

Contribución al estudio de la Bartonella Muris

POR LOS DOCTORES

T. BATTISTINI

P. WEISS

1921 E. MAYER del Instituto Tropical de Hamburgo, estudiando la acción del «Bayer 205» sobre ratas infectadas experimentalmente con tripanosoma RHODESIENSE, observó la presencia de elementos en los glóbulos rojos, cuya morfología juzgó bastante semejante a la de la Bartonella bacilliformis agente etiológico de la verruga peruana.

Tales elementos aparecían en el curso de anemias producidas por la infección experimental con razas virulentas del tripanosoma RHODESIENSE.

En aquella ocasión MAYER reconoció ya, la importancia de este hallazgo en conexión con el problema de la naturaleza parasitaria de la Bartonella y pensando, en la activación de una infección latente en dichos roedores, propuso el nombre de Bartonella muris para los elementos hallados.

Por otra parte, DOMAGK en 1924 había observado que las ratas a diferencia de otros animales, no soportaban la esplenectomía y en un gran número de las ratas operadas constató el desarrollo de anemias perniciosas graves.

Al año siguiente, 1925, E. LAUDA (Viena) inició estudios a este respecto, de 73 ratas esplenectomizadas por él, 55 presentaron trastornos, y 18 soportaron la operación sin ningún cambio. Observó que en todos los casos transcurría un periodo de tiempo entre el acto operatorio y la iniciación de los síntomas, los que consistían en palidez de las mucosas, hemoglobinuria, eritropenia que podía llegar de 7.000.000, cifra normal, hasta la de un millón o menor, leucocitosis que

oscilaban alrededor de 50,000, polinucleosis, anositosis, policromatofilia, megalocitosis, aumento del valor globular trastornos marcados de los mononucleares en los que podía observar figuras de eritrofagia.

El estudio histológico de los órganos reveló alteraciones del sistema reticuloendotelial, eritrofagocitosis en el hígado pulmón, ganglios linfáticos, timo, médula ósea.

LAUDA consiguió transmitir la infección a ratas previamente esplenectomizadas, que no habían manifestado ninguna alteración, mediante la inyección intravenosa, subcutánea o por vía peritoneal, de suspensión de pulpa hepática de ratas infectadas, dicha pulpa perdía su virulencia por acción del calor, en cambio ella no era anulada por filtración.

De todos estos hechos concluye el investigador vienes, que la anemia perniciosa de las ratas es de naturaleza infecciosa, que dicha infección se encuentra latente y que por condiciones no bien determinadas aún exalta su virulencia.

Por lo demás él no logró identificar morfológicamente el virus.

MAYER al conocer los trabajos de LAUDA a que acabamos de hacer referencia, pensó en la posibilidad de que los elementos por él encontrados en 1921 jugaran algún rol en las anemias obtenidas en las ratas que habían sido esplenectomizadas. Sus presunciones fueron confirmadas bien pronto pues en todas las ratas (15) que fueron sometidas por él y sus colaboradores BORCHARDT y KIKUTH, a la ablación del bazo, al mismo tiempo que el desarrollo de la anemia, la presencia de elementos de tipo Bartonella fué constatada.

Cuarentiocho horas después de la operación, y en algunas ocasiones a las 24 horas se inicia la aparición de los elementos intraglobulares, simultáneamente con las primeras manifestaciones de la anemia, ambas alteraciones aumentan paralelamente hasta producir la muerte del animal. En los raros casos en que la convalecencia se establece, la desaparición de las Bartonellas es acompañada de signos de reacción, especialmente normoblastos y cuerpos de JOLLY que antes eran muy escasos. La forma predominante de los cuerpos endoglobulares varía con el curso de la anemia, al iniciarse ésta, las formas en palanqueta y de bastones, son más abundantes y en los estados terminales las formas cocoides. El número de elementos que parasitan un glóbulo, puede ser de 12 o más, siendo en algunas ocasiones tan abundante el número de ellos que podría confundírseles con precipitados.

(sic). Por rotura de algunos glóbulos rojos (gigantocitos) los parásitos se encuentran libres en el plasma. El mejor colorante para su demostración es el Giemsa, el método de MANSON, la fuschina, el verde de metilo-pironina, los coloran igualmente; con los métodos de GRAM y ZIEHL los resultados son negativos.

Casos de recidiva no se han constatado.

MAYER y sus colaboradores estudian la posibilidad de transmisión y de cultivo con lo que quedaría descartada la naturaleza degenerativa que se les podría atribuir, no obstante la estrecha similitud morfológica con el parásito *Bartonella bacilliformis* agente causal de la verruga peruana.

LAUDA y MAYER piensa que se trata de una infección muy extendida en las ratas salvajes, transmisible por ectoparásitos, por vía digestiva o por acción mecánica sobre la piel, y que sólo se haría activa en virtud de determinadas circunstancias.

