

EPIDEMIOLOGÍA DE LA BARTONELOSIS EN EL PERU

**Módulos Técnicos
Serie Documentos Monográficos N° ...
Lima 2000**

Módulo Técnico dirigido a médicos y otros profesionales de la salud, que frente a esta enfermedad necesiten información sistematizada en clínica, diagnóstico y procedimientos de vigilancia epidemiológica que sea útil para las acciones de prevención y control de estos daños

MINISTERIO DE SALUD

Dr. Alejandro Aguinaga Recuenco
Ministro
Dr. Alejandro Mesarina Gutiérrez
Vice Ministro

OFICINA GENERAL DE EPIDEMIOLOGÍA

Dr. Percy Minaya León
Director General
Dr. Roberto Del Aguila Vásquez
Director Ejecutivo de Vigilancia y Evaluación Epidemiológica

INSTITUTO NACIONAL DE SALUD

Dr. Eduardo Falconí Rosadio
Jefe
Dra. Nora Reyes Puma
Sub-jefe

Elaboración y Redacción:

Paúl Esteben PACHAS CHAVEZ

Médico Cirujano por la Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Especialista en Epidemiología de Campo por la Universidad Peruana Cayetano
Heredia
Maestro en Salud Pública por la Universidad Peruana Cayetano Heredia

Un proyecto conjunto de:

**LA OFICINA GENERAL DE EPIDEMIOLOGÍA (OGE)
EL INSTITUTO NACIONAL DE SALUD (INS)**

DEL MINISTERIO DE SALUD DEL PERÚ.

Participaron en la revisión y corrección de los textos

- Instituto Nacional de Salud
- Oficina General de Epidemiología
- Víctor Alberto LAGUNA TORRES, Oficina General de Epidemiología
- Oficina General de Epidemiología

EPIDEMIOLOGIA DE LA BARTONELOSIS EN EL PERU Módulo Técnico

Paúl Esteben PACHAS CHAVEZ
Médico Epidemiólogo

I) INTRODUCCIÓN

HISTORIA DE LA ENFERMEDAD

- Breve reseña en el mundo. Reseña de la enfermedad en el país. Datos históricos.

II) MICROBIOLOGIA

- Características microbiológicas y del agente etiológico. Clasificación microbiológica. Desarrollo en medios de cultivo Estructura antigénica Factores de virulencia.

III) PATOGENIA/ FISIOPATOLOGIA

Mecanismo de patogenia. Teorías.

IV) ANATOMIA PATOLÓGICA

V) ASPECTOS CLINICOS

- Características clínicas
- Formas clínicas
- Síndromes
- Esquemas de tratamiento. Criterios de internamiento
- Presentación en animales

VI) EPIDEMIOLOGÍA EN HUMANOS

Distribución geográfica Ciclos de transmisión.

VII) EPIDEMIOLOGÍA DE LOS VECTORES

Reservorio

Factores de riesgo

Epidemiología de la Enfermedad de Carrión en el Perú

Oficina General de Epidemiología / Instituto Nacional de Salud

Situación epidemiológica en el país

VIII) EPIDEMIOLOGÍA DE LOS RESERVORIOS

IX) DIAGNOSTICO DE LABORATORIO

- Generalidades.
- Obtención de la muestra.
-
-

X) DIAGNOSTICO DIFERENCIAL

- Bases para el diagnóstico diferencial

XI) PROCEDIMIENTOS PARA LA VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA

Sistema de información

Definiciones de caso

Manejo de muestras. Fluxograma de manejo de muestras.

XII) MEDIDAS DE PREVENCIÓN Y CONTROL

MEDIDAS DE PREVENCIÓN.

MEDIDAS DE CONTROL. ACCIONES ANTE LA PRESENCIA DE CASOS. TRATAMIENTO

XIII) ANEXOS

Ficha Clínico epidemiológica. Ficha de envío de muestra. Ficha de investigación

XIV) REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

EPIDEMIOLOGIA DE LA BARTONELOSIS EN EL PERU AL INICIO DEL TERCER MILENIO

Paúl PACHAS CHAVEZ
Médico Epidemiólogo
Maestro en Salud Pública

I) INTRODUCCIÓN

HISTORIA DE LA ENFERMEDAD

Periodo Preinca-Inca

Determinar con precisión la fecha del origen de la Enfermedad de Carrión en el Perú no está claro. Esta imprecisión se debe a que no existen referencias escritas de casos de bartonelosis durante el periodo pre inca e inca, ya que nuestros antepasados desconocían la escritura, sin embargo existen evidencias de que fueron conocidas por culturas precolombinas de Perú y Ecuador^{1,2}. Se han encontrado huacos de cerámica antropomórfica de las culturas Mochica, Chimú y en 4 monolitos de la cultura Huaylas³ con lesiones verrucosas. Un huaco que representa a un hombre con lesiones verrucosas semejante a botones que cubren la cara e incluso los ojos y la boca ha sido encontrado en la Bahía de Caraquez, actualmente la Provincia de Manabí, Ecuador¹. En esta misma zona ha sido hallado una máscara con lesiones similares que corresponde a la cultura Jama Coaque que floreció 5 siglos a.C.

Durante el periodo inca, la historia refiere que en 1525 cuando Huayna Capac retornaba a su palacio en Tumibamba, recibió la noticia de que la ciudad imperial del Cusco había sufrido una epidemia devastadora falleciendo más de 200,000 personas. Huayna Capac se dirigió a Quito, pero poco tiempo después él, su general Minacnacamayta y muchos otros oficiales fallecieron. Sin embargo, no está claro si fue una epidemia de Enfermedad de Carrión puesto que está ausente la descripción de la fase verrucosa; la descripción de fiebre con rash y alta mortalidad sugiere una enfermedad exantemática; además, la rapidez de su diseminación y el hecho de que Huayna Capac enfermara después de recibir al mensajero del Cusco, centro de la epidemia, sugiere transmisión por contacto persona a persona más que a diseminación por un vector artrópodo.

Periodo de la conquista y colonia

En el Ecuador, los primeros colonizadores describen una enfermedad que muchos escritores la refieren como “berrugas” y “verruga de los andes”⁴. Además, en la lengua quechua de los antiguos peruanos, existen los nombres de las siguientes enfermedades “sirki” : verruga de sangre; “Ticti”: verruga vulgar; y “kceppo”: forunculo o antrax⁵.

En 1531 Pedro Pizarro describe una epidemia de verrugas en Coaque, zona costa del Ecuador que afectó a los españoles « ...una enfermedad que dio de berrugas; tan mala y congojosa que tuvo a mucha gente muy fatigada y trabajada con muchos dolores como si estuvieran de bubas hasta que le salían grandes berrugas por todo el cuerpo, y algunas tan grande como huevos y reventando el cuero le corría materia y sangre que tenían necesidad de cortárselas y echarse en las llagas cosas fuertes para sacar la raíz; otras había tan menudo como el sarampión, de que se henchían los hombres todo el cuerpo. Pocos escaparon que no las tuvieron, aunque a unos dio más que a otros. Otros quisieron decir que causó esta enfermedad de unos pescados que comieron en Puerto Viejo, que los indios dieron de malicia a los españoles... ».

Juan Cristóbal Calvete de Estrella al escribir sobre la rebelión de Francisco Pizarro contra la corona española después de la conquista del Imperio Inca, refiere que en 1547 partió un ejército desde Panamá para acabar con la rebelión, pero muchos soldados se enfermaron al pasar por Puerto Viejo con “verrugas sobre su nariz, ceja o barba tan grande o mayor que

una nuez, de color rojo y negro, duran de 4 a 5 meses, finalmente empiezan a curar y los que sufrieron la enfermedad permanecen sanos y sin cicatrices”

Aunque para muchos ambas epidemias no fueron de bartonelosis, es necesario comentar que en esta misma zona se ha encontrado un huaco y una máscara con lesiones verrucosas y actualmente es una de las zonas endémicas de Ecuador, que reporta el mayor número de casos de Enfermedad de Carrión en fase eruptiva, postulándose que sea una cepa de *B. bacilliformis* menos virulenta.

Miguel Estete, uno de los conquistadores y el cronista oficial de los eventos militares, describió en 1540 la historia natural de la enfermedad incluyendo las dos fases: una fase febril y debilitante seguida por un brote en la piel benigno, consistente en verrugas llenas de sangre y es más severa en los no nativos.

El primer reporte de la Enfermedad de Carrión en el Perú lo realiza el cirujano Gago de Vadillo en 1632, describe la primera zona verrucosa en la localidad de Huaylas, departamento de Ancash, y pensaba que las verrugas eran producidas al beber agua⁶.

En 1764 el cosmógrafo Cosme Bueno al describir la provincia de Canta, recoge el conocimiento folklórico sobre la verruga y la uta y escribe «.....Las quebradas son muy enfermizas, en que se notan dos males que también se observan en otras provincias frías. El uno es de berrugas, que en no brotando a tiempo suele ser enfermedad bien molesta, y peligrosa. El otro es unas llagas corrosivas, especialmente en la cara, de difícil curación, y de que perecen algunos. Dicese que tiene su origen de la picadura de un pequeño insecto, que llaman uta... » . Este es la primera publicación en la que se menciona que la bartonelosis es transmitida por un vector.

Periodo del siglo XIX

La descripción por primera vez de la verruga peruana (verruga andícolica) como una nueva enfermedad lo realiza Tomas Salazar en 1858. En su tesis de bachiller describe la historia natural de la enfermedad reconociendo dos estadios, una primera fase con fiebre, anemia y debilidad y la segunda fase con presencia de verrugas⁷, esta tesis tiene importancia porque 27 años antes del sacrificio de Carrión ya se había postulado la unidad clínica entre la Fiebre de la Oroya y la verruga peruana. En 1861 se presenta una segunda tesis sobre bartonelosis, Armando Velez estudia la histología del botón verrucoso de la piel y las mucosas⁸.

