

PROPIEDADES MORFOLOGICAS Y BIOLOGICAS DE LAS BARTONELLAS*

ERNST G. NAUCK **

En el Instituto de Enfermedades Tropicales de Hamburgo, fundado por Bernhard Nocht en 1900, se han hecho importantes aportaciones en el estudio del agente etiológico de la Enfermedad de Carrión. Los organismos pertenecientes al grupo de las bartonellas fueron estudiados por una serie de investigadores en diferentes épocas, con diferentes métodos y desde diferentes puntos de vista. El Instituto de Enfermedades Tropicales de Hamburgo debe por eso sentirse íntimamente unido a la investigación de las bartonellas y certificar con satisfacción que a través de los trabajos de los colaboradores de la generación antigua así como en épocas más recientes, ha podido aportar algunos importantes estudios al conocimiento de este interesante grupo de agentes etiológicos.

Las primeras investigaciones de *Rocha Lima* sobre Verruga Peruana datan del año 1913 así como la descripción de las etapas características del proceso etiopatogénico de la proliferación de las células endoteliales. *Mayer, Rocha Lima y Werner* descubrieron inclusiones celulares en forma de acumulaciones granulosas de la *Bartonella bacilliformis* en los angioblastos. Los trabajos posteriores de *Mayer y Kikuth* (1927) certificaron la posibilidad de transmisión de la Verruga Peruana a los monos y la presencia de inclusiones celulares específicas. También en Hamburgo se consiguió la comprobación experimental de la unidad de la fiebre de la Oroya, y los nódulos verrucosos transmi-

* Conferencia pronunciada el 14 de Agosto de 1957 en el Hospital "Dos de Mayo", en el ciclo de conmemoración del centenario del nacimiento de Daniel A. Carrión, auspiciado por la Facultad de Medicina de Lima.

** Director del Instituto de Medicina Tropical de Hamburgo y Catedrático Titular de Medicina Tropical de la Universidad de Hamburgo.



Foto 1.— *Bartonella bacilliformis*, en frotis de sangre, colorada con Giemsa y vista a 3500 aumentos.

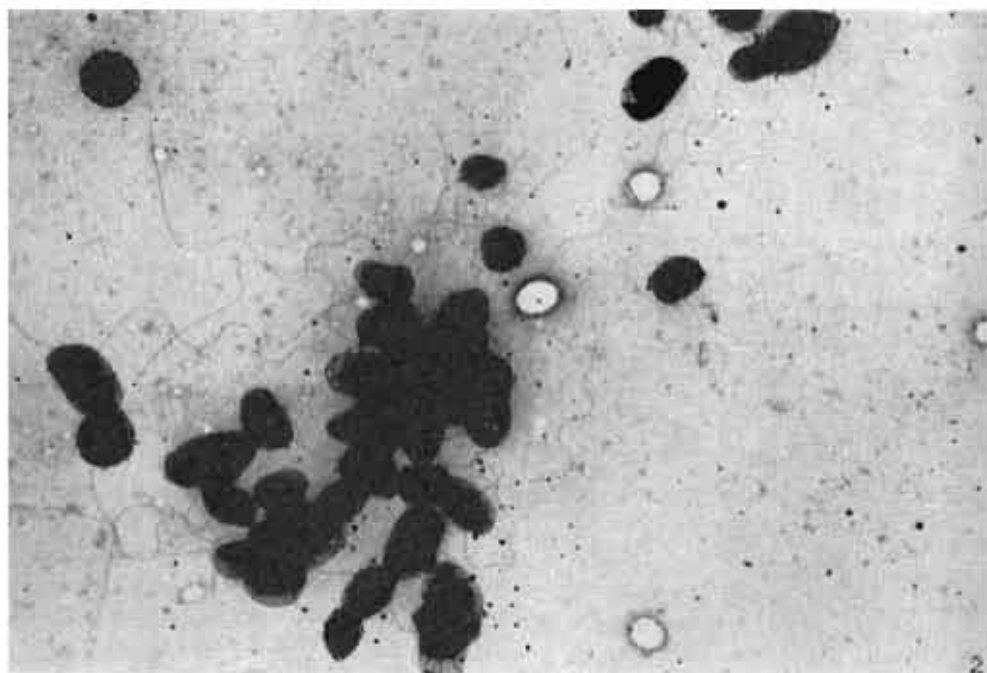


Foto 2.— *B. bacilliformis*, después de 6 días de cultivo y vista micro-electrónicamente a 11000 aumentos.

sibles producidos en los monos y así se ratificó la heroica auto-experiencia de Carrión.

