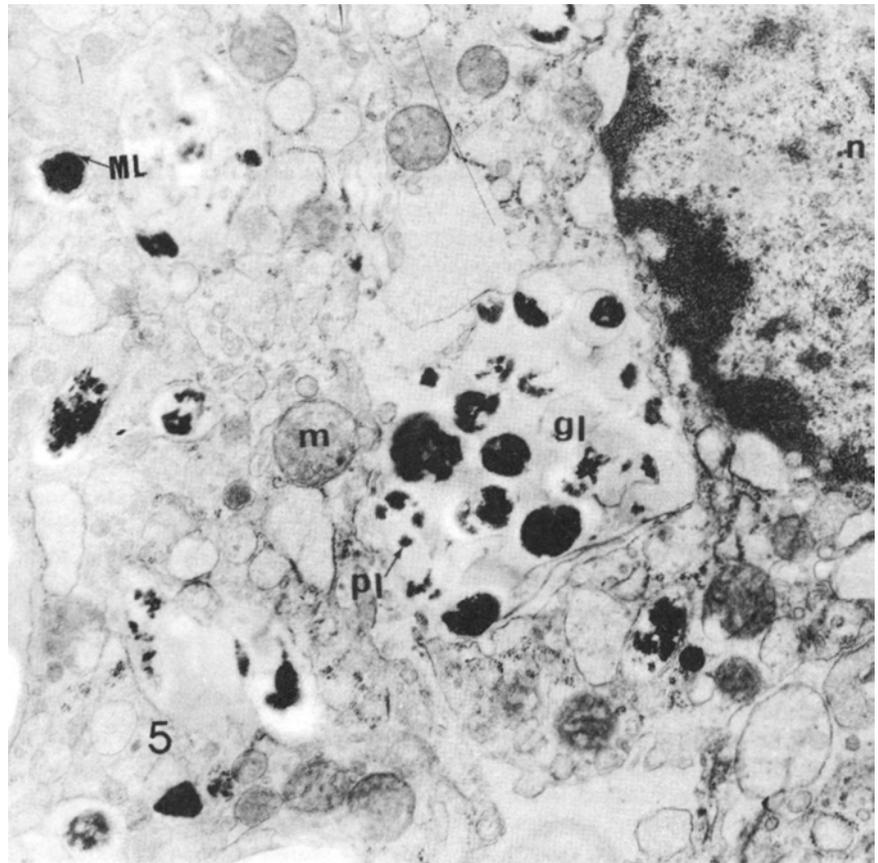


Fig. 5. Corte de nódulo, ML 20.000x donde se observa el núcleo de (a célula (n), un globi (gl) y bacilos aislados ML en el citoplasma celular, mitocondria (m).

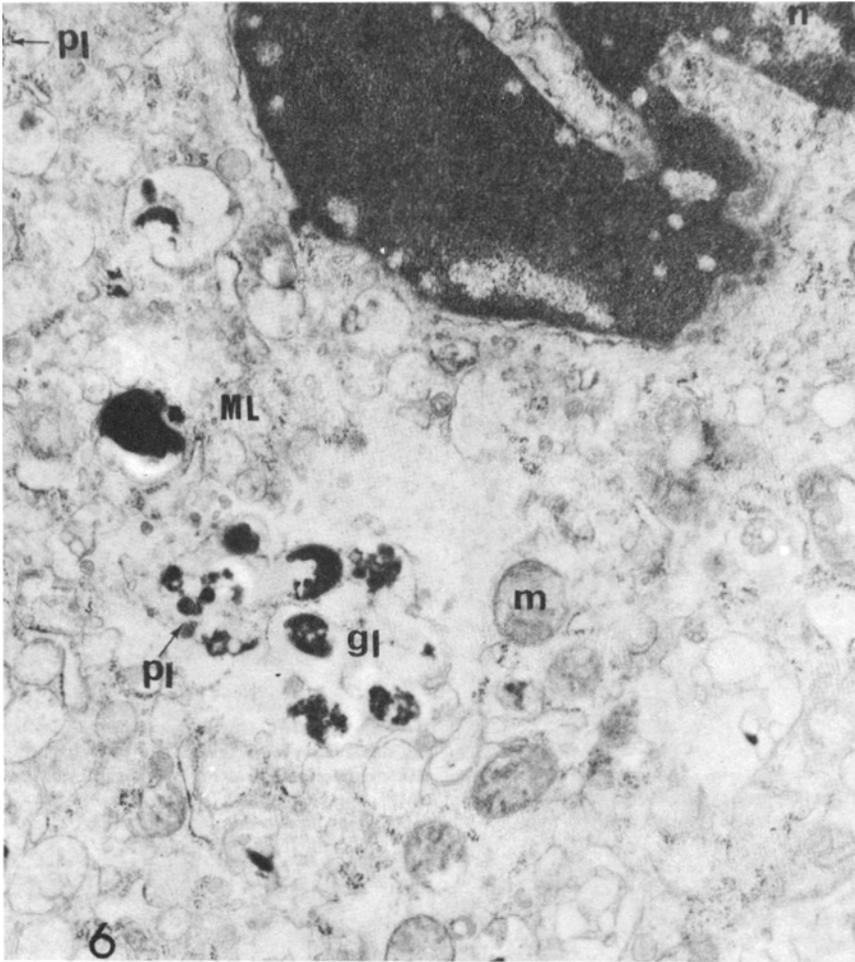


Fig. 6. Corte de nódulo. ML. 20.000x. Se observa núcleo (n) globi (gl) y bacilos libres en el citoplasma (ML). Se observan también bacilos en plasmolisis (pi), mitocondria del tejido (m).

2. Van Duijn, M.- Histochemistry of dopa-factors. 111. *Acta Physiol. et Pharmacol. (Need)* 5: 428-444, 1957
3. Campo-Aasen, I., Convit, J.- Histochemical identification of non-culturable *Mycobacteria* (*M. leprae* and *M. lepramurium* 11. Dopa-oxidase. *Histochimie*. 35: 63-66, 1973.
4. Campo-Aasen, I., Convit, J.- Identification of the noncultivable Pathogenic *Mycobacteria*. *M. leprae* and *lepramurium*. *Intern. J. Leprosy* 36: 166-177, 1968.
5. Convit, J., Pinaridi, M.E.- A simple method for the differentiation of *Mycobacterium leprae* from other *Mycobacteria* through routine staining techniques. *Intern. J. Leprosy* 40: 130-132, 1972.
6. Brieger, E.M., Glauert, A.M.- Electron microscopy of the leprosy bacillus; a study of submicroscopical structure. *Tubercle*. 37: 195-206, 1956.
7. Tamotsu Imaeda.- *Mycobacterium leprae* en células no hipersensibles de infección leprosa humana. Un estudio ultraestructural. *Acta Cient. Venez. (Supl.)* 3: 297-307, 1967.
8. Imaeda, T., Ogura, M: Formation of intracytoplasmic membrane system of *mycobacteria* related to cell division. *J. Bacterior*. 85: 150-163, 1963.
9. Zinsser.- *Microbiología*. *Microbiología*. Editorial Médica Panamericana, Ed. 18, En: *Clasificación e identificación de las bacterias*, pp 22-36, 1986.