

Bartonellosis. De Endemia Regional a Infección Emergente Mundial

Conferencia en la Academia Nacional de Medicina, 16 de Abril de 1998

JAVIER ARIAS-STELLA*

Esta es una charla solicitada y debo en primer lugar, explicar por qué he pedido la tribuna de la Academia, en la sesión inaugural de nuestras actividades anuales.

El 16 de octubre de 1885 se reunió la Academia Libre de Medicina de Lima y recogiendo, con sensibilidad y visión de sus responsabilidades, el significado del momento que vivía la medicina peruana, aprueba una moción⁽¹⁾ incorporando como uno de sus miembros al estudiante Daniel A. Carrión, recientemente fallecido, y estableciendo -al considerársele, desde entonces, presente en las reuniones del claustro académico- lo que es, hasta hoy, un rito y permanente homenaje al mártir de la medicina peruana.

No podía ser de otra manera, puesto que había sido la propia Academia la que -con el concurso⁽²⁾ convocado para intentar dar respuesta a un desafío sanitario nacional- incentivó el espíritu inquisidor del joven estudiante.

En la historia de la endemia que lleva el nombre del entonces homenajeado, jalón imperecedero fue, sin duda, el develamiento de su etiología. Después de un sonado fiasco en 1901⁽³⁾, con ejemplar perseverancia, correspondió a Alberto Barton, distinguido miembro de la Academia, identificar, en 1905⁽⁴⁾, al agente causal, bautizado con su nombre e incorporado a la taxonomía bacteriana mundial por el profesor Strong de la primera expedición de la Universidad de Harvard al Perú. Otros miembros de la institución, desde sus albores y a lo largo de su trayectoria, han contribuido, con diligencia y brillo, al acervo de conocimientos alcanzado sobre esta dolencia nacional, pero escapa al objetivo de esta plática el hacer una pormenorizada relación.

Creo que, basta lo dicho, para subrayar la justificación institucional en privilegiar el tema. Ahora bien, ¿cuál es la justificación personal?. Ocurre que en los últimos años nuestro Laboratorio ha venido estudiando diversos aspectos de la anatomía-patológica de la Enfermedad de Carrión y así, sin habernos propuesto, hemos sido testigos y/o protagonistas de una serie de desarrollos en el ámbito de una de las complicaciones que se dan en el SIDA, pandemia contemporánea de gran

actualidad. Desarrollos que han desembocado en una curiosa relación con nuestra enfermedad regional, y que le han dado a ésta una nueva e inesperada dimensión.

Comencemos recordando, brevemente, hechos por todos conocidos. La enfermedad producida por la Bartonella bacilliformis y transmitida por ciertas especies de Lutzomyia, evoluciona en dos fases. El esquema (Fig. 1), tomado del Texto de Patología de Correa, demuestra bien las etapas de la enfermedad⁽⁵⁾.

Después de un período de incubación de tres o más semanas, se nota fiebre y anemia hemolítica (fase hemática). Dependiendo del grado de resistencia del huésped, la muerte puede ocurrir, en esta fase, por la severidad de la anemia y/o por complicaciones septicémicas secundarias, una situación común en la época pre-antibiótica. Cuando la fiebre y anemia remiten, se presenta la erupción cutánea (fase eruptiva). La aparición de las "verrugas" indica mejoría y es un signo que el paciente está superando la enfermedad. En algunos casos la anemia y la fiebre son mínimas y sólo relevante la erupción cutánea.

Por haber actuado en la etapa antibiótica y por la naturaleza del material al que hemos tenido acceso, las investigaciones realizadas en nuestro laboratorio han estado referidas a la fase eruptiva. No vamos, por supuesto, a hacer un relato de los trabajos que hemos realizado. Nos referiremos tan sólo a algunos de ellos, publicados o en vías de publicación, que están, en alguna forma, relacionados con el argumento central de nuestra presentación.

LA CELULA REACTIVA FUNDAMENTAL

La lesión eruptiva elemental (Fig. 2) adopta cuatro modalidades anatómicas básicas: miliar, nodular superficial, nodular profunda y la llamada forma mular o tumoral.

Tempranamente se reconoció el carácter vascular de la reacción histológica. Los neocapilares son comúnmente obvios (Fig.3A) y la similitud con el granuloma piogénico fue

*Universidad Peruana Cayetano Heredia, Laboratorio de Patología Arias-Stella.

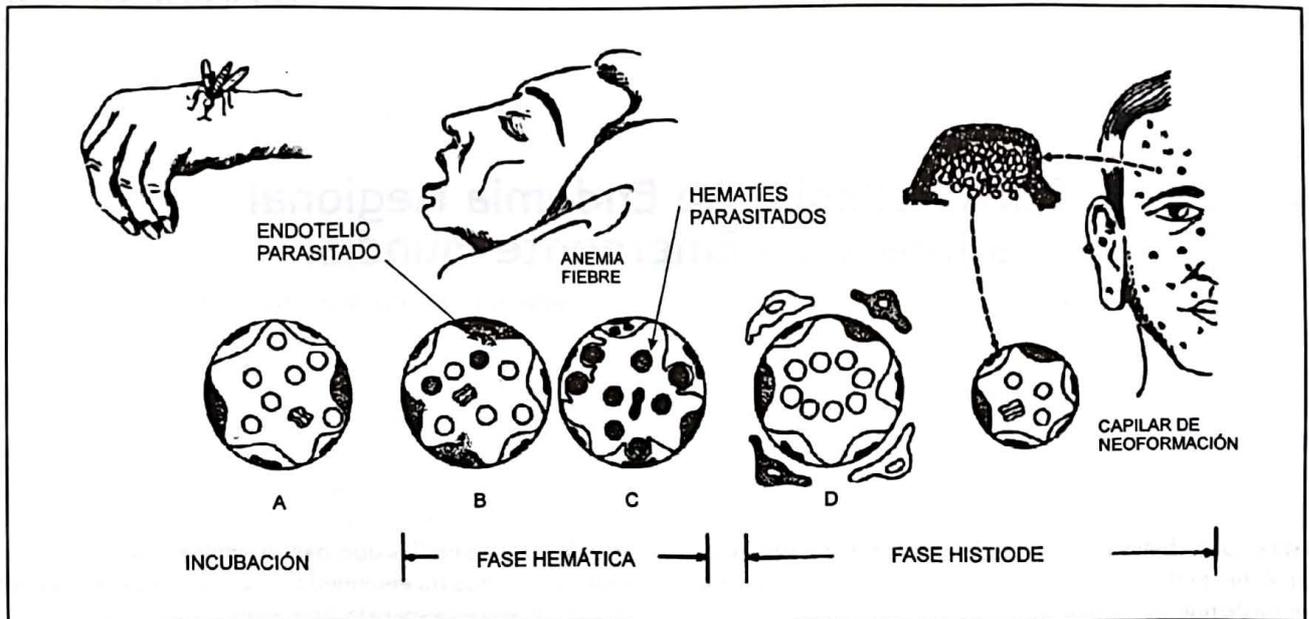


Fig. 1. Esquema sobre la Patogenia de la enfermedad de Carrion. Tomado de texto de Patología de Correa, P.⁽⁵⁾

acertadamente destacada. Sin embargo, pueden verse también (Fig.3B) formas de reacción más o menos densas, o sólidamente compactas (Fig.3C) y se avanzaron ideas de una participación significativa de otras células: histiocitos, fibroblastos, etc. en la constitución del granuloma.