MAYER reconoce diferencia morfológica con las inclusiones tipo *Grahamella* que se encuentran en los glóbulos rojos de algunos animales como el ratón, el topo, el murciélago, etc., pero sugiere que las fases de latencia y activación accidental puedan ocurrir en las infecciones producidas por dichos parásitos.

LA BARTONELLA MURIS EN LAS RATAS DE LIMA

La estrecha analogía que existe entre la anemia infecciosa de las ratas y nuestra anemia grave de CARRIÓN es muy marcada. Aparte de la presencia del organismo causal, la *Bartonella*, observamos que se trata de una eritropenia con megalocitosis y leucocitosis, con signos de reacción, lo que distingue a ambos procesos netamente de la anemia de BIERMER. Como para hacer más íntima esta relación a continuación de la fase hemática, LAUDA describe alteraciones del retículoendotelio, que como sabemos es el substratum de la erupción verrucosa.

La monocitosis, la constatación de fenómenos de eritrofagia por los histiocitos de la sangre circulante, alteraciones tan conspicuas en la infección humana constituyen también un carácter de la anemia experimental de las ratas.

Otra similitud que en los cambios hematológicos es la

desviación nuclear hacia la izquierda en los neutrófilos, signo de reacción de la serie granulocítica que junto con los cuerpos de JOLLY, los normo eritroblastos, los eritrocitos con retículo filamentosos marcan el carácter regenerativo del proceso.

La similitud morfológica del agente causal de la anemia perniciosa de las ratas B. m. con el de la verruga peruana B. b., según se desprende de la descripción de MAYER sería grande.

Formas finas en bastón, altera y cocoides coloreables especialmente con derivados del ROMANOWSKY con los cuales toman un tinte rojo violáceo, la no colorabilidad por el GRAM, el número elevado (en algunos casos) y la disposición de los elementos dentro de cada glóbulo rojo, la presencia ocasional en el plasma y la desaparición en el comienzo de la convalecencia cuando los signos de reacción hemática se acentúan más son caracteres que atestiguan la estrecha semejanza de que venimos hablando.

Abren así las investigaciones a que acabamos de hacer referencia una nueva vía, para el estudio del problema de la verruga peruana. La importancia de ellas nos indujo al estudio de la anemia experimental en las ratas de Lima, la nota preliminar que hoy presentamos refiere nuestros primeros resultados.

El número de ratas examinadas hasta la fecha es de 12.

Siguiendo el procedimiento empleado por los autores ya citados, procedimos a efectuar la ablación del bazo en las ratas, con el objeto de producir la anemia perniciosa en estos animales.

Las 4 primeras ratas murieron pocas horas después de operadas: ya en los últimos momentos de la operación, al finalizar los puntos de sutura en la pared abdominal, presentaron tetania, muriendo a las pocas horas.

Los dos animales operados posteriormente resistieron a los traumatismos operatorios.

En 3 animales de la primera serie empleamos como anestésico la mezcla A. C. E. (Alcohol, cloroformo eter), y suponiendo que el uso de ésta influyera en la mortalidad operatoria, la sustituimos por el éter, no obstante esto, la cuarta rata murió también. Podría atribuirse como causa del fra-

caso operatorio, el empleo de soluciones de lisol como agente esterilizante de los instrumentos, pues, en las dos ratas de la segunda serie en las que se suprimió el lisol, el resultado fué satisfactorio.

La septima rata murió poco tiempo antes de ser examinada.

En forma esquemática damos a continuación el protocolo de las ratas números 5, 6, y 7.

Rata N° 5 (Rata vieja).

6-3-1926. Esplenectomía.

Frotis de pulpa esplénica, B. m., en los glóbulos rojos y en las células endoteliales.

4. Reducido número de glóbulos rojos parasitados, pero gran número de parásitos en cada uno de ellos (19). Policromatofilia, anisocitosis.
5. Policromatofilia, ligera anisocitosis, escasos cuerpos de JOLLY, gran cantidad de plaquetas. En 20 minutos de observación microscópica solo se encuentra un glóbulo rojo parasitado el cual contenía 12 elementos.
9. Normoblastos 2%, policromatofilia, anisocitosis muy marcada, mononucleares grandes con protoplasma fuertemente basófilo.
10. Las mismas alteraciones.

Este animal, debido a las continuas incisiones en la cola practicadas con el objeto de hacer los análisis hematológicos, presenta en los últimos días un proceso supurativo difuso en ella.

La autopsia no reveló alteración macroscópica alguna. El exámen histológico se practica actualmente.

Rata N° 6 (Rata joven).

6-7-1926. Exámen de sangre antes de la operación; B. m. escaso número, de L. LEWIS.