En 1868 el Ingeniero Henry Meiggs, quien había construido exitosamente el ferrocarril en Chile, firma un contrato para construir seis ferrocarriles en el Perú por un costo de 129 millones de dólares americanos; uno de ellos era el ferrocarril de la Oroya que debería ir del Callao hasta La Oroya, iniciándose la construcción en este mismo año. Se estima que se necesitaron alrededor de 10,000 obreros, de los cuales, alrededor del 50% de los obreros eran chinos y el otro 50% chilenos, bolivianos y nativos. Dos años después, en 1870 aparece una misteriosa enfermedad, que fue llamada por Pancorvo como Fiebre de la Oroya, a pesar que la ciudad de la Oroya estaba a muchos kilómetros de distancia y a 4000 msnm. La llamo así, porque pensaba que era producida por las propiedades “miasmáticas” de la tierra y la gravel traída desde la ciudad de la Oroya, y utilizada como material de relleno en la construcción del ferrocarril⁷. Se estima que esta epidemia mato a cerca de 7,000 obreros^{2,9}. La aparición de esta epidemia produce un gran debate sobre la etiología de la enfermedad entre los médicos de la compañía del ferrocarril y los médicos peruanos, especialmente entre los profesores y alumnos de la Escuela de Medicina de Universidad de San Marcos de Lima (San Fernando). A pesar de los innumerables debates académicos, reconocieron equivocadamente a la Fiebre de la Oroya como una nueva enfermedad, diferente a la verruga peruana, a pesar de que en ese momento había tres observaciones bien establecidas: 1) el conocimiento de los nativos con relación a las características reales de la enfermedad 2) la tesis de Salazar que describía las dos fases de la enfermedad y 3) los obreros del ferrocarril que enfermaban con Fiebre de la Oroya y que sobrevivían, posteriormente desarrollaban verrugas⁷.

El hito más importante y trascendental en la historia de la bartonellosis, fue el experimento de Daniel Alcides Carrión, un estudiante de medicina que investigaba la distribución geográfica y las características clínicas de la verruga peruana para sustentar su tesis. Sus padres fueron Baltazar Carrión un médico Ecuatoriano que ejercía su profesión en Cerro de Pasco y su madre Doña Dolores Guerrero. Estudió en el Colegio Nacional Nuestra Señora de Guadalupe, ingresó a la Universidad de San Marcos, donde se especializó en ciencias naturales. En 1879 postuló a la Escuela de Medicina de San Fernando fracasando en su primer intento, pero volvió a postular en 1880, siendo admitido en esta oportunidad. En 1881 participó como trabajador de salud en la batalla de Miraflores, justo antes de que los chilenos ocuparan la ciudad de Lima. Después de ser ocupada la ciudad, los chilenos suspendieron las clases de la Escuela de Medicina, pero Carrión y sus compañeros continuaban recibiendo clases clandestinas en casa de los profesores hasta 1884, año que los chilenos abandonaron la ciudad de Lima.

El 27 de agosto de 1885 ayudado por un médico joven Evaristo Chávez, Carrión se autoinoculó en el brazo con sangre de una verruga de la ceja derecha del paciente Carmen Paredes, un niño de 14 años, hospitalizado en la sala Las Mercedes del glorioso Hospital Dos de Mayo. Veintidós días después, el 17 de setiembre, presenta los primeros síntomas. Desde este momento hasta que fallece el 5 de octubre de 1885 presenta los síntomas y signos clásicos de la Fiebre de la Oroya². Carrión demostró con su sacrificio que la verruga peruana puede ser transmitida y que la Fiebre de la Oroya y la verruga peruana son dos fases de una misma enfermedad. Sin embargo, este hecho no convenció a otros investigadores. Richard Strong quien condujo la primera expedición de Universidad de Harvard era uno de ellos. No fue hasta 1926 con la publicación de los trabajos de investigación de Noguchi y posteriormente confirmado por la segunda expedición de Harvard al Perú en 1937 que se reivindicó a Carrión. La gran confusión que existía sobre las características clínicas de la enfermedad fue aclarada con la publicación de la monografía clásica de Odriozola, que hasta la fecha, aun es considerada como un brillante trabajo y marco una nueva era en el conocimiento de la Enfermedad de Carrión.

Alarcon¹⁰ sostiene que “Carrión fue un investigador científico original desde la forma en que planteó el problema de la verruga peruana y la formulación de una hipótesis que decidió poner a prueba, pero a la vez se reveló como un agudo observador, un fiel experimentador y un gran humanista”

Periodo del siglo XX

Alberto Barton escribe otra página de gloria en la historia de la Enfermedad de Carrión. Nació en 1871, hijo de inmigrantes británicos. En su tesis de bachiller de 1901, identifica y describe cuerpos extraños en los eritrocitos de pacientes con Fiebre de la Oroya, considerándolos como el agente causal de la Enfermedad de Carrión y los llama “Bacilo de Barton”. Tamayo, quien fue uno de los críticos más severos, demostró que aunque los “Bacilos de Barton” existían, no era el agente causal de la Enfermedad de Carrión. Investigaciones posteriores demostraron que era una bacteria ya conocida del grupo coli-tifoide. Barton reconoce su error inicial, y decide continuar su entrenamiento en la Escuela de Medicina Tropical de Londres. Retorno a Lima en 1905 y continuó investigando la etiología de la Enfermedad de Carrión. En 1909 anuncia el descubrimiento del agente causal⁹ (Cueto 1996). Las observaciones de Barton fueron posteriormente confirmadas por la expedición de Harvard en 1913 dirigida por Richard P. Strong; ellos encontraron los organismos en los eritrocitos y en otros tejidos del cuerpo pero no lograron observarlos en los casos de verruga peruana y concluyeron erróneamente que la Fiebre de la Oroya y la verruga peruana eran dos enfermedades distintas. Ellos dieron el nombre de *Bartonella bacilliformis* al agente etiológico de la Enfermedad de Carrión, en honor al descubrimiento realizado por Barton.

En 1910 Jadassohn y Seiffert demostraron la naturaleza infecciosa de la verruga peruana por transmisión seriada en monos. Este trabajo fue confirmado posteriormente por Noguchi y otros.

En 1913 Townsend, un entomólogo americano, es contratado por el gobierno peruano para iniciar los trabajos de investigación e identificar al vector de la enfermedad. Establece su base en Chosica, un pueblo a 40 Km de Lima, a 880 msnm y localizado justo antes de la zona endémica de verruga del valle del río Rimac. Inicialmente Townsend investiga garrapatas y ácaros como probables vectores por varios meses. Pensaba que la Fiebre Manchada de las Montañas Rocosas y la Enfermedad de Carrión podrían tener etiología y modo de transmisión similares. Esta investigación no tuvo éxito. Townsend dirige sus investigaciones hacia insectos hematófagos diurnos, pero tampoco tuvo éxito. Toma en cuenta el conocimiento folklórico de los pobladores y trabajadores del ferrocarril de San Bartolomé, quienes pensaban que la enfermedad se transmite durante las noches por un insecto nocturno llamado "titira". En junio de 1913 inicia la captura de insectos nocturnos atraídos por una lámpara en la estación del tren de San Bartolomé, y ayudado por los pobladores reconoce las "titiras"⁶. Después de algunas observaciones, particularmente sobre la distribución y el hábitat de estos insectos, concluye que esta especie de mosquito nocturno es la que transmite la enfermedad y lo llamo *Phlebotomus verrucarum*, actualmente llamado *Lutzomyia verrucarum*⁹.

Dos circunstancias accidentales, convencieron a Townsend de que este era el vector correcto. Una mañana uno de sus dos asistentes despertó con 55 picaduras de insectos sobre la mano y muñeca que estaba en contacto con el mosquitero. Townsend concluyó que eran picaduras producidas por *Phlebotomus*, el insecto predominante durante las noches; poco tiempo después, el asistente presenta lesiones típicas de verruga peruana, mientras que el y su otro asistente permanecían sanos. El segundo episodio, en febrero de 1914 un marino británico es expuesto a 981 *Phlebotomus* capturados en el Cañón de verrugas, sufriendo 199 picaduras durante 26 horas de exposición. Posteriormente presenta fiebre leve e intermitente, dolor de huesos y articulaciones. En junio el marino vuelve a viajar y en noviembre del mismo año es examinado por un médico en California; el marino refirió que en agosto presentó fiebre por una semana y en octubre aparecieron papulas rojizas sobre su brazo. Cuando fue visto en California las papulas casi habían desaparecido. Desafortunadamente no se realizó un buen seguimiento a este caso, el único experimento de transmisión a humanos con *Phlebotomus*. Townsend incrimina por estos hechos a *Phlebotomus verrucarum* como vector de la Enfermedad de Carrión, pero la evidencia fue circunstancial y no directa. La demostración de este y otros *Phlebotomus* como vectores de la Enfermedad de Carrión fue posteriormente confirmada por los minuciosos trabajos de Shannon y Hertig.

Hideyo Noguchi, un investigador del Instituto Rockefeller, llegó al Perú por primera vez en 1919 como parte de la comisión de la Fundación Rockefeller para estudiar la fiebre amarilla en el Perú. Battistini, Herculles y Strong envían muestras de pacientes con verruga peruana y Fiebre de la Oroya a Noguchi. En 1926 Noguchi publica una serie de artículos en el cual describe el aislamiento artificial de *Bartonella bacilliformis* en su medio de Leptospiras, de la sangre de pacientes con Fiebre de la Oroya y verruga peruana¹¹. Las *Bartonellas* aisladas en los cultivos de ambos tipos de pacientes fueron inoculadas a monos jóvenes logrando producir la fase anémica y las lesiones verrucosas características sobre la piel. Los cultivos de la sangre o verruga de los monos inoculados fueron positivos a *B. bacilliformis*¹¹. Noguchi logra demostrar en el laboratorio la unidad etiológica entre la fiebre de la Oroya y verruga peruana, confirmando el hallazgo de Carrión. En 1927 viaja al Africa para demostrar su teoría de que el agente etiológico de la Fiebre Amarilla era *Leptospira icterohaemorrhagiae*. Lamentablemente, enferma de Fiebre Amarilla y fallece el 21 de mayo de 1928.

En 1937 Kuczynski-Godard repite el experimento de autoinoculación de Carrión. Se autoinocula *Bartonellas* cultivadas en tres oportunidades de dos cultivos diferentes. Afortunadamente no falleció, pero presenta la fase anémica de la Enfermedad de Carrión

Epidemiología de la Enfermedad de Carrión en el Perú 10
Oficina General de Epidemiología / Instituto Nacional de Salud

después de un periodo de incubación de 19 días y posteriormente la fase eruptiva. En una segunda oportunidad, se autoinocula con 11 nuevas inyecciones de *Bartonellas* cultivadas para estudiar las reacciones del organismo infectado, en esta oportunidad tampoco fallece. También se reporta que Ovidio García y Tosell se autoinocula con sangre de un enfermo grave, presentando posteriormente solo la fase eruptiva de la enfermedad¹².