Era pues importante caracterizar a las células, fundamentalmente, implicadas en la reacción. Vino aquí en auxilio, la incorporación, en los últimos tiempos, de la inmunohistoquímica, que por el reconocimiento de fracciones químicas (epitopos) -específicas de cada tipo celular- permite superar las limitaciones de la morfología clásica.

Usando el "ulex europeus" y el anticuerpo para el antígeno

asociado al Factor VIII, hemos demostrado que tanto, como era obvio, en las reacciones con definidos neocapilares (Fig.4A), como en las reacciones densas (Fig.4B) y compactas (Fig.4C) las células proliferantes son endoteliales ⁽⁶⁾. Este carácter lo hemos verificado con el hallazgo, en las reacciones sólidas, de cuerpos de Weibel-Palade a la microscopía electrónica (Fig.5A). Es claro que, siendo lo anterior cierto, otras células también acompañan: linfocitos, histiocitos, mastocitos, células dendríticas y, dependiendo de la ocurrencia de necrosis, polinucleares.

LA IDENTIFICACION DEL GERMEN EN LOS TEJIDOS

Ultraestructuralmente, en los cultivos, la bartonella muestra



Fig. 2. Variantes anatómo-clínicas de la Verruga Peruana. La forma "Mular" es tomada del libro de Odrizola, E., La MALADIE DE CARRION en la Verruga Peruvienne, 1898.

un polo flagelado (Fig.5B). En los estudios de las verrugas al microscopio electrónico nuestras observaciones han coincidido con las previas de Takano ⁽⁷⁾ y de Recavarren y Lumbreras ⁽⁸⁾. Hemos encontrado que las bartonellas yacen, preferentemente, en los espacios extracelulares (Fig. 5C), cercanas a los neovasos o en el intersticio entre las células verrucosas y que en los tejidos no muestran flagelos. Sea que se les interesó en el sentido longitudinal o en sección transversal, mostraron una envoltura gránulo-fibrilar trilaminar (Fig.5D). Su longitud variaba entre 0.8 a 1.5 micras ⁽⁶⁾. No hay, pues, hoy, duda de la presencia de la bartonella en los tejidos verrucosos floridos.

Y ¿qué ocurre a nivel de la microscopía de luz?. Resulta interesante una rápida revisión del tema. Un análisis crítico de la literatura inicial y reciente, demuestra que hay dos grupos de observaciones (Tabla 1). De un lado, las que han reportado la presencia de gérmenes, con distintas características, en o entre las células del verrucoma ⁽⁹⁻¹⁵⁾.

La diversidad de resultados habla por si sola de la reserva que merecen estas observaciones. En el único caso en el que se acompañan de microfotografías, resulta obvio que lo que se ilustra como células llenas de bacterias no son otra cosa que mastocitos. De otro lado, están los reportes de aquellos que no han sido capaces de encontrar microorganismos en las lesiones, no obstante haber usado variadas tinciones ^(7,8,16-19).

Podemos afirmar, sin temor a equivocarnos, y por extraño que parezca, que, hasta hace muy poco tiempo, no se había logrado demostrar de manera consistente y, menos, documentado fotográficamente a las bartonellas en la lesión verrucosa al microscopio de luz.

Gajes curiosos de nuestro oficio !! En el pasado hemos utilizado, ocasionalmente, la coloración de Warthin-Starry en otras investigaciones, pero ha sido sólo en tiempos recientes que hemos ganado experiencia en su manejo e interpretación y descubierto su excelencia y sensibilidad para demostrar las bartonellas en los tejidos ⁽²⁰⁾. En estudios realizados en colaboración con Arias-Stella Jr., presentados preliminarmente en el Congreso de Patología Nacional en 1996, y de manera más completa en el Congreso del Colegio Americano de Patología el año pasado ⁽²¹⁾, hemos analizado doce lesiones verrucosas que comprenden reacciones floridas, en regresión inicial y en regresión avanzada, utilizando la técnica del Warthin-Starry. En las lesiones incipientes y floridas se encontraron gran cantidad de gérmenes bacilares en los intersticios y sobre la superficie de las células endoteliales proliferadas (Fig.6A). Los microorganismos se ven como bastoncitos negros, libres o formando cúmulos densos en los que sólo moviendo el micrométrico puede reconocerse la individualidad de los gérmenes. Cuando los neocapilares son bien visibles se les puede ver formando cadenas que rodean a los vasos (Fig.6B). Si bien en todos los casos de lesiones floridas los

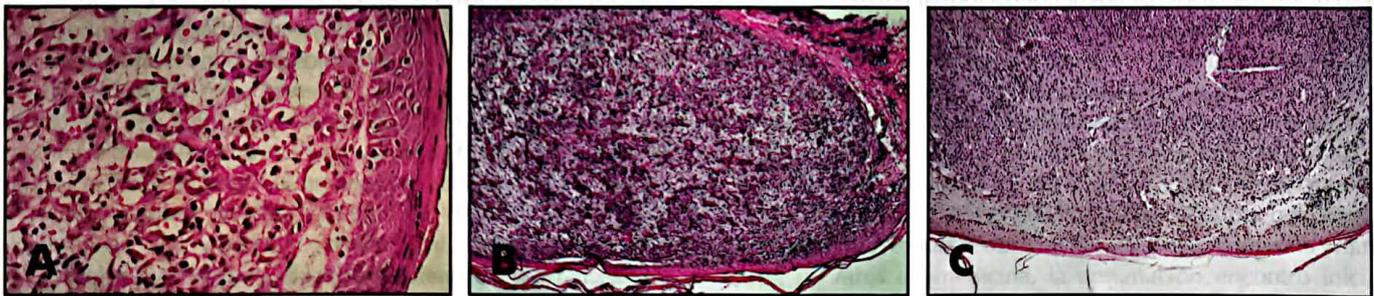


Fig. 3 -A. Neocapilares de paredes delgadas y bien definidas. El aspecto es similar a un angioma al granuloma piogénico. Coloración H-E. -B. Coloración H-E. Modelo trabecular o cordoniforme de la Verruga Peruana. Se distingue bien los cordones celulares angiomasos de las células acompañantes en el estroma. -C. Coloración H-E. Un solo manto de células sin formación de espacios vasculares visibles.

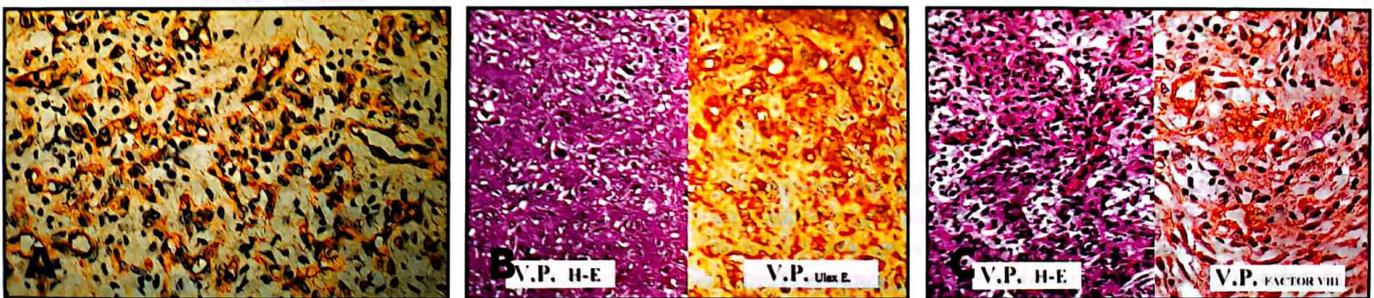


Fig. 4 -A. Verruga Peruana. Modelo angiomaso. Marcación con "Ulex europaeus". Los capilares se ven nítidamente de color amarillo marrón, destacando del estroma laxo y de las células intersticiales acompañantes. -B. Verruga Peruana. Modelo trabecular. Obsérvese los densos cordones de células angioblásticas separadas de las células estromales. Casi no se distinguen los lúmenes vasculares. Con la marcación para el Factor VIII los vasos se hacen evidentes. -C. Verruga Peruana. Modelo compacto. Con H-E se ve un manto sólido de células proliferantes. Con la marcación inmunohistoquímica para el "Ulex europaeus" se comprueba reacción positiva en todas las células, siendo posible visualizar algunos neocapilares.