Esplenectomía.

B. m. en los frotis de pulpa esplénica.

8. B. m. abundantes en la sangre, L. LEWIS
9. Anisocitosis y policromatofilia muy marcadas. Gran número de B. m. L. I. Polinucleares segmentados con protoplasma inmaduro. Células mononucleares con protoplasma intensamente basófilo.
10. Eritroblastos basófilos, anisocitosis y policromatofilia intensas, mononucleares con protoplasma basófilo. El animal se encuentra en muy malas condicio-

nes motivo por el cual fue sacrificado. La autopsia revela marcada palidez de las capas musculares y de las vísceras; puntos hemorrágicos sobre el timo y en la región pectoral derecha. El exámen histológico se está realizando en la actualidad.

Rata N° 7 (Rata joven).

- 6-7-26. Este animal murió poco tiempo antes de ser examinado. La autopsia no demostró ninguna alteración. En los frotis de sangre del corazón y de la pulpa esplénica se encontró gran número de glóbulos rojos parasitados al mismo tiempo que algunos histiocitos también parasitados.

LA B. m. EN RATAS NO OPERADAS

En 5 de los animales estudiados nos fué posible constatar la presencia, dentro de los glóbulos rojos (rata 6 y 8) en la sangre circulante, y en los frotis de pulpa esplénica (rata 8, 5, 6 y 7) de la B. m.

El hallazgo de los parásitos en la sangre circulante no fué laborioso, pues más o menos a los 10 minutos de observación microscópica fué encontrado un critocito con gran número de elementos. En los frotis de bazo los glóbulos parasitados se encontraban en proporción mayor y las células endoteliales cargadas de B. m. eran abundantes, en algunos sitios de la preparación se veían grupos de Bartonellas libres, cuyo origen podría ser el estallido de un histiocito.

Ya MAYER y LAUDA habían supuesto la existencia del virus al estado latente en las ratas pero sin haber llegado a constatarlo antes de disminuir experimentalmente por un medio u otro las resistencias del animal. Nuestra constatación fundamenta la suposición de los autores tantas veces citados.

La demostración de la B. m. en animales sin manifestaciones ostensibles de anemia y su presencia en las células del retículoendotelio, creemos que es ya un sólido argumento de su naturaleza parasitaria.

DIFERENCIAS MORFOLOGICAS ENTRE LA B. b. Y LA B. m.

El gran polimorfismo de la B. b. en relación con el curso y la intensidad de la infección, hace que la fijación de tipos morfológicos bien definidos sea difícil; no obstante se puede hablar de tres formas: el bastón, la diplococobacilar y la cocoide.

La agrupación de estos tipos dentro del glóbulo rojo da lugar a las más caprichosas figuras; así puede verseles simulando una Y, una V, un espirilo o acomodadas unas al lado de otras (pequeñas palizadas) como es usual en el grupo difterioide; reunidas por uno de sus extremos formando una figura radiada. Algunas veces varios elementos se agrupan hacia un lado del hematíe viendose otro aislado en una zona distante.

Las dimensiones de la B. b. en frotis coloreados de sangre humana varía entre 2'5 micras por 0'3 micras y 0'5 micras por 0'3 micras.

La B. m. en las infecciones que comienzan y sobre todo en las latentes en las que el número de glóbulos rojos parasitados es muy escaso, se presenta en gran número dentro de cada eritrocito (8 a 19) y muestra uniformidad morfológica marcada pues todos tienen igual forma (bastón) iguales dimensiones, e igual afinidad cromática, contrastando con lo que se observa en la parasitosis humana en la que es raro ver dos elementos iguales aún dentro de un mismo glóbulo rojo en cualquiera fase de la infección.

En el curso de la infección conforme el proceso anémico se intensifica, el polimorfismo se hace cada vez más resaltante, entonces se observa los tres tipos mencionados para la B. b. (bastón, diplococobacilo y cocoide) con predominio de la forma diplococobacilar como lo hizo notar MAYER.

Para nosotros existiría aún en este estado diferencia morfológica y ella se refiere a la mayor fineza de las formas diplococobacilares en la B. m. así como un más definido detalle estructural.

CULTIVO

La B. m. ha podido ser cultivada siguiendo la misma técnica que uno de nosotros emplea desde 1920 para el cultivo de la B. b.

Si no es en realidad difícil el cultivo de las bartonellas, estando habituados a las técnicas especiales que requiere, en el caso particular de la B. m., la constante presencia en la sangre de las ratas de organismo del grupo salmonella, hace que la obtención de cultivos puros sea bastante dificultosa.

El aspecto macroscópico de los cultivos (en los casos observados hasta ahora) es perfectamente semejante al de la B. b.