Mayer en 1921 descubrió, en el Instituto Tropical de Hamburgo la naturaleza infecciosa de la anemia en las ratas esplenectomizadas y demostró en investigaciones realizadas con Kikuth y Borchardt la significación etiológica del agente *Haemobartonella muris* como es llamado hoy dentro de la nomenclatura moderna. Así se crearon los primeros fundamentos para una investigación ulterior de las diferentes "bartonellas animales" en ratas, ratones y mamíferos superiores que condujeron al descubrimiento de una serie de representantes de los Géneros *Haemobartonella* y *Eperythrozoon*.

La inclusión de los parásitos sanguíneos que se presentan en el hombre y en los animales a un "grupo de Bartonellas" se basa en su analogía morfológica, en el aspecto luminoso óptico y en el hecho de que tanto la *Bartonella bacilliformis* como también algunos representantes de las bartonellas de los animales producen anemias. En concreto, las bartonellas de los animales se diferencian de la *Bartonella bacilliformis* porque en ellas no es demostrable un aumento numérico, fuera de la sangre, en las células tisulares y porque no producen lesiones cutáneas. Al contrario de las bartonellas de los animales la *Bartonella bacilliformis* se deja cultivar en medios artificiales y ha sido por esto precozmente clasificada como bacteria (Noguchi 1927, 1928).

En los últimos años nos ha preocupado en forma especial la situación privilegiada del género *Haemobartonella* en base a las diferencias biológicas establecidas por Tyzzer y Weinman (1939) para la *Bartonella bacilliformis*. Las investigaciones de mis colaboradores Peters y Wigand en los años 1952-1955 demostraron profundas diferencias en las propiedades de ambos organismos las cuales llevaron a la convicción de que la semejanza en el cuadro luminoso óptico es puramente casual y que entre ambos grupos no existen relaciones filogenéticas. Los hallazgos luminosos ópticos en preparados coloreados no son suficientes para la diferenciación de los parásitos debido a su pequeñez. Sin embargo con el microscopio electrónico se pueden apreciar muchas diferencias. Los agentes pueden ser puestos en evidencia por hemólisis osmótica en el estroma eritrocítico o con la ayuda del método de Pseudo-réplica e investigados en el microscopio electrónico.

La *Bartonella bacilliformis* de la sangre y de cultivo muestra luminoso y electrónico-ópticamente la forma de bastoncillo. En el organis-

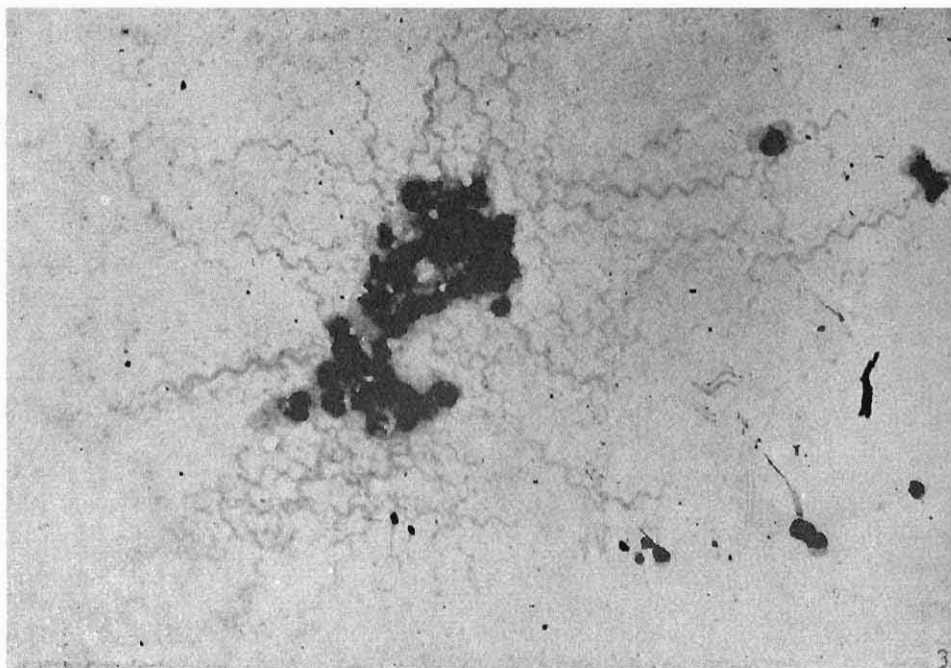


Foto 3.— *B. bacilliformis*, después de 33 días de cultivo, vista micro-electrónicamente a 5200 aumentos.