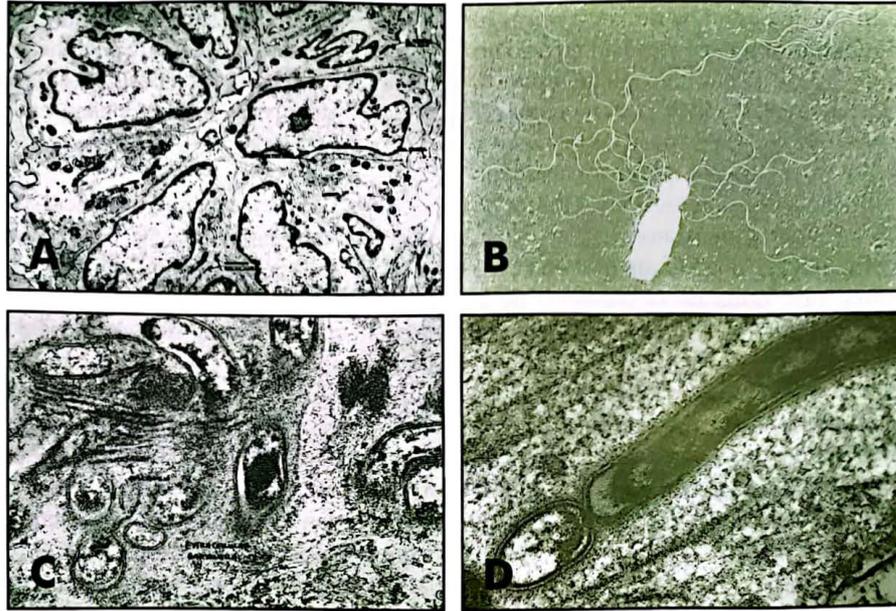


Fig. 5 -A. Verruga Peruana. Modelo sólido. Microscopía electrónica (x 4400). Las células endoteliales muestran vesículas pinocitóticas y cuerpos de Weibel Palade. **-B.** *Bartonella bacilliformis* (cultivo). Vista al microscopio electrónico. Penacho de flagelos adorna uno de los polos. (Nauck, G.E. propiedades morfológicas y biológicas de las Bartonellas. Ann. Fac. Medios Lima, 40: 857, 1957). **-C.** Bartonellas seccionadas longitudinal y transversalmente. Localización intersticial. Nótese las bandas de fibras colágenas. (x 68000). **-D.** Bartonellas intersticial. En corte longitudinal. Se está produciendo una fisión binaria. (x 76000).

gérmenes eran abundantes, ellos fueron más notables en las proliferaciones sólidas, pseudotumorales. En los nódulos en resolución inicial los bacilos tienden a formar conglomerados, se ven imágenes que sugieren la incorporación de los gérmenes en el citoplasma (Fig.6C), y los microorganismos intersticiales libres disminuyen (Fig.6D). En las lesiones en resolución avanzada no se encontró microorganismos. Debemos, así mismo, señalar que cuando presentamos nuestras observaciones, por primera vez, en la estación de comentarios, el doctor Recavarren mencionó que en su laboratorio el Dr. Cok, había hecho tinciones de Warthin-Starry en algunas verrugas, obteniendo similares resultados*.

En este tema nos queda sólo pendiente intentar la técnica de Giemsa, en tejidos fijados con la solución de Regaud, siguiendo el procedimiento de Pinkerton y Weinman de la segunda expedición de la Universidad de Harvard al Perú⁽¹⁴⁾.

LOS CUERPOS DE ROCHA-LIMA.

En 1913, Rocha-Lima⁽¹⁷⁾ y Mayer y col.⁽²²⁾, estudiando el caso de un sujeto que venía del Perú y que hizo una erupción cutánea a su arribo en Hamburgo, tuvieron ocasión de analizar varios nódulos de verruga peruana. Sobre la base de esta singular observación describen, en las células endoteliales proliferadas, de cortes coloreados con la técnica de Romanowsky-Giemsa: "cerca o alejadas del núcleo inclusiones citoplásmicas rojizas, constituidas por conglomerados de gránulos mal delimitados". Subrayan que estos gránulos eran distintos de las células cebadas

y otros leucocitos y que no pueden interpretarse como fenómenos degenerativos. Concluyen que son similares a los cuerpos observados en el tracoma, "Bird pox", Molluscum contagiosum y otras enfermedades producidas por Clamidozoos. Ilustraron su publicación con dibujos (Fig.7) mostrando las células con inclusiones tal como las observaron en los frotises de los verrucomas. La solvencia de los investigadores del Instituto de Medicina Tropical de Hamburgo hizo que esta publicación se convirtiera en una cita obligada en la literatura local y, aunque nadie se esmerara en realizar observaciones similares, dio pie a que investigadores imaginativos hablaran de "Los Estados Biológicos de la Bartonella" y especularan sobre la transformación de la bacteria en formas de menor complejidad orgánica⁽²³⁾.

Es también curioso que no ha sido hasta 1986, cuando nosotros abordamos el tema, que se logró comprender la génesis de estas estructuras⁽⁶⁾. Encontramos que las inclusiones podían reconocerse en algunas lesiones verrucosas y logramos demostrarlas, por primera vez, en los cortes histológicos, usando la tinción de Giemsa (Fig.8A). Comprobamos que ellas se mostraban mejor en tejidos incluidos en glicol-metacrilato (Fig. 8B), describimos su evolución morfológica, y, lo que es más importante, la investigación ultraestructural demostró que ellas no presentaban la estructura de los cuerpos elementales descritos como "clamidozoos"^(24,25). Las inclusiones que se ven a la microscopía de luz, corresponden a células endoteliales fagocíticas (Fig.8C) -con uniones celulares rudimentarias y pocos lisosomas- en las que complejas invaginaciones de la superficie celular han originado un laberinto de canales interconectados y

*Hay que señalar también que Leboit, sin referir observaciones concretas, ha comentado: "In contrast to what has been reported the Warthin-Starry stain works well in verruga peruana" (55). También, sin presentar observaciones concretas en el libro Pathology of Infectious Diseases de Connor y Chandler, 1997, se dice: "When inclusions are not present, the diagnosis rests in clinicopathologic correlation, the presence of plump atypical endothelial cells and small interstitial clusters of silvered (blackened) bacteria using the Warthin-Starry technique" (56).