La Enfermedad de Carrión se reportaba solo en el Perú hasta 1938, año que ocurre por primera vez un brote en el departamento de Nariño ubicado al sur de Colombia¹³ y en 1940 también por primera vez, se reporta un brote en Ecuador¹⁴.

Durante las siguientes seis décadas se han publicado numerosos artículos que describen las características clínicas, complicaciones, tratamiento, distribución de los vectores, etc.

Entre los más importantes tenemos el estudio de Cuadra¹⁵ quien reporta a la *Salmonella* como principal complicación, la descripción de las lesiones y *Bartonellas* por microscopía electrónica por Takano y Recavaren, Historia de la Enfermedad de Carrión por Uriel García, Epidemiología de la Enfermedad de Carrión por Herrer⁸ descripción de las características clínicas y las complicaciones infecciosas y no infecciosas, el uso de nuevos antibióticos en el tratamiento de fase anémica y eruptiva por Maguiña¹⁶, estudio considerado como uno de los trabajos más brillantes de las últimas décadas, el reporte de otros posibles vectores diferentes de *L. verrucarum* incriminados en la transmisión por Cáceres¹⁷ y por último Larry Laughlin director del Proyecto Verruga, de la Universidad de Servicios Uniformados de Estados Unidos y en colaboración con NAMRID de Lima y la DIRES Ancash están realizando con un equipo multidisciplinario que incluye clínicos, infectólogos, entomólogos, veterinarios, epidemiólogos, biólogos moleculares, etc. uno de los trabajos de investigación más extenso y completo, utilizando nuevas herramientas de diagnóstico como la biología molecular, fotografías aéreas, imágenes por satélites, inmunohistoquímica etc. Los principales objetivos determinar los vectores incriminados en la transmisión, otros posibles reservorios diferentes al humano.

II) MICROBIOLOGIA

2.1. El genero *Bartonella* y la clasificación taxonómica de *B. bacilliformis*

Hasta 1993 *B. bacilliformis* era la única especie de este genero, miembro de la familia *Bartonellaceae* que junto con las familias *Rickettsiaceae* y *Anaplasmataceae* conformaban el orden de las *Rickettsiales*. La familia *Bartonellaceae* había sido localizada dentro de las *Rickettsiales* sobre la base de características morfológicas, asociación parasítica con células eucarióticas y el modo de transmisión por artrópodos. Sin embargo estos criterios fenotípicos usados anteriormente para la clasificación fenotípica, tienen poca justificación filogenética¹⁸. El primer estudio filogenético de *B. bacilliformis* fue realizado por Birtles en 1991¹⁸ quien demuestra la estrecha relación filogenética y fenotípica entre *B. bacilliformis* y *Rochalimaea quintana*.

El género *Bartonella* ha sido reclasificado de acuerdo a las características filogenéticas basado en datos de hibridación DNA-DNA y secuencia genética del 16SrRNA; Brenner realiza la primera propuesta que fue aceptada por la comunidad científica, de unir el genero *Rochalimaea* al de *Bartonella* y se removió la familia *Bartonellaceae* del orden de las *Rickettsiales*¹⁹. De esta unión surgieron las especies *B. bacilliformis*, *B. quintana*, *B. vinsonii*²², *B. elizabethae*²⁰ y *B. henselae*²¹. Posteriormente Birtles²² realiza una segunda propuesta para unir el genero *Grahamella* al de *Bartonella*, que también es aceptado, de esta unión surgen las especies *B. talpae*, *B. peromysci* y otras nuevas *Bartonellas* que son *B. grahamii*, *B. taylorii* y *B. doshiae*. Finalmente se reporta cuatro nuevas especies, *B. clarridgeiae*²³, *B. tribocorum*²⁴ y *B. alsatica*²⁵, *B. koehlerae*²⁶. Actualmente el genero *Bartonella* contiene 14 especies (tabla N° 1), de los cuales 7 han sido reportado en los últimos 5 años y siete son patógenas para el humano y producen diversas enfermedades y

síndromes (tabla N° 2), ellas son *B. bacilliformis*, *B. quintana*, *B. vinsonii*, *B. elizabethae*, *B. henselae*, *B. clarridgeiae* y *B. grahamii*; las otras siete especies han sido aisladas solo en mamíferos pequeños²⁷ y aparentemente no producen enfermedad en el hombre, aunque no se descarta que en el futuro se reporten estas u otras nuevas especies como patógenas para el hombre.

Tabla N° 1. Especies y subespecies de *Bartonella* actualmente reconocidas

| Nº | Especie | Año | Autor | Reservorio | Lugar |
|------|----------------------------|------|---------|--------------------------|---------|
| 1.- | <i>B. talpae</i> | 1905 | | Topo | UK |
| 2.- | <i>B. bacilliformis</i> | 1909 | Barton | Humano | Peru |
| 3.- | <i>B. quintana</i> | 1918 | Strong | Humano | |
| 4.- | <i>B. peromysci</i> | 1942 | | Raton | USA |
| 5.- | <i>B. vinsonii</i> | 1946 | Baker | Roedores pequeños | Canada |
| | sub.esp. <i>vinsonii</i> | 1996 | Kordick | Roedores pequeños | |
| | sub.esp. <i>berkhoffii</i> | 1996 | Kordick | Perros | |
| | subsp. <i>Arupensis</i> | 1999 | Welch | Ganado vacuno | |
| 6.- | <i>B. henselae</i> | 1992 | Regnery | Gato | USA |
| 7.- | <i>B. elizabethae</i> | 1993 | Daly | <i>Rattus norvegicus</i> | USA |
| 8.- | <i>B. grahamii</i> | 1995 | Birtles | Roedores pequeños | UK |
| 9.- | <i>B. taylori</i> | 1995 | Birtles | Roedores pequeños | UK |
| 10.- | <i>B. doshiae</i> | 1995 | Birtles | Roedores pequeños | UK |
| 11.- | <i>B. clarridgeiae</i> | 1996 | Lawson | Gato | USA |
| 12.- | <i>B. tribocorum</i> | 1998 | Heller | <i>Rattus norvegicus</i> | Francia |
| 13.- | <i>B. alsatica</i> | 1999 | Heller | Conejos silvestres | Francia |
| 14.- | <i>B. koehlerae</i> | 1999 | Droz | Gato | Suiza |

Tabla N° 2. *Bartonellas* patógenas para el hombre, sus vectores y enfermedades que producen

| Nº | Especie | Vector | Enfermedad |
|-----|-------------------------------------|--|---|
| 1.- | <i>B. quintana</i> ²⁸ | Piojo <i>Pediculus humanus corporis</i> | Fiebre de las trincheras Angiomatosis bacilar Endocarditis Linfadenopatía crónica Bacteremia Masa abdominal Hemorragia gastrointestinal Alteraciones neurológicas |
| 2.- | <i>B. henselae</i> ^{29,27} | Pulgas <i>Ctenocephalides felis</i> | Enfermedad del arañazo del gato Angiomatosis bacilar Endocarditis Bacteremia Peliosis bacilar Neuritis óptica Meningitis aseptica Granuloma Pulmonar Granuloma hepático Parálisis facial Paroniquia |

| | | |
|--|-----------------------------|---|
| 3.- <i>B. bacilliformis</i> | <i>Lutzomyia</i> | Enfermedad de Carrion <ul style="list-style-type: none"> ▪ Anémica ▪ Eruptiva |
| 4.- <i>B. elizabethae</i> ²⁰ | Desconocido | Endocarditis |
| 5.- <i>B. clarridgeiae</i> ³⁰ | Desconocido | Enfermedad del arañazo del gato |
| 6.- <i>B. vinsonii</i> ²⁷ | Desconocido ¿Garrapatas? | Endocarditis |
| 7.- <i>B. grahamii</i> ³¹ | Desconocido | Infección intraocular |

B. vinsonii fue descrita inicialmente en 1946 como el agente del vole canadiense³², fue posteriormente descrita en 1982 como *R. vinsonii*³³. Ha sido aislada de roedores pequeños en Quebec, Canadá, y recientemente se ha reportado como agente causal de endocarditis bacteriana en humanos^{27,34}.

*B. elizabethae*²⁰ produce endocarditis infecciosa. El reservorio y su vector son desconocidos, sin embargo recientemente se ha logrado aislar *B. elizabethae* de *Rattus norvegicus* en Louisiana y Maryland en USA³⁵ y en especies *Rattus* en el valle de Huayllacayan, Ancash, Perú.

2.2. *Bartonella bacilliformis*

2.2.1. Características microbiológicas

Bartonella bacilliformis fue descrita en 1909 por Alberto Barton⁹, es un bacilo gram negativo, pleomórfico, intracelular, de 0.2-0.5 por 1-2µm, aeróbico, no fermentativo, unipolar con 2 a 16 flagelos que le confiere alta movilidad^{36,37,38,39,62,52,151} se tiñe de color rojo con Giemsa, puede ser cultivada sobre medios sólidos a partir de muestras de sangre, biopsias de lesiones eruptivas o nódulos subcutáneos, crece lentamente en medios enriquecidos con sangre y aminoácidos esenciales, como el de Seneckii o agar Columbia, la temperatura óptima de crecimiento es 28°C⁴¹. Es una bacteria no reactiva en test bioquímicos usados para identificación de bacterias⁴⁰. No utiliza los carbohidratos⁴¹. Es una bacteria intracelular de las células endoteliales y eritrocitos.

2.2.2. Estructura Antigénica.

Se han determinado 24 antígenos de *B. bacilliformis* por inmunoprecipitación y western blot usando sueros de conejos y de pacientes con anticuerpos antibartonella. Los antígenos han sido designados de acuerdo a su peso molecular que varía de 16 a 160 kDa. De estos, al menos seis (antígenos 18, 26, 36, 48, 65 y 75) son capaces de detectar anticuerpos específicos en sueros de pacientes bartonelósicos. Los antígenos 50, 65 y 75 pueden detectar anticuerpos persistentes. Se han identificado seis probables antígenos de la pared celular, de los cuales los antígenos 65 y 75 son considerados como los principales antígenos, debido a que siempre presentan fuerte reactividad demostrado por inmunoensayo. A diferencia del antígeno crudo de *Bartonella*, los antígenos proteicos de *Bartonella* reaccionan específicamente con la especie cuando se usa western blot o inmunoprecipitación, por lo que es recomendable usar estos métodos para confirmación de especie cuando se detectan anticuerpos con antígenos crudos⁴²

Las proteínas de la membrana externa de *B. bacilliformis* han sido purificadas y se ha demostrado la presencia de 14 proteínas cuyo peso molecular varía de 11.2 a 75.3 kDa. Tres proteínas de 31.5, 42 y 45 kDa pueden representar las proteínas de membrana externa inmunodominantes. Los lipopolisacáridos de la membrana externa también han sido purificados y producen una banda difusa de aproximadamente 5 kDa, son pobremente

inmunogenicos y no son detectables por western blot con antisuero hiperinmune antibartonella de conejo.