La agrupación de elementos formando palizadas o colonias microscópicas, según el número de ellos, es la misma que se observa en los cultivos de la B. b.

Sobre los detalles diferenciales, tanto en la morfología, cuanto en las afinidades cromáticas, de la B. m. en cultivo, insistiremos posteriormente.

Un estudio comparativo de las reacciones biológicas y serológicas entre la B. b. y la B. m. se hace en la actualidad.

La obtención del cultivo de la B. m. descarta toda duda sobre la naturaleza parasitaria de ella.

La semejanza de los medios que para su desarrollo requiere y el aspecto morfológico en los cultivos, afianza aún más la estrecha similitud que existe entre la B. m. y la B. b.

TRASMISIÓN DE LA B. m. A OTROS ANIMALES

Tomando como material sangre de ratas rica en B. m. hemos practicado inoculaciones a los siguientes animales: mono, cuye, cuye esplenectomizado y ratón blanco.

Mono N° 1 (Macacus Rhesus).

6-10-926. Un centímetro de sangre citratada (0'5 sangre total).

Durante 20 días la sangre fué examinada diariamente, sin constatar ninguna alteración. El 5° y décimo quinto día de inoculación se sangró el animal de una vena con el objeto de cultivar la

B. m. siguiendo la técnica empleada por uno de nosotros (B) para el cultivo de las Bartonellas. Los cultivos resultaron negativos.

A diferencia de lo que pasa con la B. b., que inoculada al mono ya sea en sangre humana o en cultivos, produce septicemias intensas y persistentes delatadas por sembríos en los medios especiales, la B. m. no provocó dicho estado en el mono de nuestra experiencia.

Cuye Nos. 1 y 2.

6-5-926. Animales jóvenes (1 mes de edad) fueron inyectados por vía peritoneal con 0'25 cc. de sangre rica en B. m. (Rata N° 5). Resultado negativo.

Cuye N° 3.

6-10-926. Un centímetro de sangre de la rata N° 6 fué inyectada intraperitonealmente a este cuye adulto esplenectomizado una semana antes. Como en el caso anterior el resultado fué negativo.

Cuye N° 4.

6-10-926. Cuye adulto normal; recibe 1 cc. de sangre de la rata N° 6 por vía peritoneal. Al día siguiente al practicarse la ablación del bazo el animal sucumbió.

Ratones blancos 1 y 2.

6-5-926. Inoculado por vía peritoneal con 0'1 cc. de sangre de la rata N° 5. Resultados negativos.

CONCLUSIONES

- 1.—La Bartonella m. existe en las ratas de Lima.
- 2.—El síndrome hemático que acompaña la bartonellemia en las ratas es manifiestamente semejante al que se presenta en la verruga peruana (fase hemática).
- 3.—La B. m. existe en la sangre circulante y en las células reticulares del bazo en animales no operados.
- 4.—Existe diferencia morfológica entre la B. m. y la B. b.
- 5.—La B. m. ha sido obtenida en cultivo puro.
- 6.—Usando como animales de experiencia, mono (M. r.) cuyes, cuye esplenectomizado y ratón blanco, los ensayos de trasmisión de la B. m. han sido negativos.

HEMOGRAMA SEGÚN V. SCHILLING

| | NUMERO | | B | E | M. J. | St. | S. | L. | Mon Meg | Nor- mo | Observaciones |
|-----|-----------|--------|---|---|-------|-----|----|----|---------|------------|---------------|
| | Eryt. | Leuc. | | | | | | | | | |
| I | 6.800.000 | 48.000 | | | | | 36 | 60 | 4 | 1 | - |
| II | 6.800.000 | 22.500 | | | | | 36 | 42 | 22 | - | - |
| V | - | - | | | | | 33 | 52 | 15 | 2 | - |
| | 6.200.000 | 12.800 | | | | | 25 | 55 | 20 | - | - |
| | 5.920.000 | 11.400 | | | | | 40 | 37 | 23 | 1 | - |
| | 6.880.000 | 6.800 | | | | | 39 | 44 | 17 | 2 | - |
| | 6.400.000 | 7.600 | | | | | 29 | 55 | 16 | - | - |
| | - | 10.500 | | | | | 21 | 36 | 43 | - | - |
| VI | 3.880.000 | 7.000 | | | | | - | - | - | - | - |
| | - | - | | 1 | 3 | 18 | 66 | 12 | - | 9 | + |
| | - | 7.200 | | | 3 | 20 | 67 | 10 | - | 4 | + |
| | 2.800.000 | 4.000 | | | 10 | 15 | 48 | 27 | - | 3 | + |
| VII | - | - | | 4 | 2 | 12 | 68 | 14 | - | 1 | + |
| XII | - | - | | | | 46 | 40 | 14 | - | 6 | - |