Tabla 1. MICROORGANISMOS EN VERRUGA PERUANA (Microscopía de Luz)

Autor	Microorganismos	Coloración	Localización	Ilustraciones
Stong, R.P. y col. 1913	No	H-E, Giemsa, Gram, Levaditi, Azul de Metileno, Fuscina Acida.	—	—
Cole, H.N. 1912	No	H-E, Giemsa, Gram, Azul de Metileno, Tinción para bacilo Tuberculoso.	—	—
Rocha-Lima, H, 1913	No	H-E, Giemsa, Gram, Acido resistente, Levaditi.	—	—
Cuadra, M. 1961	No	H-E, Giemsa.	—	—
Takano-Morón, J. 1970	No	H-E, Gram.	—	—
Recavarren, S. y Lumbrellas, H. 1972	No	H-E, Giemsa.	—	—
Izquierdo, V. 1885	Bacilos, 8-28 micrones.	Violeta de metilo, Fuscina, Azul de metileno, Violeta de Genciana.	En lesiones y en la piel y vasos alrededor de las verrugas.	No
Letulle, M. 1898	Bacilos, "Bacilo semejante al bacilo Koch".	Ziehl.	"En lesiones alejadas de la superficie".	Dibujos de cortes histológicos.
Escomel, E. 1902	Bacilos alrededor de 10-15 micrones.		"Entre las células verrucosas en el nódulo, alejadas de la superficie".	Dibujos de cortes histológicos.
Mackehenie, D., Battistini, T. y Weiss, P. 1922-1928	Bacilos, 0.5 a 2 micrones.	Hematoxilina Férrica de Heidenhain, Azul de Toluidina.		Dibujos de cortes histológicos.
Pinkerton, H. y Weinman, D. 1937	"Forma bacilar, pero frecuentemente granular".	Giemsa, después de fijación en Regaud.	"En los nódulos cutáneos, células llenas de bartonellas estuvieron invariablemente presentes".	Dibujos de extendidos de nódulos cutáneos.
Urteaga, O. y Calderón, J.M. 1965	"Cocos, células histiocíticas llenas".	Giemsa.	"Células Adventicias Perivasculares en fase pre-eruptiva", "células histiocíticas en nódulos verrucosos".	Microfotografías de cortes histológicos y de extendidos de nódulos cutáneos.

vacuolas (Fig.8D) en las que se ve bacterias y componentes de la sustancia matriz extracelular. El esquema mostrado en la Fig. 9 ilustra el proceso de captación de las bacterias y de la sustancia fundamental que las rodea. Más recientemente, hemos ampliado estas observaciones y comprobado que sólo estuvo presente en 4 de 37 nódulos verrucosos y que se trata de un rasgo histológico relativamente fugaz, que expresa un momento de la relación huésped-parásito (Fig.10)⁽²⁶⁾.

Hasta aquí los temas de nuestra propia experiencia que hemos creído pertinentes recordar para enlazarlos con el argumento central.

En 1979 Rosai y col. identificaron, con el nombre de Hemangioma Histiocitoide, una lesión en la que las células comprometidas proliferan con morfología y funciones de células endoteliales e histiocitos (Fig.11A y 11B)⁽²⁷⁾. Estuvieron acertados en plantear, de un lado, la comunidad histopatogénica entre procesos antes no relacionados y, de otro, la ocurrencia de una forma especial de respuesta de la célula endotelial o la probable existencia de una subpoblación de células endoteliales que responden de manera singular a un estímulo o a estímulos por identificarse. Pese a la validez del concepto introducido, por esos

azares, no raros en medicina, la designación encontró inicial resistencia.

En 1983 Enzinger y Weiss, al describir un grupo de casos similares, cambian el nombre por Hemangioma Epitelioide⁽²⁸⁾, y, sin prisa y sin pausa, fusionaron en la misma categoría, el Hemangioendotelioma Epitelioide⁽²⁹⁾, una variedad frecuentemente confundida como carcinoma, que se diferencia de la anterior por la disposición más sólida o compacta de las células proliferantes. Si algún añadido hicieron estos autores al concepto fue el enfatizar el carácter benigno del primero y la potencialidad agresiva del segundo. Estas nuevas designaciones si prendieron y una cascada de reportes consolidaron la ocurrencia de estos dos tipos de lesiones en los más variados territorios: el **hemangioma epitelioide**, en piel, tejido celular subcutáneo, partes blandas, hueso, pared vascular, el **hemangioendotelioma epitelioide** en hueso, hígado pulmón, piel, partes blandas.

No es del caso discutir aquí la racionalidad para usar la calificación "histiocitoide" o "epitelioide". Lo concreto es que se trata de células endoteliales modificadas, fagocíticas y con rasgos fenotípicos especiales (Fig. 12).

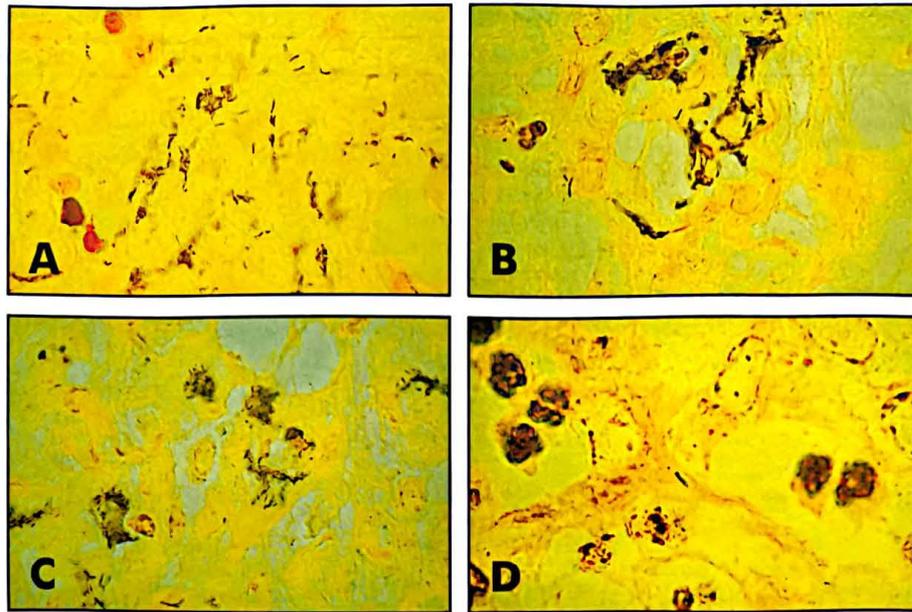


Fig. 6 -A. Verruga Florida. Coloración Warthin-Starry. En los intersticios sobre las células endoteliales se ven gran cantidad de bacilos libres o formando acúmulos. Nótese el pleomorfismo. **-B.** Verruga Florida. Coloración Warthin-Starry. Neocapilar rodeado de gran cantidad de gérmenes. Observase algunos libres, fácilmente delineados y otros constituyendo acúmulos densos de difícil individualización. **-C.** Verruga Peruana en resolución inicial. Coloración Warthin-Starry. Los acúmulos bacterianos son prominentes y compactos, aunque poniendo atención pueden identificarse las unidades bacterianas. Nótese que el aspecto sugiere la incorporación de los gérmenes en los citoplasmas celulares. **-D.** Verruga Peruana resolución inicial. Coloración Warthin-Starry. Bacilo bien definido, solitario en el intersticio.

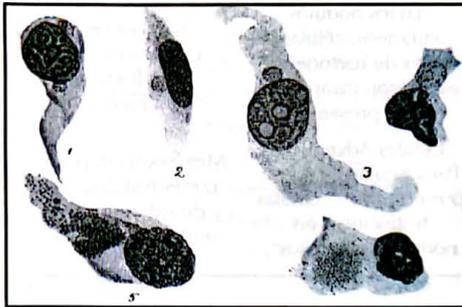


Fig. 7. Tomado de Rocha-Lima, 1913. Dibujos de frotis.