Una proteína probablemente de localización citoplasmática de 65 kDa llamada Bb65 ha sido identificada como una de los principales antígenos específicos de *B. bacilliformis*. El gen que codifica este antígeno (7B2) ha sido aislado, secuenciado y expresado en la bacteria *E. coli*. La proteína Bb65 recombinante a sido purificada y tiene homología con la proteína de 65 kDa de *Mycobacterium tuberculosis*. Al comparar la secuencia de posiciones idénticas, mostró una homología de 53% con los residuos de aminoácidos en el terminal amino, sin embargo aparentemente no hay epitotipos comunes relevantes. Esta proteína ha sido encontrada en 13 cepas de *B. bacilliformis* aislados de diferentes regiones del Perú⁴³. Las principales propiedades de inmunodiagnóstico de la Bb65 son: Bb65 nunca se fija a los anticuerpos IgM aun cuando se demuestra la presencia de anticuerpos IgM por otros métodos. Bb65 es incapaz de detectar anticuerpos IgG durante las primeras dos semanas de enfermedad de la fase anémica. Bb65 se fija a los anticuerpos IgG persistentes desde el primer mes hasta los tres años después del inicio de la fase anémica de la enfermedad.

La sensibilidad del antígeno Bb65 al anticuerpo IgG en sueros de individuos considerados inmunes fue en el 100% (10/10) de los sueros probados, mientras que solo en 30% (3/10) cuando se uso antígenos crudo de *B. bacilliformis*, y se le considera como un excelente antígeno para estudios seroepidemiológicos así como para estudios retrospectivos de la fase anémica. Sin embargo en pacientes en fase verrucosa solo se pudo detectar anticuerpos IgG específicos en el 70% (7/10) mientras que con antígeno crudo fue solo en 20% (2/10). Bb65 esta ahora disponible como antígeno recombinante soluble en agua y su aplicabilidad para inmunodiagnósticos por ELISA a gran escala es posible puesto que puede producirse en cantidades ilimitadas en *E. coli*⁴².

2.2.3. Factores de virulencia.

La deformina

Es una proteína extracelular de 67 kDa, probablemente se produce como un dimerio en su estado nativo, es inactivada por proteasas y calor a 70-80°C, antibióticos como kanamicina inhibe su síntesis, es liberada en los medios de cultivo durante el crecimiento bacteriano⁴⁴. Produce profundas invaginaciones en la membrana del eritrocito. Las fosas y surcos producidas por la deformina purificada son morfológicamente similares a las observadas en células infectadas por *B. bacilliformis*.

Motilidad.

El segundo determinante involucrado en el mecanismo de invasión es la motilidad; la deformina por si sola, no produce mayor entrada de *B. bacilliformis* al citosol de la célula hospedera a menos que la bacteria sea móvil. *Bartonella bacilliformis* es una bacteria que tiene múltiples flagelos unipolares que le dan gran movilidad. Los flagelos han sido aislados y purificados. Utilizando anticuerpos dirigidos contra el flagelo purificado se ha determinado que el componente principal del flagelo es una proteína de 42 kDa llamada flagelina⁴⁵. El gen de la flagelina a sido clonado y secuenciado⁴⁶ y esta estrechamente relacionado al gen flagelar de *Rhizobium meliloti* y *Azospirillum brasilense* Sp7. Es posible que exista un segundo gen flagelar para *B. bacilliformis*, sin embargo no ha sido localizado⁴⁶.

In vitro, la invasión de *B. bacilliformis* a los eritrocitos puede ser abolido casi totalmente (99.8%) con anticuerpos monoclonales específicos dirigidos contra la flagelina⁴⁵. Estos datos sugieren que el flagelo juega un rol importante en la invasión del eritrocito y puede actuar sinérgicamente con la deformina para facilitar la entrada de la bacteria dentro de las invaginaciones producida por la deformina.

Las proteínas *ialA* e *ialB*

B. bacilliformis tiene un locus asociado a la invasión denominado *ialAB*. Este locus contiene dos genes (*ialA* e *ialB*), que produce un fenotipo invasivo a las cepas de *E. coli* mínimamente invasivas cuando se combina con glóbulos rojos humanos in vitro. Aparentemente se requieren ambos genes para producir el fenotipo invasivo. Análisis de hibridización del DNA de *B. quintana*, *B. henselae* y *B. vinsonii* sugieren que poseen homólogos del *ialA*, *ialB* y *ctpA*. El homólogo del locus *ialAB* de *B. henselae* ha sido clonado recientemente, y se ha observado que no solo confiere un fenotipo invasivo 100 veces mayor en *E. coli*, comparado con los controles, sino que además, posee una secuencia genética idéntica al locus de *B. bacilliformis* en un 70-85%. Estos datos sugieren que el locus de invasión se encuentran en todas las *Bartonellas*. Investigaciones recientes demuestran que *B. henselae* también invade eritrocitos. Gatos domésticos con bacteremia crónica por *B. henselae*, aproximadamente el 5% de los glóbulos rojos están infectados con la bacteria y algunos eritrocitos contienen múltiples bacterias.

2.2.4. Mapa genético y filogenia molecular⁴⁶.

El genoma de *B. bacilliformis* es una molécula de DNA circular de 1600 kbp (39-40% GC) contiene 6 sitios *NotI*, 4 *SfiI* y dos *CeuI* los cuales han sido ordenados por electroforesis para formar un mapa físico. La localización de dos operones rRNA ha sido determinada exactamente por mapeo de sitios de 2 *CeuI*, los cuales se saben están dentro de 23S rRNA.

Importantes inferencias han sido dadas por la revisión de la relación filogenética al comparar la secuencia de 16S rRNA. La correlación de la secuencia completa del DNA de *B. bacilliformis* con el banco de datos de DNA probablemente nos lleve a un conocimiento detallado de esta especie bacteriana.

La revisión de la posición filogenética de *Bartonella* ha resultado en nuevos conocimientos. Birtles determino el secuenciamiento del DNA del 16S rRNA de *B. bacilliformis* usando la técnica de la PCR para amplificar fragmentos del DNA. La comparación con la secuencia del gen 16S de otras bacterias, demostro que el árbol filogenético de *B. bacilliformis* esta más estrechamente relacionada a *R. quintana* (ahora *B. quintana*), una relación no conocida anteriormente, y en menor proporción a *Brucella abortus*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Hyphomicrobium vulgare*, tres especies de *Rickettsias* y *Ehrlichia risticii*. Otros trabajos demostraron valores de secuencia idéntica de cerca de 98% con *B. elizabethae*, *B. henselae*, *B. quintana*, *B. vinsonii* y tres especies de *Grahamella*.

Basados en la secuencia de 16S rRNA así como en otros criterios, se propuso transferir el genero *Rochalimaea* hacia la familia *Bartonellaceae* y el genero *Bartonella* y *Rochalimaea* fueron unidos¹⁹. En una segunda propuesta se unió el genero *Grahamella* y *Bartonella*²².

Se han determinado muy pocas secuencias del DNA, pero en general apoyan la relación descrita por 16S rRNA. Se ha clonado la secuencia de 23S rRNA de la *B. bacilliformis* pero no en otras especies de *Bartonella* por lo que no es posible analizar detalladamente la filogenética. La región del espacio intergenico 16S-23S contiene la secuencia de isoleucina tRNA y alanina tRNA. El gen 5S rRNA también ha sido secuenciado y esta estrechamente relacionado a la secuencia 5S rRNA de *B. quintana* (93% de identidad), *B. henselae* (91% de identidad) y menos relacionado a *Brucella abortus* (86% de identidad)

La secuencia del DNA de la citrato sintetasa (*glfA*) de *B. bacilliformis* y sus parientes cercanos ha sido determinada. La secuencia de *B. bacilliformis* corresponde estrechamente a la secuencia de otras *Bartonellas* (89-92% de identidad) y menos estrechamente relacionado a *Rhizobium* (81-82%) y *Rickettsias* (<71% de identidad)⁴⁶ (Ihler 1996).

III) PATOGENIA/ FISIOPATOLOGIA

Mecanismo de patogenia.

La patogenesis de *B. bacilliformis* ha sido pobremente caracterizado a nivel molecular y celular. La predilección de las *Bartonellas* por los eritrocitos es única entre los patógenos bacterianos humanos.

Colonización del hospedero.

Se piensa que la motilidad flagelar es el determinante de virulencia más importante en la colonización del huésped. El penacho polar de *B. bacilliformis* tiene de uno a diez flagelos de 3 a 10 μm de longitud, compuestos por múltiples unidades de flagelina, una proteína de 42 kDa. Los flagelos proveen de movilidad a la bacteria e impulsan al patógeno para buscar una célula hospedera potencial. La motilidad mediada por flagelos solo se observa en *B. bacilliformis* y *B. clarridgeiae* una nueva *Bartonella* aislada por un veterinario mordido por un gato. También se ha observado una motilidad en tirones en *B. henselae* aparentemente relacionado a la presencia de una pilina tipo 4.

Fijación a la célula hospedero

In vitro la adhesión de la *B. bacilliformis* al eritrocito se produce después de un intervalo de tiempo de 15 a 30 minutos formando complejos eritrocito-bacteria. El máximo número de complejos ocurre a las seis horas. Al inactivar la fuerza motriz de los protones o la respiración se reduce significativamente el enlace de *B. bacilliformis* al eritrocito, lo que indica que la adhesión es dependiente de energía. Se cree que el glóbulo rojo es pasivo durante este proceso y no contribuye a la adhesión dependiente de energía. Se ha observado que las *Bartonellas* prefieren unirse a eritrocitos humanos que a los de conejos o carnero. Probablemente el eritrocito humano presenta un receptor más apropiado para la bacteria o una mayor densidad o accesibilidad de los receptores que los eritrocitos de animales.