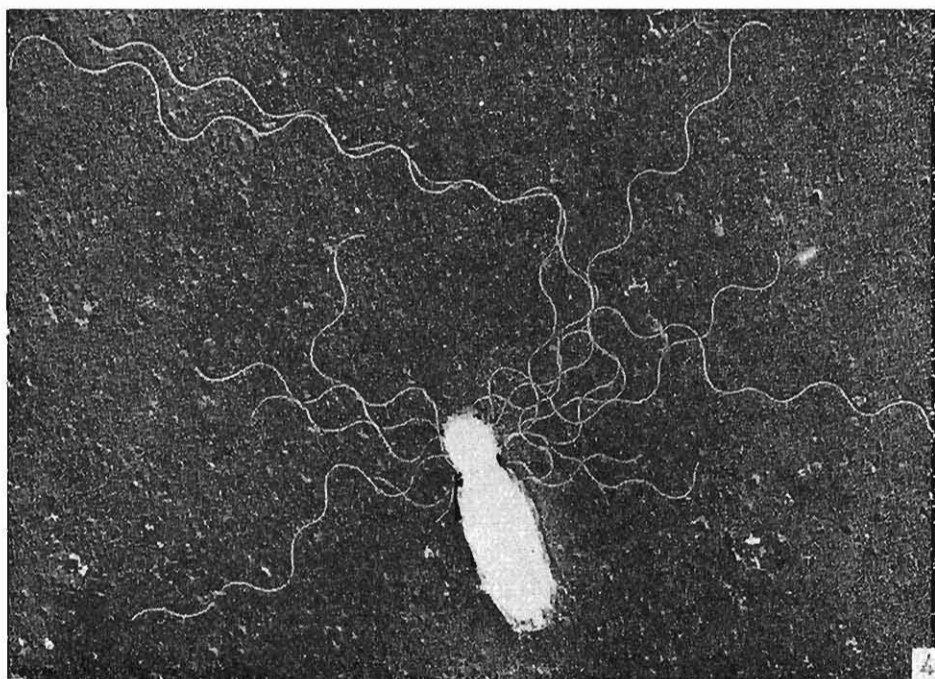


Foto 4.— *B. bacilliformis*, después de 6 días de cultivo. Se observa, en sombreado y a un aumento micro-electrónico de 16000 aumentos, la forma de división.



Foto 5.— *B. bacilliformis*, después de 7 días de cultivo. Se observa micro-electrónicamente, en sombreado, y a un aumento de 30000, el comienzo de la división.