Pero ¿a qué viene esta digresión?. No nos impacientemos y entremos al eje del argumento. Todos somos testigos, en tiempos recientes, de lo que podemos llamar la saga del SIDA y de las múltiples facetas como esta pandemia ha influenciado en la medicina contemporánea.

El asunto que nos interesa comenzó con la enfermedad misma. Desde las primeras descripciones una de las curiosidades, todos recordarán, fue que los pacientes de SIDA presentaban sarcoma de Kaposi -tumor vascular maligno- en grupos de edad distintos a lo tradicionalmente conocido. En 1983 Stoler y col.⁽³⁰⁾ describieron un caso de SIDA que presentó múltiples nódulos subcutáneos con una histología que, dicen los autores: recordaba al "hemangioma histiocitoide" de Rosai. Encuentran bacilos Warthin-Starry positivos en las lesiones, que desaparecieron después del tratamiento con eritromicina. En 1987 Cockerell y col.⁽³¹⁾, desconociendo el informe anterior, describieron cinco pacientes con SIDA en los cuales encuentran lesiones cutáneas, papulares o nodulares, con un cuadro histológico que consideran diferente del sarcoma de Kaposi y similar al "hemangioma histiocitoide" de Rosai: proliferación de pequeños vasos

sanguíneos, limitados por células endoteliales prominentes que protruyen el lumen y células cuboidales con núcleos vesiculosos y amplio citoplasma. En 1988 Leboit y col.⁽³²⁾ describen siete casos similares, con lesiones clínicas indistinguibles del sarcoma de Kaposi, pero con histología de "hemangioma epiteloide" (ergo "histiocitoide").

La microscopía electrónica demostró colonias bacilares y las tinciones positividad con el Warthin-Starry. Usando antisuero para el germen de la enfermedad del arañazo del gato y la técnica de la inmunoperoxidasa, mostraron positividad en cinco casos. Los autores destacan la similitud histológica con la verruga peruana, citando nuestro trabajo que acababa de aparecer en la literatura americana. Leboit, de la Universidad de California, entra en contacto con nosotros e intercambiamos láminas de nuestros respectivos materiales de estudio.

Vemos que hasta este momento, la singular lesión en el SIDA, es considerada un "hemangioma", esto es un "tumor", no obstante la presencia de gérmenes y del reconocido parecido con la verruga peruana. En 1989 Leboit y col.⁽³³⁾ amplían su casuística e introducen, en armonía con la etiopatogenia, el término "angiomas bacilares". Ahora ya estamos frente a una denominación mas adecuada, se trata de una reacción parecida a la verruga peruana y producida también por gérmenes.

La designación «angiomas bacilares», por apropiada, se hizo popular y en todas las latitudes se comunicaron casos similares en asociación al SIDA. Hemos descrito esta novel enfermedad en nuestro medio y, en efecto, comprobado la similitud con la verruga peruana (Fig.13A y 13B)⁽²⁰⁾. Notamos, sin embargo, que los bacilos positivos con el Warthin-Starry, se agregaban formando acúmulos más compactos (Fig.13C y 13D) que los que hemos ilustrado en la verruga peruana.

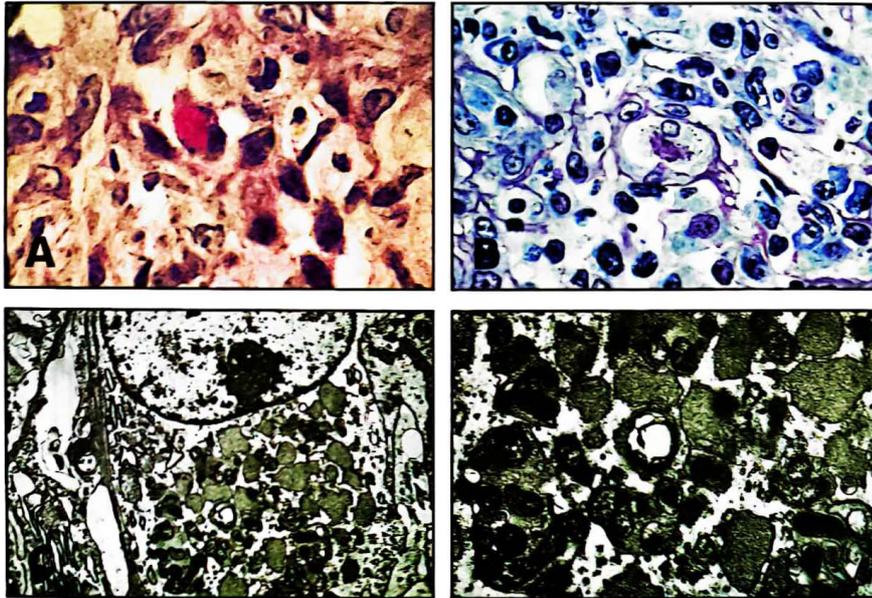


Fig. 8 -A. Célula de Rocha-Lima. Verruga peruana. Lesión nodular en fase inicial de regresión. Fijación formol 10%. Inclusión en parafina. Coloración Giemsa. En la parte central se ve célula con masa rojo-violácea bien definida en el citoplasma. Logra observarse ligera granularidad. Nótese el contraste con las células. **-B.** Inclusión en glicol-metacrilato. Coloración de Giemsa. En la parte central se observa célula con gran inclusión citoplasmática en el polo opuesto al núcleo. Nótese la fina granularidad. Compárese la nitidez de las células en relación con la Fig. 8-A. **-C.** Célula endotelial con múltiples vacuolas fagocíticas. En ellas se ven bacterias lisadas y matriz de sustancia fundamental. Este es el aspecto ultraestructural de la inclusión de Rocha-Lima. (x 7900). **-D.** Mayor aumento de la figura anterior. Se ve numerosas vacuolas citoplasmicas fagocíticas conteniendo sustancia matriz y bacterias en variable estado de degradación (x24,960).

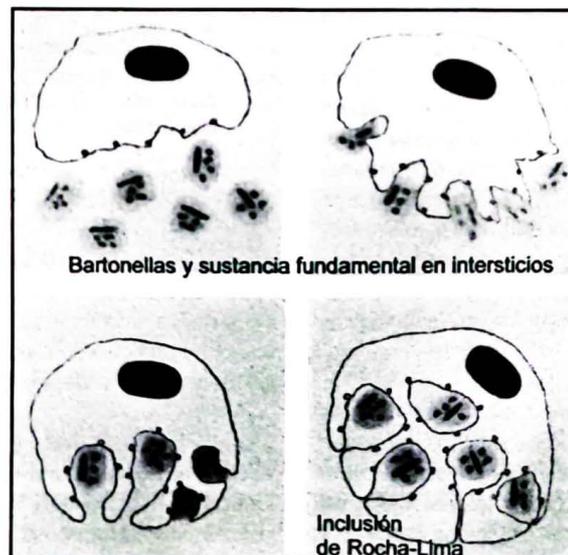


Fig. 9. Esquema que ilustra el mecanismo de captación de las Bartonellas, por las células endoteliales, del tejido intersticial.