Se está investigando intensamente la naturaleza molecular de la adherencia de la *B. bacilliformis*. Datos recientes sugieren que *B. bacilliformis* posee una fimbria agregativa o pili formante de enlace (BFP). Se ha observado en otras bacterias que estos apéndices sirven como adhesinas. La formación de pili se correlaciona con el incremento de la adhesión y entrada dentro de las células Hep-2 por *B. henselae*. Una cepa no formadora de pilis de *B. quintana* se adhiere pobremente y no invade las células Hep-2.

Los flagelos también podrían facilitar la adhesión. Se ha demostrado que el penacho polar de "proyecciones similares a fibras" hacen contacto con la membrana de eritrocitos. Este penacho polar adhesivo es muy similar al flagelo de *B. bacilliformis*. Se ha observado además, que una bacteria no motil se enlaza pobremente a los eritrocitos, y se postula que es resultado de la pérdida de adhesina o porque la motilidad mejora la colisión eritrocito-bacteria. Estudios *in vitro* han reducido la adhesión de *B. bacilliformis* en aproximadamente un 41%, comparado con los controles cuando se agregaron anticuerpos específicos contra la flagelina. Estos datos sugieren que la adherencia podría estar correlacionada parcialmente con el flagelo. *Bartonella bacilliformis* puede adherirse a células endoteliales de la vena umbilical en cultivo (HUVECs), células epiteliales de laringe humano, fibroblastos dérmicos humanos y células epiteliales (Hep-2). La máxima adhesión se produce en los primeros 60 minutos, con igual eficacia para ambos tipos de células, a diferencia de las seis horas para la máxima adhesión a eritrocitos. Estas observaciones sugieren que para cada tipo de célula se requieren diferentes interacciones receptor-ligando.

Invasión de la célula hospedera

Se postula que el mecanismo de invasión de *B. bacilliformis*, depende principalmente del tipo de célula hospedera invadida. Estudios realizados sobre el mecanismo invasión de *B. bacilliformis* a células epiteliales de laringe humano y HUVECs han demostrado que las células hospederas participan activamente y que pueden ser inducidas por las *Bartonellas* para reconfigurar el citoesqueleto y facilitar su ingreso por un mecanismo dependiente de microfilamentos similar a la fagocitosis⁴⁷. Se puede inhibir la invasión de las células Hep-2 o HUVECs hasta en un 70% al tratarlas con citocalasina D. Este hallazgo apoya la hipótesis de la importancia del reacomodo de la actina en la célula hospedera para la invasión. Probablemente, los componentes bacterianos que inducen este reacomodo de la actina están localizados en la membrana externa de la bacteria ya que al agregar anticuerpos contra *Bartonellas* a cultivos de células endoteliales reducen significativamente el ingreso del patógeno. Por otro lado, la inhibición incompleta de la invasión producida por la citocalasina D sugiere que la bacteria tiene un rol activo durante la invasión de las células epiteliales y endoteliales.

Sin embargo los eritrocitos maduros contienen muy poca actina y no producen fagocitosis, por lo tanto, el mecanismo de invasión de los eritrocitos humanos por *Bartonellas* es diferente. La invasión es pasiva y el eritrocito no contribuye significativamente al ingreso de la bacteria. Los tres principales determinantes de la virulencia de *B. bacilliformis* ya fueron descritos y son: la proteína deformina, los flagelos y las proteínas *lalA* e *lalB* codificadas por el locus asociado a la invasión *ial AB*.

PATOGENIA

La formación de hemangiomas es posiblemente causado por la hiperproliferación de las células endoteliales en respuesta a un factor angiogenico liberado por la bacteria durante la infección. La fase secundaria también se presenta con inmunosupresion, hepatoesplenomegalia y linfadenopatía probablemente como resultado de una extensa sobrecarga del sistema retículo endotelial⁴⁸.

IV. INMUNOLOGIA

Weiss fue el primer investigador que reporta la existencia de un periodo de depresión temporal del sistema inmune de los pacientes durante la fase hemática e intercalar, con recuperación durante la fase eruptiva. Este periodo de depresión inmune sería la causa de las frecuentes superinfecciones con virus, bacterias, parásitos y hongos durante la evolución clínica de la enfermedad.

4.1. Inmunidad Humoral

Los primeros estudios sobre la inmunidad humoral demostraron la presencia de hipergammagobulinemia en pacientes en fase aguda y eruptiva (Merino 1939, Manrique 1956 y 1962). Otro estudio posterior demostró que durante la fase aguda los valores promedio de IgG e IgA se encuentran dentro de límites normales, mientras que los de IgM están marcadamente incrementados, normalizándose cuatro semanas después; los valores promedios de la fracción C3 del sistema del complemento se encuentra disminuida en un 64% y la fracción C4 en un 70% de los pacientes. En una segunda muestra obtenida dos a cuatro semanas después de la primera, se observa un incremento significativo de IgA, IgG e IgM, así como un aumento de C3 y C4⁴⁹.

En la fase eruptiva hay un leve incremento significativo pero no muy marcado de IgA, IgG e IgM⁴⁹; las fracciones C3 y C4 del sistema del complemento se encuentran dentro de valores normales. Los valores de albúmina, alfa1, alfa2 y la fracción beta se encuentran en límites normales⁵⁰.

4.2. Inmunidad celular

Durante la fase anémica se produce una discreta linfopenia en cifras absolutas y relativas, una significativa disminución absoluta y relativa de linfocitos T y cifras normales de linfocitos B. Al estimular in vitro los linfocitos de pacientes en fase anémica con mitógenos policlonales, se observa una transformación blastica significativamente disminuida frente a fitohemaglutinina, Concaivalina A y el mitógeno Pokeweed. Esto demuestra que la disminución de los linfocitos no solo es numérica, sino, también funcional. También se ha demostrado disminución de las cifras absolutas y relativas de linfocitos CD4, elevación de los linfocitos CD8 y disminución de la razón CD4/CD8. Estudios realizados dos o tres semanas después demuestran un significativo incremento de la inmunidad celular pero sin alcanzar los valores normales⁴⁹. La disminución de la población de linfocitos podría deberse a una menor producción por el efecto supresor de los linfocitos T CD8, y a un secuestro o mayor consumo en otras partes del cuerpo diferente a los ganglios linfáticos. Estos cambios inmunológicos humorales y celulares explicarían la predisposición a infecciones sobreagregadas por virus, bacterias, hongos y parásitos oportunistas que incrementan la letalidad¹⁶.

Durante la fase eruptiva se observa valores normales de leucocitos, tendencia a la linfocitosis y valores absolutos y relativos casi normales de linfocitos T y B⁴⁹.

V) ANATOMIA PATOLÓGICA

La patogenesis de la verruga actualmente es desconocida. Es posible que más de un mecanismo patogénico este involucrado en la formación de la verruga⁵¹. La morfología de la verruga peruana, es principalmente una proliferación de células endoteliales similar al sarcoma de Kaposi o a la angiomatosis bacilar de la enfermedad del arañazo del gato. Histológicamente la reacción tisular es peculiar, por el hecho de que no sigue ningún patrón peculiar de respuesta inmune. Estudios ultraestructurales e inmunohistoquímicos han confirmado que la población celular consiste principalmente de células endoteliales con algunos histiocitos. Las *Bartonellas* pueden ser encontradas libremente en el espacio intersticial o dentro de células endoteliales formando vacuolas citoplasmáticas (cuerpos de Rocha Lima).

En estudios realizados con secciones histológicas seriadas de verrugas y la piel sana a su alrededor, se ha observado en el lecho vascular normal alrededor de las verrugas, signos de hiperplasia de las células endoteliales, con núcleos densos y muchas mitosis. La interacción de las células endoteliales con *B. bacilliformis* es importante para el desarrollo de la verruga, pero la interacción con otras células como los macrófagos y los linfocitos y su rol en el desarrollo de la verruga son desconocidos.

Recientemente se ha descrito un factor angiogenico que explicaría la proliferación similar a los tumores⁷.

Interesantemente, especies del genero *Agrobacterium* y *Rhizobium*, los cuales están relacionados filogenéticamente con las *Bartonellas* spp, también están asociadas con inducción de nódulos o tumores en plantas⁵².

5.1. Era de la microscopía de luz: Odriozola en el siglo XIX, fue el primer investigador que estudia la anatomía patológica de la verruga peruana, describiendo las formas anatómicas elementales de la erupción verrucosa. Posteriormente Arce distingue las presentaciones “miliar”, “nodular superficial”, “nodular profunda” y la “mular” de acuerdo a la localización de la lesión en los tejidos. Las primeras teorías postulaban que las células conectivas y leucocitos formaban los nódulos verrucosos y eran comparados a proliferaciones tumorales. Otros postulaban, que los neocapilares derivaban de las células histiocíticas y mesenquimales hemohistioblásticas. Desde principios del siglo XX, Herculles en 1900 y Rocha-Lima en 1913 describieron la proliferación endotelial como principal componente de la reacción verrucosa. La presentación histológica de la verruga peruana es variable y depende de su momento evolutivo, originando una respuesta celular que tiene atributos de inflamación, reparación y

neoplasia⁵³. La de tipo miliar se localiza en la dermis papilar y media, y la de tipo mular o nodular puede extenderse hasta la hipodermis⁵⁴.

Independientemente de la forma anatómica de presentación la respuesta histológica fundamental de la fase eruptiva de la Enfermedad de Carrión es una reacción de células endoteliales acompañada secundariamente y en grado variable de células reactivas como histiocitos, linfocitos, células dendríticas, células cebadas y polinucleares.

La reacción endotelial adopta tres modelos histológicos básicos⁵³:

- 1) **Angiomatoso o de capilares abiertos:** es la forma clásicamente descrita y la más fácil de reconocer, los neocapilares están bien constituidos e incluso dilatados, tiene similitud con el granuloma piogeno y el angioma capilar; presenta una variante con capilares abiertos pero limitados por células endoteliales de amplio citoplasma, cilíndricos o cúbicos que lo hacen idéntico al hemangioma epiteliode; este modelo se presenta más frecuentemente en la forma anatómica miliar o nodular superficial.
- 2) **Trabecular o cordoniforme:** la proliferación de neocapilares no forma espacios abiertos, los lúmenes vasculares no están definidos, son imperfectos o solo se ven aisladamente; el aspecto general es de trabeculas o cordones densos; se puede comparar al hemangioma epiteliode y se presenta en las formas anatómicas miliares, nodulares superficiales y nodulares profundas
- 3) **Compacto o de tipo hemangioendotelioma epiteliode:** se observa el grado más alto de actividad proliferativa endotelial formando mantos celulares densos con escasa o nula separación entre células y múltiples figuras mitóticas; su apariencia histológica, distribución de fibras de reticulina e índice mitótico lo hacen indistinguible del hemangioendotelioma epiteliode. Este modelo histológico es característico de las formas clínicas mulares y son las que más frecuentemente se confunden con neoplasias. Los cuerpos de Rocha-Lima se observan con más frecuencia en este modelo.