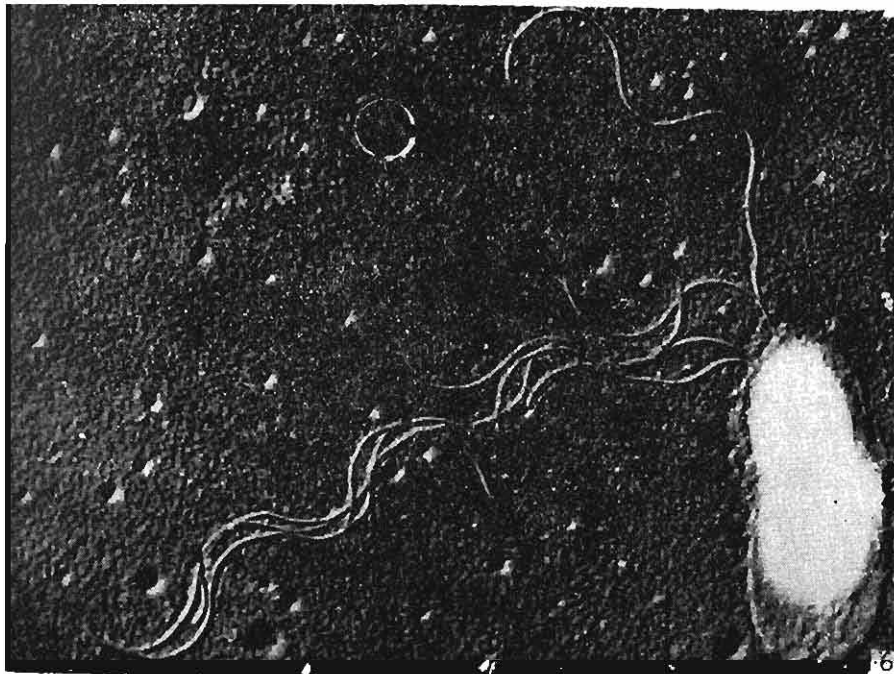


Foto 6.— *B. bacilliformis*, después de 10 días de cultivo, vista micro-electrónicamente, en sombreado, a un aumento de 3000.

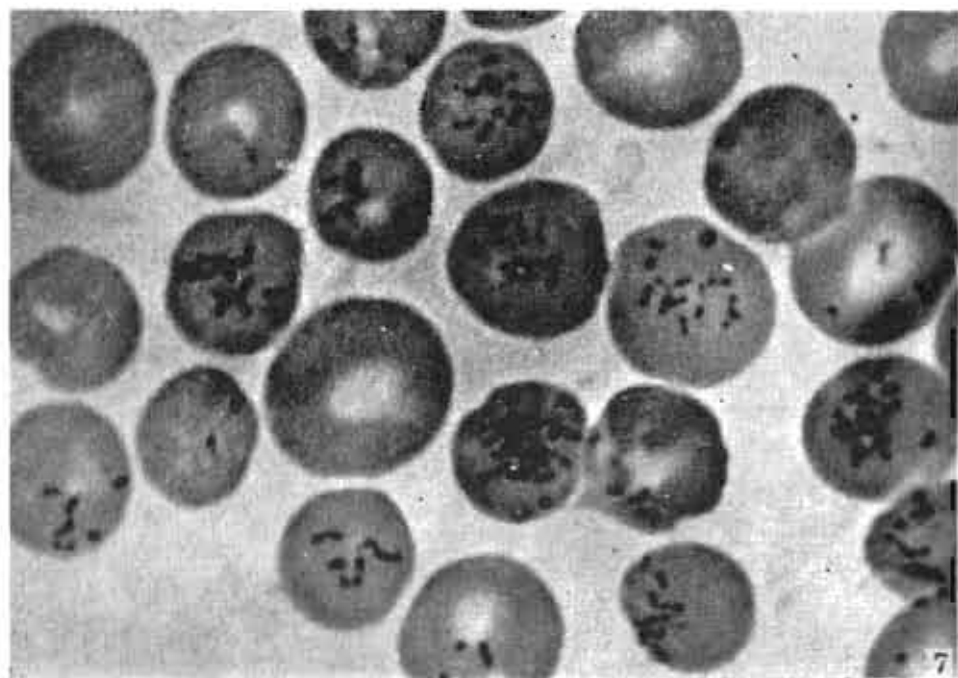


Foto 7.— *Haemobartonella muris*, en frotis de sangre de Hamster, coloreada con Giemsa y vista a 3500 aumentos.

mo puede reconocerse mediante el microscopio electrónico una membrana que rodea el protoplasma retraído y flagelos unipolares, en todo caso, en preparados del cultivo. Esto explica su movilidad. Con regularidad pueden ser observadas lo mismo que en bacterias y rickettsias, formas de división.

Al contrario de la estructura de las bacterias, rickettsias y virus de mayor tamaño como de la Psitacosis y virus de la Vacuna, no puede demostrarse una membrana de cubierta en el grupo de las *Haemobartonellas* y en el *Eperythrozoon* *cocoides*. Los agentes se muestran probablemente, debido a la falta de membrana externa, como relativamente lábiles; su cultivo no ha sido posible hasta el momento y por esta razón no son experimentalmente accesibles con facilidad. Tienen que ser obtenidos y preparados directamente de la sangre de ratas y ratones esplenectomizados. Faltan estructuras internas marcadas en el cuadro electrónico y, en concordancia con la inmovilidad de tales organismos, tampoco se encuentran flagelos. Las formas de bastoncillo descritas antiguamente sobre la base de investigaciones luminoso-ópticas en la *Haemobartonella muris* se transforman electrónicamente en partículas cocoides dispuestas linealmente. Con la ayu-