Pero las conexiones no quedaron aquí. ¿Qué germen era este? En 1990, usando el PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa) se logró amplificar el RNA ribosomal 16S bacteriano, directamente de los tejidos infectados con la angiomatosis bacilar. El análisis secuencial del DNA complementario reveló un microorganismo rickettsial con un 98.3% de homología con la *Rochalimaea quintana*, el agente patógeno de la fiebre de las trincheras⁽³⁵⁾. Poco después, Regnery y col. identificaron otro organismo, genotípicamente parecido, la *Rochalimaea henselae*,

en un paciente HIV positivo⁽³⁵⁾ y Koehler y col.⁽³⁶⁾ reportaron el aislamiento y cultivo de la *Rochalimaea henselae* y *Rochalimaea quintana* de lesiones de «angiomatosis bacilar». Poco duró, sin embargo, esta aparente solución del problema.

Basados en la similitud histológica, entre la verruga peruana y la angiomatosis bacilar, Cockerell y col.⁽³⁷⁾ compararon el perfil cromatográfico de ácidos grasos de la *Bartonella bacilliformis* y del germen de la angiomatosis bacilar, encontrando que eran



Fig. 10. Célula con inclusión de Rocha-Lima. Tinción Giemsa. Inclusión en metacrilato. Aspecto típico. Rasgo histológico infrecuente.

similares. Por fin entendemos las similitudes histológicas!!. Con la rapidez con la que hoy ocurren los fenómenos, en meses o semanas, fueron cambiando las ideas. Birtles y col. en 1991⁽³⁸⁾ determinan la secuencia del DNA, codificadora para el 16SrRNA en la *Bartonella bacilliformis* y basados en la similitud de estas secuencias, contenido de guanina más citosina, tamaño del genoma y otras características- con otras bacterias, Brenner y col. en 1993⁽³⁹⁾, proponen -y es aceptado- fusionar el género *Rochalimaea*, de la Familia Rickettsiaceae, y el género *Grahamella* con el género *Bartonella*, creándose una nueva y gran Familia Bartonellaceae, que incluye *B. bacilliformis*, *B. quintana*, *B. henselae*, *B. elizabethae*, *B. vinsoni*, *B. talpae*, *B. peromysci*, *B. grahamic*, *B. taylori*, *B. dosihiae*. De estas Bartonellas, hasta hoy día, son cuatro las que han mostrado patogenicidad en la especie humana (Tabla 2). Con gérmenes reconocidos y cultivados, antisueños y tecnología molecular, los estudios epidemiológicos menudean⁽⁴⁰⁾.

Abreviando, resulta que, para el caso de la angiomatosis producida por la *B. henselae*, todo indica que los gatos son reservorios importantes y que las pulgas pueden actuar como insectos vectores^(41,42). Obviamente, hay preguntas, por ahora, sin respuesta. ¿Por qué la *Bartonella quintana* origina en unos casos la fiebre de las trincheras, en otros angiomatosis, y en otros peliosis, septicemia o endocarditis?, ¿Por qué la *Bartonella henselae* produce en unos la enfermedad del arañazo del gato, en otros angiomatosis, y en otros peliosis?, ¿Se encontrará cuerpos de Rocha-Lima en las lesiones de angiomatosis?, ¿Ocurrirán casos de algunas de las dolencias, antes citadas, en asociación con la *Bartonella bacilliformis*?

Pero hay, finalmente, algo más. Hasta hace poco la angiomatosis bacilar era una enfermedad nueva, dentro del marco del SIDA. El tema, como todo en estos tiempos, se complica. Primero, no fue sorpresa que se comenzaran a describir casos asociados al tratamiento de linfomas y otras terapéuticas inmunosupresoras^(43,44). El asunto es que se ha

Tabla 2: BARTONELLOSIS HUMANA

<i>Bartonella henselae</i>.	"Angiomatosis bacilar", Enfermedad del arañazo del gato" (con ayuda, en casos, del <i>Afipia felis</i>) y "Peliosis".
<i>Bartonella quintana</i>.	"Angiomatosis bacilar", "Fiebre de las trincheras", "Peliosis", "Endocarditis" y "Septicemia".
<i>Bartonella elizabethae</i>.	"Endocarditis".
<i>Bartonella bacilliformis</i>.	"Verruga peruana",

comenzado a describir casos de angiomatosis bacilar en pacientes inmunocompetentes y HIV negativos⁽⁴⁵⁻⁴⁷⁾. Esto es, estamos frente a una nueva condición que, como acaba de enfatizar Jane M. Nosal, merece nuestra general atención, por cuanto, si bien fácilmente curable, dejada sin tratamiento puede ser fatal⁽⁴⁸⁾.

Lo dicho, creo, hace evidente que la enfermedad regional peruana ha cobrado una nueva perspectiva. Hoy bacteriólogos moleculares encuentran un campo propicio a la exploración básica en las Bartonellosis. Enumeremos, al paso, algunos de los temas recientemente dilucidados: Rasgo fundamental, como hemos señalado e ilustrado, de la verruga peruana, es la capacidad de inducir una intensa proliferación de células endoteliales. Pues bien, de los sobrenadantes de cultivos de *B. bacilliformis* y de extractos del cuerpo bacteriano se ha aislado una fracción proteica que "in vitro" e "in vivo" estimula la proliferación de células endoteliales humanas⁽⁴⁹⁾ (Fig.14). Pertinente es subrayar que el grupo de investigadores responsables de este hallazgo fue dirigido por un peruano, hijo de un ilustre miembro de nuestro claustro.

La *B. bacilliformis* tiene capacidad de incorporarse a los glóbulos rojos y a diversos tipos de células nucleadas. Pues bien, se ha aislado, de los sobrenadantes de cultivos de *B. bacilliformis*,

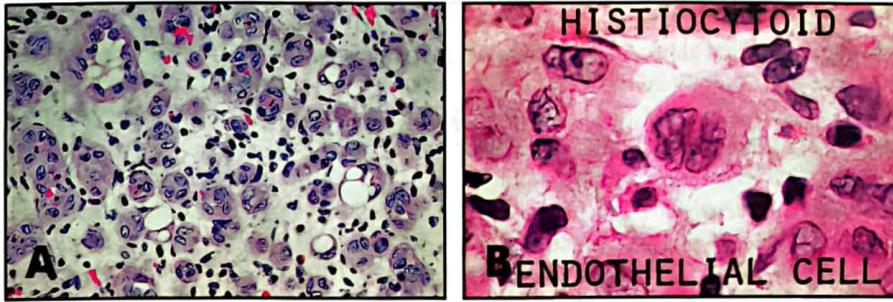


Fig. 11 -A. Hemangioma Histiocitoide. Coloración H-E. Obsérvese vasos limitados Por células cúbicas o poligonales de amplio citoplasma. (Cortesía: Dr. Juan Rosai). **-B.** Hemangioma Histiocitoide. Coloración H-E. (Cortesía: Dr. Juan Rosai). La morfología celular aparenta, realmente, un histiocito.

una fracción que reproduce los cambios de membrana que ocurren cuando se pone en contacto la bartonella con los glóbulos rojos. Esta fracción hidrofóbica, denominada "deformina" es una proteína de 67 a 130 kDa.⁽⁵⁰⁾

Se ha reconocido la composición química de los flagelos de la *B. bacilliformis* y encontrado una similitud con la de algunas bacterias de plantas⁽⁵¹⁾. Digamos, al margen, que las bacterias de vegetales, relacionadas con la *B. bacilliformis*, dan lugar a procesos de tipo tumoral en las plantas. La *Agrobacteria tumefaciens* produce una proliferación celular que origina una excrecencia en forma de callo, y la *Rhizobium meliloti* produce en las raíces nódulos fijadores de nitrógeno. Estas dos formaciones se han considerado análogas a las verrugas.