Tres factores pueden explicar la aparición de uno u otro modelo histológico de la erupción verrucosa⁵⁵: **1) los plexos vasculares dérmicos:** las erupciones que asientan en el plexo vascular superficial y que ocurren en tejidos laxos, o en zona de baja tensión tisular tienden a mostrar una reacción histológica con neocapilares más o menos abiertos, modelo angiomatoso o angiomatoso epiteliode **2) el grado tensional tisular y/o grosor de la piel en el área topográfica donde ocurre la lesión:** las lesiones originadas en el plexo vascular profundo y que asientan en zonas de mayor presión tisular tienden a mostrar una reacción histológica trabecular o compacta y **3) la intensidad de la injuria bacteriana:** existe una estrecha relación entre la cantidad de microorganismo y el grado de proliferación de células endoteliales, observándose mayor cantidad de microorganismos en el modelo sólido o compacto.

En el estudio de la verruga peruana por microscopía de luz un tema controversial era el reconocimiento de las *Bartonellas* en la lesión verrucosa. Había dos grupos de observaciones; los que no habían observado los microorganismos en las lesiones a pesar de usar diversas tinciones, y por otro lado, los que si habían reportado la presencia de gérmenes en o entre las células del verrucoma. Esta controversia fue resuelta cuando los estudios con microscopía electrónica demostraron la presencia de *Bartonellas* principalmente localizadas en el intersticio de las células endoteliales proliferadas.

Sin embargo quedaba la duda de si era posible observar los gérmenes con el microscopio de luz. Esta duda fue resuelta con un estudio realizado sobre 12 biopsias de lesiones verrucosas y un frotis de sangre periférica utilizando la coloración de Warthin-Starry⁵⁶, donde se observa la presencia de gran cantidad de bacterias en los intersticios y sobre la superficie de las células endoteliales proliferadas de lesiones verrucosas incipientes y floridas, siendo aun mayor en las proliferaciones sólidas pseudotumorales. Las bacterias se ven de color marrón sobre un fondo amarillo-naranja del citoplasma. En las lesiones nodulares en fase de resolución inicial el número de bacterias intersticiales disminuye. En las lesiones en fase de resolución avanzada no se observo las bacterias. Los cuerpos de Rocha-Lima también toman una coloración marrón oscura. En los extendidos de sangre periférica de casos en fase anémica teñidos con la técnica de Warthin-Starry la tinción es similar a la observada en los tejidos.

Las inclusiones de Rocha-Lima son acumulo de conglomerados de masa amorfa intersticial y *Bartonellas* en degradación dentro de las células endoteliales de la verruga peruana; pueden observarse solo en algunos casos con la tinción de Giemsa o Warthin-Starry pero no con hematoxilina-eosina⁵⁷

Debemos tener en cuenta que con la coloración de Warthin-Starry la apariencia entre los gérmenes de la verruga peruana y la angiomatosis bacilar son similares ya que ambos son producidos por bacterias del genero *Bartonella*⁵⁸.

La acumulación de células endoteliales y dendrocitos, asociados a escaso número de mastocitos, linfocitos y células plasmáticas constituye un hallazgo común en los tres tipos de verruga⁵⁴ más atrás.

5.2. Era de la microscopía electrónica: Los primeros estudios fueron realizados por Wigand et al. en 1953 quien reporta que las *Bartonellas* estaban sobre la superficie de los eritrocitos. Posteriormente Cuadra y Takano⁵⁹ al estudiar por microscopía electrónica los eritrocitos de tres pacientes en los que predominaban las formas cocoides, observaron que las *Bartonellas* se encontraban dentro del eritrocito haciéndolo más vulnerable a la fagocitosis. Otro estudio demuestra la presencia de bacterias similares a las *Bartonellas* observadas en los eritrocitos, localizadas en el intersticio celular⁶⁰ y observa que las células histiocíticas de la verruga vistas por el microscopio electrónico son de dos tipos, la mayoría tienen citoplasma claro con abundantes lisosomas, ribosomas, mitocondrias y ergatoplasmos; el otro tipo celular se caracteriza por ser oscuras y con membranas laminares en su citoplasma. Se observan también elongaciones citoplasmáticas de las células claras que rodean las bacterias y en otras áreas los organismos son introducidos dentro del citoplasma de estas células. Esto indicaría la fagocitosis de las bacterias por las células claras. Los eritrocitos observados en los verrucomas no contienen *Bartonellas*.

Los cuerpos de Rocha-Lima han sido estudiados por microscopía de luz y correlacionados con microscopía electrónica⁵⁷, se ha observado que las células endoteliales producen elongaciones citoplasmáticas que a manera de tentáculos de pulpo envuelven a los organismos situados en el intersticio, incorporando también la matriz fundamental intersticial que rodea a las *Bartonellas*. El resultado es que las cisternas que se forman contienen gérmenes en diverso grado de degradación y sustancia fundamental, lo que determina el aspecto de la inclusión al microscopio de luz. Si predominan los organismos viables, el aspecto será granular; si predominan las *Bartonellas* degeneradas y la sustancia fundamental, el aspecto será amorfo y difuso. Sin embargo a la fecha no se conoce cual es el significado de estas inclusiones.

5.3. Era de la inmunohistoquímica: Los primeros estudios con esta técnica se realizaron en 1983 utilizando el factor VIII de la coagulación como marcador de neoplasia de origen endotelial, siendo positivo el hallazgo en el sarcoma de Kaposi y la verruga peruana⁶¹. Con el método de inmunofluorescencia para observar las lesiones nodulares se demostró la presencia de células dendríticas compatibles con células de Langerhans, células plasmáticas en el tejido con IgG, IgA e IgM, depósitos de complejos positivos a IgM y la fracción C3 del complemento en el endotelio de las venulas afectadas⁶¹. El uso de anticuerpos monoclonales o policlonales han permitido conocer mejor la composición celular de las verrugas y su fisiopatología⁵⁴. Las verrugas están compuestas por dos poblaciones celulares distintas, las células endoteliales y los dendrocitos dérmicos; la presencia de los dendrocitos dérmicos ha situado a la verruga peruana en el grupo de afecciones denominadas angiomatosis dendrocítica. Es probable que el factor angiogenico estimule a las células endoteliales y a los dendrocitos directamente o a través de mediadores químicos. Clásicamente se decía que las células endoteliales fagocitaban a las *Bartonellas*, sin embargo, por la capacidad fagocítica de los dendrocitos, es posible que estos también participen directamente en la eliminación de las bacterias.

Los estudios de morfometría y citofluometría han demostrado que la verruga peruana es una hiperplasia pleomorfa y diploide. La presencia de algunas atipias nucleares y mitosis estaría en relación con el crecimiento de la hiperplasia sin evidencias de malignidad.

VI) ASPECTOS CLINICOS

6.1 Características clínicas

El espectro clínico de la infección por *Bartonella bacilliformis* varia ampliamente desde una infección subclínica hasta una enfermedad aguda fulminante con hemólisis severa o desarrollo insidioso de tumores vasculares de la piel con poca o ninguna sintomatología⁴¹. La historia natural de la enfermedad presenta dos fases, anémica y eruptiva con un periodo asintomático intermedio⁶².

a) Fase anémica

Es la forma de presentación más grave, puede llevar a la muerte del paciente en pocos días sino se realiza el diagnóstico y tratamiento oportuno. Tiene un periodo de incubación promedio de 61 días (rango de 10-210)^{16,62}. Los síntomas prodromicos son inespecíficos, generalmente de inicio gradual, siendo los más frecuentes sensación febril, malestar general, escalofríos leves, mialgias, artralgias, cefalea, nauseas, vómitos. En esta fase inicial debe realizarse el diagnóstico diferencial con fiebre tifoidea, tifus murino, leptospirosis, malaria, brucelosis, hepatitis viral, meningitis, anemia hemolítica, anemia aplastica, leucemias.

La evolución es rápida y en pocos días puede llegar a presentar anemia severa, usualmente durante la segunda semana de la enfermedad se presentan las complicaciones infecciosas y no infecciosas, con compromiso pulmonar, hepático, renal, cardiovascular, neurológico y en los casos severos falla orgánica multisistémica y muerte. Los signos más importantes son la palidez, ictericia, linfadenomegalia, hepatomegalia, esplenomegalia. Puede presentarse, además, anasarca, edema pulmonar no cardiogenico, sangrado pericardico, miocarditis, delirio y coma, considerados como factores de riesgo para morir^{16,62}.

Durante la fase aguda cerca del 30% de los casos hospitalizados presentan infecciones oportunistas intercurrentes, siendo las más frecuentes infecciones por Salmonellas, toxoplasmosis, histoplasmosis diseminada, tuberculosis miliar, sepsis por *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter*, *Shigella dysenteriae*, pneumocistosis y *Plasmodium vivax*⁶².

Esta enfermedad se caracteriza por afectar principalmente a niños menores de 14 años en más del 60% de los casos. Afecta a nativos principalmente⁶³, pero también a foráneos en quienes la enfermedad puede ser más grave¹⁶. La letalidad de la fase anémica varia ampliamente, pero es mayor cuando la enfermedad se presenta en brotes. En un brote en la comunidad de Shumpillan, Ancash la letalidad fue de 88% en los casos no tratados¹⁰¹, 12.2% en Quillabamba⁶⁴, 23% en el valle sagrado de los incas¹¹³ en Cusco y 11% en una comunidad nativa en Cajamarca⁶⁵. En pacientes internados en Hospitales Nacionales de referencia es alrededor del 9% con tratamiento adecuado^{5,16,62}; en hospitales ubicados en zonas endémicas la letalidad es menor, en el Hospital de Apoyo de Caraz fue de 1.16%⁶⁶, en el hospital de Pomabamba 1.4%. En el departamento de Ancash la letalidad de los casos reportados en fase anémica fue de 1%⁶⁷. Una excepcion es el C.S. San Ignacio que reporta una letalidad del 7.7% en el periodo 1990-1995.

b) Periodo intercalar

Sigue a la fase anémica, se caracteriza por que desaparece la fiebre, se detiene la hemólisis, hay mejoría o desaparecen los síntomas y signos, y no encuentran bacterias circulantes. Es habitualmente asintomática y puede durar de 1 a 3 semanas¹¹⁵, excepcionalmente puede durar varios meses.

c) Fase eruptiva

Se observa generalmente en niños que viven en áreas endémicas; sin embargo, mientras que en algunas zonas es la principal forma clínica de presentación, con baja letalidad, ejemplo Callejón de Huaylas y Conchucos en Ancash y en la provincia de Manabi en el Ecuador, en otras áreas predomina la forma anémica con alta letalidad y muy pocos casos de la forma eruptiva, ejemplo las provincias de La Convención y Urubamba en Cusco, Tingo

María en Huánuco, San Ignacio en Cajamarca y la provincia de Zamora-Chinchipe en el Ecuador. Esta observación clínica nos ha llevado a postular la existencia de varias cepas de *B. bacilliformis*, unas serían poco virulentas y su principal forma clínica de presentación sería la forma verrucosa, y las otras serían más virulentas y su forma clínica predominante sería la anémica.