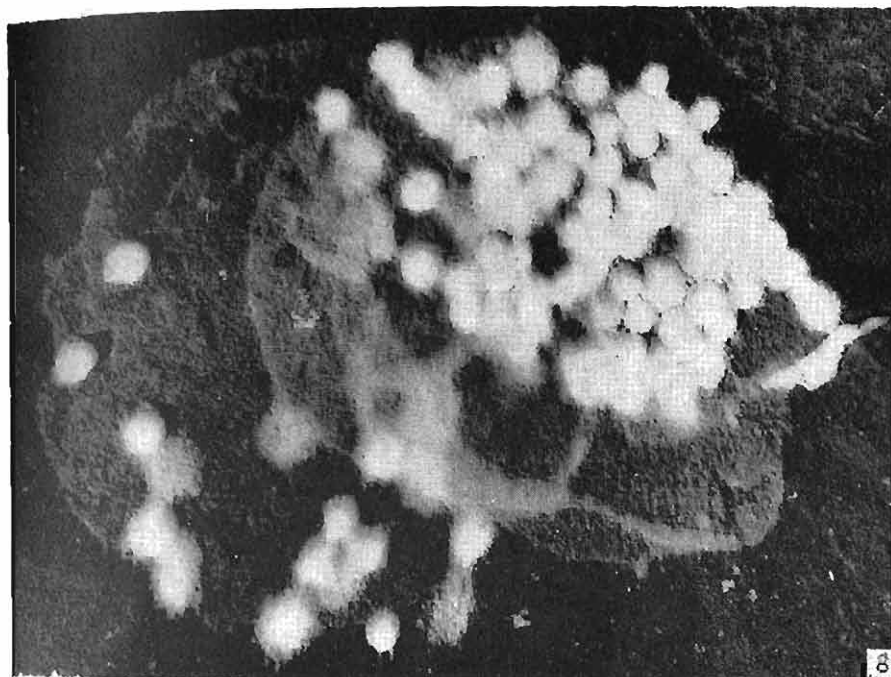


Foto 8.— *H. muris* de sangre de Hamster, después de una hemólisis osmótica. Se le ve micro-electrónicamente, en sombreado y a un aumento de 1500 que está agregada al estroma del eritrocito.

da de la técnica de Pseudo-impresión pudo ser demostrado que los parásitos están colocados, por lo menos en su mayoría, encima de los eritrocitos y quedan adheridos por esto a la película de impresión. Mediante un gradual desdoblamiento enzimático con Ribonucleasa, Desoxyribonucleasa y Pepsina pudo demostrarse que los parásitos contienen Ribo- y también Desoxyribonucleoproteidos. Con la ayuda de Trypsina son completamente lisados mientras que en la *Bartonella bacilliformis* la membrana externa —análogamente a la membrana de bacterias, rickettsias y formas de virus de tamaño mayor— se presenta resistente a la Trypsina.

En experimentos de transmisión, que fueron efectuados en 1953 por *Wigand* y *Peters*, pudo demostrarse nuevamente, por infección de monos Rhesus, con *Bartonella bacilliformis*, el establecimiento de la infección y la comprobación por la aparición de la enfermedad en forma de Verruga Peruana, el hallazgo microscópico de la *Bartonella bacilliformis* en sangre y el hemocultivo positivo. No se llegó a obtener manifestaciones en el sentido de la Fiebre de la Oroya y aún la esplenectomía no tuvo un efecto seguro sobre los animales.

Es de interés el hecho de que la infección intracelómica de *Pediculus vestimenti* con suspensiones de cultivos, condujo a un aumento masivo de Bartonellas bacilliformis en la cavidad del piojo. Por el contrario, los organismos no se reprodujeron en el estómago de los piojos, después de la inoculación rectal o por cebamiento en monos infectados.