En fin, se ha definido el mapa físico del genoma de la *Bartonella bacilliformis* (Fig.15), comprobando que es una molécula circular de DNA de 1600 kb (39-40% GC), que

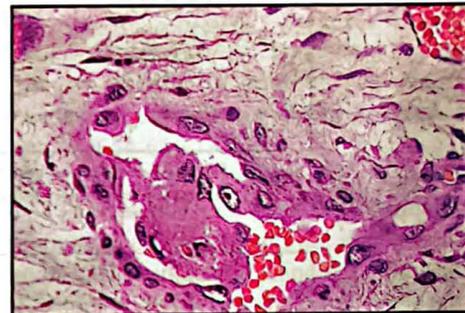


Fig. 12. Hemangioma Histiocitoide Oseo. Coloración H-E. Laboratorio de Patología Arias-Stella. N. 60882. El origen endotelial de las células histiocitoides es evidente.

contiene 6 sitios Not I y 4 Sfi I⁽⁵²⁾.

Como un actor, casi ignorado, de reparto, que después de una buena representación, asciende súbitamente a las

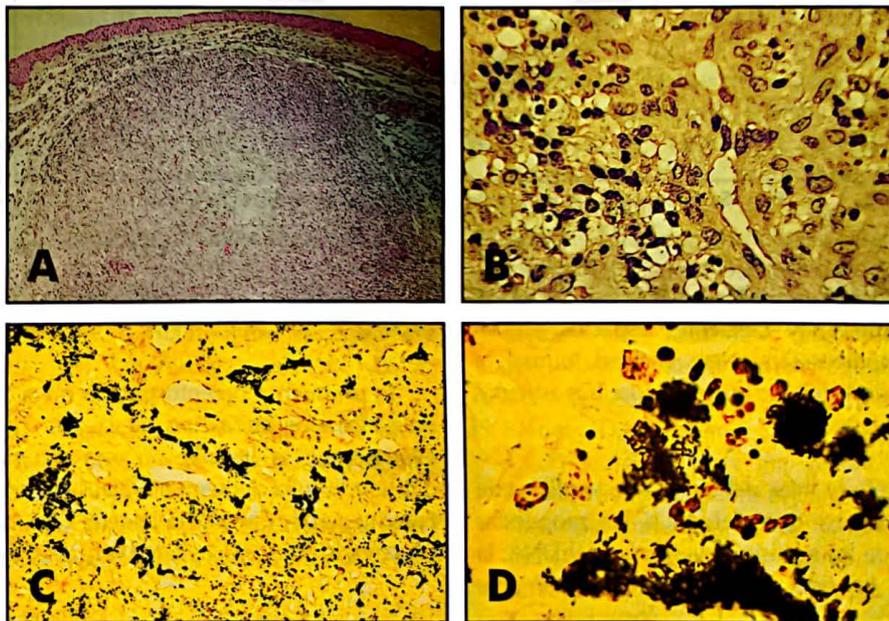


Fig. 13 -A. Angiomatosis Bacilar. Lesión de la conjuntiva bulbar. Vista panorámica, por debajo de un delgado epitelio se ve nódulo angiomatoso, compacto bien circunscrito. **-B.** Angiomatosis Bacilar. Lesión de la conjuntiva bulbar. Mayor aumento del anterior, mostrando los neocapilares limitados por las células de citoplasma amplio. Obsérvese polinucleares en el intersticio. Coloración H-E. **-C.** Angiomatosis Bacilar. Coloración Warthin-Starry. Vista semi-panorámica. Grandes acúmulos de bacilos en los intersticios. Obsérvese el contraste entre la coloración negruzca de los gérmenes y el fondo amarillento de los vasos y células inflamatorias. **-D.** Angiomatosis Bacilar. Coloración Warthin-Starry. Vista a mayor aumento de un área con grandes acúmulos de gérmenes. Se ven masas negruzcas densas. Sólo en la periferie de éstas pueden distinguirse los bacilos individuales.