La fase eruptiva puede presentarse después de la fase aguda (incluso en algunos pacientes que recibieron tratamiento adecuado con cloranfenicol) o directamente; los síntomas son leves y los más frecuentes antes de la erupción son malestar general leve, cefalea, febrículas, artralgias y mialgias o más frecuentemente en forma asintomática. Las lesiones son de superficie lisa, no dolorosas de color rojo púrpura o rojo violáceo y pueden sangrar fácilmente. Pueden ser de tres tipos: **1) miliar**: si los verrucomas son de menos de 3 mm de diámetro (fig 1), **2) mular**: si son de 5 mm o más, estas son frecuentemente sesiles, erosionadas y muy sangrantes (fig 2), y **3) nodular o subcutánea**: localizados principalmente sobre superficies extensoras de brazos y piernas, generalmente múltiples, muy raramente únicas (fig 3).

Es frecuente encontrar en un mismo paciente una combinación de los diferentes tipos de lesiones (fig 4), pueden infectarse secundariamente dificultando el diagnóstico diferencial con granuloma piógeno o piodermatitis, involucionan en aproximadamente treinta días con tratamiento y en 2-6 meses sin ningún tratamiento; independientemente del tipo de lesión, no dejan ninguna cicatriz. Durante los brotes post fenómeno del niño en 1992 y 1998 se ha observado que los casos eruptivos son más severos habiéndose presentado en ambos brotes una forma pseudovariceliforme caracterizado por la presencia de múltiples lesiones en diversas etapas de evolución (polimorfismo regional), muy sangrantes, con predominio de presentación en las extremidades, pueden llevar fácilmente a la muerte por el sangrado de las lesiones por lo que ha sido necesario la transfusión de sangre en estos casos (fig 5 y 6).

Clásicamente se decía que la presentación de la forma anémica o eruptiva aseguraba la protección contra la enfermedad de por vida. Sin embargo, el haber sufrido la enfermedad aguda o eruptiva no descarta la posibilidad de ataques posteriores, en la experiencia del autor una paciente sufrió la fase aguda hasta en tres oportunidades, siendo hospitalizada y confirmado el diagnóstico con frotis en las tres oportunidades; otra paciente presenta la forma anémica en sus dos gestaciones. Esta observación no es nueva, algunos autores han citado que algunas personas refieren incluso que la verruga se repetía cada año^{4,68}.

Durante el brote en las provincias de La Convención y Urubamba en Cusco no se observó la fase eruptiva en ningún paciente hasta seis meses después de haber sufrido la fase aguda. Aunque no se encontró diferencia en el secuenciamiento del gen de la citrato sintetasa de *B. bacilliformis* no se descarta la posibilidad de que exista variación genética con cepas aisladas de otras regiones¹¹².

En la provincia de Manabí, Ecuador se presentan lesiones eruptivas atípicas, por lo que se postula de que exista una cepa verrucosa menos virulenta.

6.2 Complicaciones de la fase anémica

Las complicaciones en la fase anémica son frecuentes y pueden clasificarse con fines académicos en infecciosas y no infecciosas; ambos tipos de complicaciones pueden estar presente en un mismo paciente. La letalidad en este grupo de pacientes es muy alta.

6.2.1 Complicaciones no infecciosas:

Múltiples estudios han reportado este tipo de complicaciones y pueden ser respiratorias, cardiovasculares, neurológicas, renales, hematológicas. Maguiña⁶⁹ reporta que un 32.3% (22/68) de los pacientes de su estudio tuvieron complicaciones no infecciosas, de ellos 68.1% (15/22) presentaron algún trastorno neurológico, 27.2% (6/22) insuficiencia cardíaca

congestiva, 13.6% (3/22) derrame pericardico. La letalidad en este grupo de pacientes fue 9.09%.

Complicaciones respiratorias: Son complicaciones relativamente frecuentes bronquitis y neumonia^{16,73}, insuficiencia respiratoria aguda, síndrome de distres respiratorio del adulto, asociado a hipoxemia severa, neumonia intersticial.

Complicaciones cardiovasculares: En un estudio retrospectivo realizado en el Hospital Nacional Cayetano Heredia sobre 40 pacientes con diagnóstico de Enfermedad de Carrión en fase aguda⁷⁰, los síntomas cardiovasculares más frecuentes fueron disnea de esfuerzo 51.3%, tos 47.2% y palpitaciones 28.2%. Las funciones vitales 77.5% estuvieron febriles al ingreso, 87.5% polipneicos, 80% taquicardicos. Los signos cardiovasculares más frecuentes fueron soplo sistólico 92.5%, hepatomegalia 87.5%, taquicardia 80%, hipotensión ortostática 70%, hipotensión severa 50%, crepitos pulmonares 35%, edemas 35%, reflujo hepatoyugular 35%, ruidos cardiacos disminuidos 15%, frote pericardico en 5%. En el estudio electrocardiográfico realizado a 28 pacientes, las alteraciones más importantes fueron taquicardia sinusal 57.1%, alternancia eléctrica 10.7% y complejos QRS de bajo voltaje en 14.3%. Se observaron asimismo signos de miocarditis y fracción de eyección normal. En la radiografía de tórax de 39 pacientes, el 59% tenían cardiomegalia, 25.6% derrame pleural, y el 43.2% imágenes compatibles con edema agudo de pulmón.

Asimismo, el 67.5% (27/40) de los casos presenta alguna complicación cardiovascular; insuficiencia cardiaca congestiva en 62.5% (25/40), edema agudo de pulmón en 40% (16/40), pericarditis efusiva en 56.5% (13/23 en quienes se realizó evaluación ecocardiográfica), taponamiento cardiaco en 17.4% (4/23), shock cardiovascular en 15% (6/40), miocarditis aguda por toxoplasma gondii en un paciente y diagnóstico sugerente en 4 por elevación de enzimas y cambios ecocardiográficos compatibles. Un paciente presento infarto agudo de miocardio. El liquido pericardico fue de tipo exudativo en 3 de 4 casos, con predominio linfomonocitario y glucosa normal, en uno de ellos el PCR fue positivo para *Bartonella bacilliformis*.

La anasarca se asocio estadísticamente con taponamiento cardiaco. El taponamiento cardiaco tuvo una asociación estadísticamente significativo con mayor letalidad. La letalidad en esta serie de pacientes fue de 15%.

Complicaciones hematológicas: En una serie de 26 casos en fase aguda en un Hospital Regional reportan la presencia de palidez en el 100%, anemia severa 71%, púrpura 40% y plaquetopenia < de 10,000 en el 19%¹¹³.

En el frotis de sangre periferica es posible encontrar anisocitosis, hipocromia, macrocitosis, microcitosis, poiquilocitosis, policromatofilia, cuerpos de Howell, granulaciones toxicas vacuolizacion de neutrofilos, hipersegmentacion de neutrofilos, normoblastos.

El indice de produccion medular (IPM) generalmente esta elevado, como consecuencia de la destruccion prematura de los hematies, se produce una hiperplasia del tejido eritropoyetico de la medula osea a predominio de la serie eritroide y megacariocitica.

Anemia en la fase aguda es de tipo hemolitico con test de Coombs (-), sin embargo se ha descrito casos de anemia hemolítica autoinmune⁷¹ con test de Coombs directo positivo, que remite con el tratamiento.

Complicaciones gastrointestinales: Los síntomas gastrointestinales más frecuentes en 68 pacientes fueron dolor abdominal en 46.3%, coluria 44.4%, vomito 40.3%, ictericia 38.5%, diarrea 29.9%, estreñimiento 8.9%. Los signos más importantes son hepatomegalia en 82%, ictericia 71.6%, y la esplenomegalia en 29.4% (20/68). Las pruebas hepáticas también están alteradas, la media de bilirrubina total fue de 3.5 mg/dl (rango 0.6-21), bilirrubina directa 1.9%

(rango 0.3-18), bilirrubina indirecta 1.6% (rango 0.5-11), TGO 73.9 U/L (rango 9-1250), TGP 65.5 (rango 6-596) fosfatasa alcalina 5.9 (rango 3-497) y la albúmina 3.09 (rango 2-4.2)⁶⁹.

Hinojosa⁷² en 1977 reporta 76 casos de enfermedad de Carrión en el Callejón de Huaylas y los síntomas gastrointestinales más importantes fueron diarrea 42%, Dolor abdominal 37%, vómitos 34%, anorexia 30% y estreñimiento 1%; los signos gastrointestinales más importantes fueron hepatomegalia 50%, esplenomegalia 32%, ictericia 5%, y ascitis 1%.

La diferencia de los resultados entre el estudio de Maguiña e Hinojosa debe principalmente al universo de donde se obtuvieron los casos, mientras que Maguiña realizó el estudio en un Hospital Nacional de Referencia en la ciudad de Lima, al cual se derivan los casos graves que no pueden ser tratados adecuadamente en los hospitales locales (sesgo de selección), Hinojosa lo realizó en una área endémica y los casos fueron identificados a través de la búsqueda activa en hospitales, Centros, Puestos de Salud y en las comunidades del Callejón de Huaylas. Por lo tanto los resultados de ambos estudios se pueden inferir, el primero a pacientes que acuden a los grandes hospitales de referencia (otros estudios realizados en grandes hospitales de Lima reportan resultados similares) y el segundo a pacientes que son diagnosticados en áreas endémicas.