Estudios serológicos realizados por Wigand (1956) han dado muy interesantes datos respecto a las propiedades inmunobiológicas de las bartonellas de los animales. Las pruebas orientadas hacia la demostración de anticuerpos neutralizantes para la *Haemobartonella muris* y hacia la demostración de antígenos disueltos en la sangre de animales infectados mediante la reacción de precipitación y desviación de complemento, resultaron negativas. En cambio, fue posible una reacción de fijación de complemento positiva entre antígenos provenientes de hematíes ricos en *Haemobartonella muris*, hemolisados por ósmosis y sueros de los animales infectados. Mediante investigaciones detalladas se pudo estudiar dicha reacción, en lo que respecta a su mar-

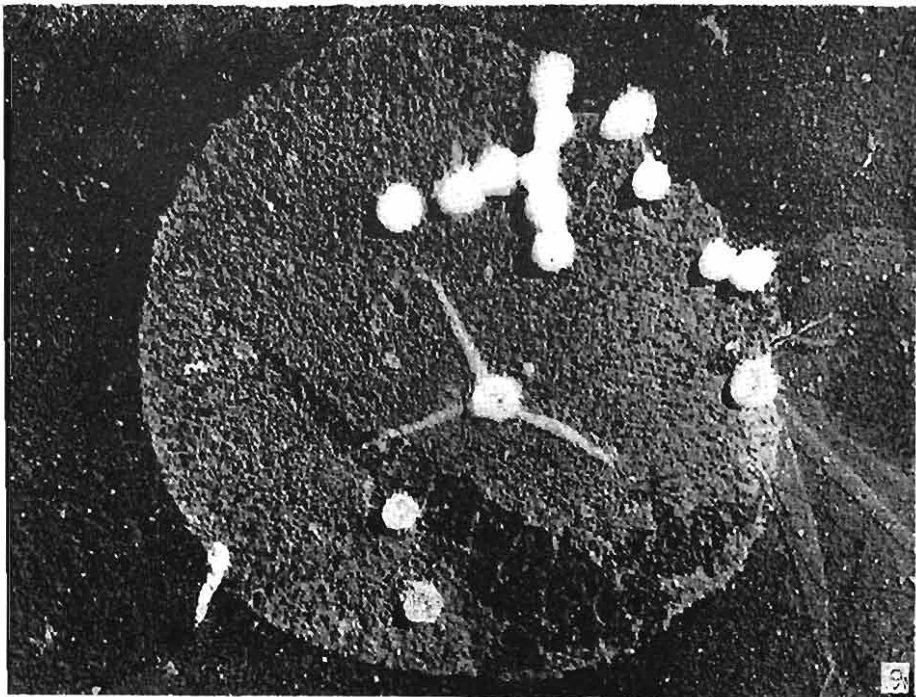


Foto 9.— *H. muris* en sangre de Hamster, después de una hemolisis osmótica. Se ve micro-electrónicamente, en sombreado, y a un aumento de 1,500, como se encuentran ordenadas en forma de cadena en la membrana del eritrocito.

gen de error, así como establecer la formación de anticuerpos en ratas esplenectomizadas y no esplenectomizadas. Se hicieron investigaciones análogas extensivas al *Eperythrozoon coccoides* y se comprobó que el suero de la Fiebre exantemática, de la Fiebre "Q" y de la Ornithosis reaccionan en forma igualmente negativa con el antígeno de *Haemobartonella muris*, así como el suero inmune de virus de Vacuna. Finalmente se ha demostrado que no existe relación entre la bartonella de los animales y la *Bartonella bacilliformis* cuando se practica la reacción cruzada.

La totalidad de estos resultados que en estos últimos años fueron obtenidos en el Instituto Tropical de Hamburgo, demuestra que la clasificación dada en el "Manual de Bacteriología Determinativa" de Bergey (*Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*) no concuerda con los conocimientos actuales. Según dicha clasificación se encuentra situada la familia "Bartonellaceae" en el orden de las "Rickettsiales" representada por una serie de Haemoparásitos: *Bartonella* (especie *B. bacilliformis*), *Haemobartonella*, *Eperythrozoon* y *Grahamella*.

La *B. bacilliformis* se comporta desde todo punto de vista como una bacteria aunque como hemoparásito se sitúa en una posición especial. Al contrario de ella, no se encuentra entre las bartonellas de los animales, que son muy semejantes entre sí, relaciones de parentesco con bacterias, rickettsias y formas de virus grandes. Ellas se semejan en base a su aspecto morfológico, más al grupo de la Pleuropneumonía que al contrario de las bartonellas de los animales, pueden ser cultivadas. Las bartonellas de los animales ocupan una posición especial en la zona situada entre las bacterias y los virus; por esta razón y por motivos de taxonomía nos parece que su estudio ha sido muy provechoso.