- Tomo XXVIII, Num. 317.
4. Barton, A. Sobre la Hematología y Etiología de la Enfermedad de Carrión. *La Crónica Med.*, 1909; XXVI, N. 504.
 5. Correa, P., Arias-Stella, J., Pérez Tamayo, R. y Carbonell, L. *Texto de Patología*. La Prensa Med. Mejicana, 1970; págs. 222-229.
 6. Arias-Stella J., Lieberman PH., Erlandson R., Arias-Stella J. Jr. Histology, immunohistochemistry and ultrastructure of the verruga in Carrion's disease. *Am J Surg Pathol* 1986; 10: 595-610.
 7. Takano-Morón J. Enfermedad de Carrión (Bartonellosis Humana). Estudio morfológico de la fase hemática y del período eruptivo con el microscopio electrónico (Tesis Doctoral). Lima, Perú: Facultad de Medicina, 1970.
 8. Recavarren S., Lumbreras H. Pathogenesis of the verruga of Carrion's disease. *Am J Pathol* 1972; 66: 461-70. 9.
 9. Izquierdo V. Spaltpilze bei der Verruga peruana. *Virchow's Arch* 1885; 99: 411-8.
 10. Letulle M. Histologie pathologique de la verruga peruvienne. *Compt Rend Soc Biol Par* 1898; 5: 764-5.11.
 11. Escomele E. Anatomie pathologique du verrucoma de Carrion. *Ann Dermatol Syphiligr (Paris)* 1902; 3: 961-84.
 12. Mackehenie D., Battistini T. Contribución al estudio de la Verruga Peruana. *Arch Assoc Peruana Progreso Ciencia* 1922; 2: 14-8.
 13. Mackehenie D., Weiss P. Contribución al estudio de la Verruga Peruana. *Gac Med Peruana* 1926; 4: 51-9.
 14. Pinkerton H., Weinman D. Carrion's disease .II. Comparative morphology of the etiological agent in Oroya Fever and Verruga Peruana. *Proc Soc Exp Biol Med* 1937; 37: 591-3.
 15. Urteaga O., Calderón J. Ciclo biológico de reproducción de la Bartonella bacilliformis en los tejidos de pacientes de Verruga Peruana o enfermedad de Carrión. *Arch Peruanos Pathol Clin* 1965; 19: 1-37.
 16. Cole HN. Verruga Peruviana and its comparative study in man and the ape. *Arch Intern Med* 1912; 10: 668-74.
 17. Rocha-Lima H. Zur Histologie der Verruga Peruviana. *Verh Dtsch Ges Pathol* 1913; 16: 409-16.
 18. Strong RP, Tyzzer EE., Brues CT., Sellards AW., Gastiaburu JC. Report of first expedition to South America (1913) Harvard School of Tropical Medicine. Cambridge, MA: Harvard University Press, 1915.
 19. Cuadra M. Cultivo del Verrucoma. *Anales Fac Med Lima* 1966; 49: 646-58.
 20. Arias-Stella J., Bravo-Puccio F., Arias-Stella C. J. Angiomatosis Bacilar en el Perú. Una nueva forma de Bartonellosis que es necesario diferenciar de la Verruga Peruana. *Folia Dermatológica* 1996; 7: N^o2, 31-6.
 21. Arias-Stella, J. Jr. and Arias-Stella, J. Warthin-Starry stain identifies Bartonella bacilliformis in Verruga Peruana. *Mod. Pathol.* 10(1) 41, a, 1997.
 22. Mayer M., Rocha-Lima H., Werner H. Untersuchungen über Verruga Peruviana. *Munch Med Wochenschr* 1913; 60: 739-44.
 23. Aldana L. Estados Biológicos de la Bartonella en la Enfermedad de Carrión. 1-115. Lima. 1947.
 24. Bedson Sp., Bland JOW. A morphologic study of Psittacosis virus with the description of a developmental cycle. *Br J Exp Pathol* 1932; 13: 461-6.
 25. Bland JOW., Canti RG. The growth of Psittacosis virus in tissue cultures. *J Pathol Bact* 1935; 40: 231-41.
 26. Arias-Stella J., Arias-Stella C., J. Las inclusiones de Rocha Lima en la Verruga Peruana. *Folia Dermatológica Peruana* 1996; 7, (3-4), 37-42.
 27. Rosai, J., Gold, J. and Landy, R. The histiocytoid hemangiomas. *Human Pathology* 10: 707-739, 1979.
 28. Enzinger FM. y Weiss SW. *Soft Tissue Tumors*. The C.V. Mosby company, San Luis-Toronto-London, 1983, págs. 391-397.
 29. Weiss, SW., Enzinger FM. Epithelioid hemangioendothelioma: a vascular tumor often mistaken for a carcinoma. *Cancer* 50: 970, 1982.
 30. Stoler, M.H., Bonfiglio, T.A., Steigbigel, R.T. and Pereira, M. An atypical subcutaneous infection associated with acquired immune deficiency syndrome. *An. J. Clin. Pathol.* 80: 714-718, 1983.
 31. Cockerell, C.J., Webster, G.F. et al. Epithelioid angiomatosis: a distinct vascular disorder in patients with the acquired immunodeficiency syndrome or AIDS related complex. *Lancet*: Sept. 19: 654-656, 1987.
 32. Leboit, P.E., Egbert, B.M., Stoler, M.H. et al. Epithelioid hemangioma like vascular proliferation in patients with the acquired immunodeficiency syndrome: manifestation of cat scratch disease bacillus infection?. *Lancet*: 1: 960-963, 1988.
 33. Leboit, P.E., Berger, T.G. et al. Bacillary angiomatosis the histology and differential diagnosis of a pseudo neoplastic infection in patients with human immunodeficiency virus disease. *Am. J. Surg. Pathol.* 1989; 13: 909-920.
 34. Relman, D., Loutit, J.S., Schmidt T.M., Falkow, S. and Tompkins, L.S. The Agent of Bacillary angiomatosis approach to the identification of Uncultured pathogens. *The New England Journal of Medicine*. 1990; 323, (23) Dec. 6.
 35. Regnery RL., Anderson BE., Clarridge JE. III, Rodriguez-Barradas MC., Jones DC., Carr JH. Characterization of a novel Rochalimaea species, *R. henselae* sp. nov., isolated from blood of a febrile, human immunodeficiency virus-positive patient. *J Clin Microbiol* 1992; 30: 265-74.
 36. Koehler JE., Quinn FD., Berger TG., et al. Isolation of Rochalimaea species from cutaneous and osseous lesions of bacillary angiomatosis. *N Engl J Med* 1992; 327: 1625-1631.
 37. Cockerell CJ., Tierno PM., Friedman-Kien AE., Kim KS. Clinical, histologic, microbiologic and biochemical characterization of the causative agent of bacillary (epithelioid) angiomatosis: a rickettsial illness with features of Bartonellosis. *J Invest Dermatol* 1991; 97: 812-7.
 38. Birtles, R.T., Harrinson, T.G., Fry, N.K. Saunders, N.A. and Taylor, A.G. Taxonomic considerations of Bartonella bacilliformis based on phylogenetic and phenotypic characteristics. *FEMS Microbiol, Lett.* 1991; 67, 187-191.
 39. Brenner, D.J., O'Connor, S.P., Winkler, H.H. and Steigerwalt, A.G. Proposal to unify the genera Bartonella and Rochalimaea, with descriptions of Bartonella quintana comb. nov. Bartonella vinsoni comb. nov. Bartonella henselae comb. nov. and Bartonella elizabethae comb. nov. And to remove the family Bartonellaceae from the order Rickettsiales. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1993; 43, 777-786.
 40. Tappero JW., Mohle-Boetani J., Koehler JE., et al. The epidemiology of bacillary angiomatosis and bacillary peliosis. *JAMA* 1993; 269: 770-775.
 41. Zangwill KM., Hamilton DH., Perkins BA., et al. Cat scratch disease in Connecticut: epidemiology, risk factors, and evaluation of a new diagnostic test. *N Engl J Med* 1993; 329: 9-

- 13.
42. Koehler JE., Glaser CA., Tappero JW. *Rochalimaea henselae* infection: a new zoonosis with the domestic cat as reservoir. *JAMA* 1994;271:531-535.
43. Milde P., Brunner M., Borchard F., et al. Cutaneous bacillary angiomatosis in a patient with chronic lymphocytic leukemia. *Arch Dermatol* 1995;131:933-936.
44. Torok L., Viragh SZ., Borka I., et al. Bacillary angiomatosis in a patient with lymphocytic leukaemia. *Br J Dermatol* 1993;130:665-668.
45. Cockerell CJ., Bergstresser PR., Myrie-Williams C. et al. Bacillary epithelioid angiomatosis occurring in an immunocompetent individual. *Arch Dermatol* 1990;126:787-790.
46. Tappero JW., Koehler JE., Berger TG., et al. Bacillary angiomatosis and bacillary splenitis in immunocompetent adults. *Ann Int Med* 1993;118:363-365.
47. Paul MA., Hyg Msc, Fleischer AB., et al. Bacillary angiomatosis in an immunocompetent child: the first reported case. *Ped Dermatol* 1994;11:338-341.
48. Nosal J.M. Bacillary angiomatosis, cat-scratch disease, and Bartonellosis: what's the connection?. *International Journal of Dermatology* 1997;36, 405-411.
49. García FU., Wojta J., Broadley KN., Davidson JM., Hoover RL. *Bartonella bacilliformis* stimulates endothelial cells in vitro and is angiogenic in vivo. *Am.J. Pathol* 1990.
50. Mernaugh, G. and Ihler, G.M. Deformation factor: an extracellular protein Synthesized by *Bartonella bacilliformis* that deforms erythrocyte membranes. *Infect. Immun.* 1992; 60, 937-943.
51. Bergman, K., Nulty, E. and Su, L. Mutations in the Two flagellin genes of *Rhizobium meliloti*. *J. Bacteriol.* 1991; 173, 3716-3723.
52. Krueger, Ch. M., Marks, K.L. and Ihler G. M. Physical Map of the *Bartonella bacilliformis* Genome. *J. of Bacteriol.* 1995; 177, (24), 7271-7274.
53. *New Engl J Med.* 1997; 337 (26), 1876,1888,1916.
54. Ihler, G. M. *Bartonella bacilliformis*: dangerous pathogen slowly emerging from deep background *FEMS Microbiol. Lett.* 1996; 144, 1-11.
55. Leboit, P. E. In Consultation. Bacillary Angiomatosis. *Modern Pathology.* 1995, 8, (2), 218-222.
56. Connor, D. H. and Chandler, F. W. *Pathology Infectious Diseases.* Appleton & Lange, Stanford, Connecticut, 1997, page 435.