Otro estudio realizado en una población pediátrica⁷³ reporto incremento de las transaminasas en 4 de 17 siendo los valores máximos de TGP y TGO de 102 y 96 U/ml respectivamente. Los valores de fosfatasa alcalina en siete pacientes fueron normales. El autor concluye de acuerdo a estos resultados que el compromiso hepático en los niños es menor que en adultos.

Un último estudio realizado en el Hospital Regional del Cusco¹¹³ reporta 26 casos de enfermedad de Carrión en fase aguda las complicaciones gastrointestinales más frecuentes fueron náuseas y vómitos en 85%, hepatoesplenomegalia 75%, ictericia 62%.

En 3 pacientes en fase aguda y que después del tratamiento y negativización de *B. bacilliformis* en sangre, persistieron con fiebre, ictericia, hepatoesplenomegalia y con alteración de las pruebas hepáticas, en el estudio anatomopatológico se observó colestasis intracelular, hiperplasia de las células de Kupffer, infiltración mononuclear en el espacio porta, necrosis parenquimal focal y dilatación sinusoidal, patrón que caracteriza a la hepatitis reactiva inespecífica o hepatopatía reactiva⁷⁴.

Complicaciones Neurológicas: Es una de las complicaciones más frecuentes de la fase aguda, Ricketts⁶⁸ reportó un 27% de complicaciones neurológicas. Lastres encontró que los síntomas iban desde la cefalea, alteración del estado de conciencia, fotofobia, vértigo, ambliopía, amaurosis y coma.

Maguiña⁷⁵ reporta como principales signos neurológicos en 68 pacientes en fase aguda la somnolencia en 26.4%, fondo de ojo anormal 14.7%, Babinsky bilateral 13.2%, convulsiones 10.2, coma 8.8%, signos meníngeos 8.8%, irritabilidad 5.9%, delirio 4.4%, desorientado en tiempo espacio y persona 4.4%, hipertensión endocraneana 4.4%, temblor en reposo 3%, asterixis 3%, hemiparesia 3% y crisis cerebelosa 3%.

En el líquido cefalorraquídeo se observa un incremento de la pleocitosis, a predominio linfomononuclear, la glucosa se encuentra dentro de límites normales y las proteínas estuvieron ligeramente incrementadas.

Las características del líquido cefalorraquídeo de 14 pacientes fueron presión inicial 20.5 (11-28), presión final 16.5 (10-24), células linfomononucleares 70% (13-100%), glucosa 75.2 (47-100), proteínas 54.3 (25-110), en un paciente observaron cocobacilos gram (-) y en otro lograron aislar *Bartonella bacilliformis*⁷⁵.

Bartonella bacilliformis ha sido aislada del LCR en solo tres oportunidades, Monge en 1932, Solano en 1988 y Maguiña en 1993. Se postula que probablemente las *Bartonellas* producen un efecto directo al cerebro y otros órganos, explicando en parte los hallazgos neurológicos, que no se deberían solo a la hipoxia y anemia severa.

Las alteraciones del fondo de ojo más frecuentes son la retinopatía hemorrágica que se caracteriza por la presencia de hemorragias en flama o en estrías, exudados, edema de retina, descritos también en otros tipos de anemia severa.

En relación al tiempo de enfermedad Acosta⁷⁶ encontró que los pacientes con mayor tiempo de enfermedad tuvieron mayor compromiso neurológico.

Trelles⁷⁷ estudia 9 casos y describe como principales manifestaciones clínicas cefalea, trastorno de conciencia, convulsiones tipo gran mal, síndrome piramidal, síndrome cerebeloso (tremor e hipotonía), síndrome meníngeo, compromiso de los pares craneales VI y VII. Montoya¹¹³ reporta como principales complicaciones neurológicas coma, cerebelitis, excitación psicomotriz, delirio

En los pacientes con compromiso neurológico el uso de corticoides es usado como antiinflamatorio y antiedema cerebral tiene utilidad en el tratamiento de estas complicaciones⁶².

Falla orgánica multisistémica: El primer estudio que reporta esta complicación fue realizado en el Hospital de Huaraz por López de Guimaraes⁷⁸, de 30 casos de Enfermedad de Carrion grave complicada 9 (30%) reunían los criterios para esta complicación. Las complicaciones más frecuentes fueron neurobartonellosis, taponamiento cardíaco, insuficiencia renal, síndrome de distress respiratorio del adulto, púrpura trombocitopénica, insuficiencia respiratoria aguda. Los exámenes de laboratorio fueron VSG elevada, PCR positivo y los hemocultivos fueron negativos. La letalidad fue de 55.9% (4/9). Se postula que esta forma de presentación estaría en relación con una disregulación inmunológica como fase final del síndrome de respuesta inflamatoria sistémica.

Bartonellosis y gestación: Maguiña reporta nueve casos de bartonellosis y gestación, de los cuales 5 fueron en fase anémica, falleciendo dos de ellas, de las tres que no fallecieron, una presentó aborto y posteriormente hizo una superinfección por *Salmonella typhi* más *S. typhimurium*; otra presentó obito fetal a las 37 semanas de gestación y solo una tuvo un hijo normal. De las cuatro en fase eruptiva, no hubo fallecidas ni presentaron complicaciones¹⁶.

Se ha postulado la transmisión transplacentaria, Tuya⁷⁹ reporta un neonato de 19 días en fase anémica con frotis positivo y un índice parasitario de 30% y la madre se encontraba con malestar general, refería sensación febril fiebre y estaba muy pálida, en ella también se encontró frotis positivo .

Lopez de Guimaraes⁸⁰ reporta ocho casos en el Hospital de Huaraz, de los cuales el 62.5% (5/8) presentaron obito fetal, la letalidad fue de 25% (2/8).

Nuñez⁶⁴ reporta dos casos agudos uno termino en óbito fetal. Montoya¹¹³ reporta dos casos en fase aguda, uno termino en óbito fetal.

Broncano reporta dos casos de bartonellosis y gestación, uno termina en óbito fetal, el segundo termino en parto por cesárea⁸¹.

6.2.2. Complicaciones infecciosas:

Maguiña reporta un 36.7% (25/68) de los pacientes en fase aguda presentaron complicaciones infecciosas, las más frecuentes fueron bacterianas en 32% (8/25). La letalidad en este grupo de pacientes fue 16%.

a) Bacterianas

La salmonelosis clásicamente se describe como una de las principales complicaciones de la fase anémica de la Enfermedad de Carrion despues de los estudios de Cuadra y Colichon. Sin embargo Maguiña⁵ reporta superinfecciones con otras bacterias como *Shigella dysenteriae*, *Enterobacter sp.* y *Staphylococcus aureus*. Espinoza reporta además

bacteremia por *Klebsiella*⁷³ en un niño. El *Mycobacterium tuberculosis* es otra complicación frecuente produciendo generalmente tuberculosis miliar⁷².

Leptospirosis con cuadros purpúricos y presentación clínica inusual ha sido descrita por primera vez en Quillabamba, infecciones urinarias en 31.25% (5/16), sepsis 25% (5/16) fiebre tifoidea 12.5% (2/16), bronconeumonía 18.75% (3/16)⁶⁴.

b) Vírales : Se han reportado complicaciones por herpes diseminado¹¹³ y hepatitis B post-transfusión⁵.

c) Parasitarias: La toxoplasmosis es una de las complicaciones parasitarias descritas en la fase aguda de la enfermedad de Carrión. Fue descrita por primera vez en 1940 por Pinkerton y Weinman⁸² en un paciente que falleció en fase aguda, observando *Toxoplasma gondii* en las células cardíacas, células de Kupffer y células mesenquimales. En otro estudio Maguiña⁸³ reporta 25 (37.5%) casos de Enfermedad de Carrión en fase aguda con complicaciones infecciosas, de los cuales 5 fueron por toxoplasmosis reactivada. El cuadro clínico de estos casos fue fiebre 5/5, lesiones hepáticas 3/5, insuficiencia respiratoria 3/5, lesión miocárdica 2/5. Un paciente falleció por miocarditis (letalidad 20%). El diagnóstico clínico fue confirmado por incremento de títulos mayor de 4 veces del valor basal por inmunofluorescencia indirecta (IFI) en 4/5, títulos IgM positivo (ELISA, IFI) y por la presencia de taquizoitos de *T. gondii* en biopsia de tejido pulmonar y miocárdico en 2/5. Tres pacientes fueron tratados con pirimetamina más clindamicina o cotrimoxazol de los cuales falleció uno; los otros dos pacientes no recibieron tratamiento específico y la enfermedad se autolimitó. Montoya¹¹³ también reporta en su serie de casos complicación por toxoplasmosis

Se han reportado casos de neumonía por *Pneumocystis carinii*^{5,113}.

Complicación con Malaria por *P. vivax* también ha sido reportado sobre todo en áreas que son endémicas para ambas enfermedades como las provincias de San Ignacio en Cajamarca, Huari y Mariscal Luzuriaga en Ancash.

d) Micosis profundas: La literatura reporta un solo caso de bartonelosis en fase aguda y posterior complicación con histoplasmosis diseminada⁸⁴, una enfermedad ligada a alteraciones de la inmunidad celular. La fiebre persistente con ausencia de *Bartonellas* en frotices de sangre periférica después de 14 días de tratamiento con cloranfenicol, con ligera mejoría de las molestias iniciales fueron las características clínicas de este caso. En tres hemocultivos y un mielocultivo en agar Sabouraud se aíslan *Histoplasma capsulatum*; en una biopsia hepática y un coágulo de médula ósea se observó la presencia de granulomas y levaduras compatibles con *H. capsulatum*. El antecedente epidemiológico de residir en una área endémica de enfermedad de Carrión y posteriormente viajar a otra área endémica de histoplasmosis durante la fase aguda de la enfermedad de Carrión fue un dato muy importante para sospechar de esta complicación. Se observó rápida mejoría clínica y remisión de la curva febril al recibir tratamiento con itraconazol a dosis de 200 mg día.

VII) ASPECTOS EPIDEMIOLOGICOS

7.1 EPIDEMIOLOGÍA EN HUMANOS

7.1.1. Fuente de infección y modo de transmisión

Desde las primeras décadas del siglo XX se han realizado múltiples estudios para identificar los posibles reservorios de la bartonelosis. Se han realizado cultivos de sangre de animales domésticos y silvestres; algunos autores reportan haber aislado *Bartonellas* de algunos de ellos, sin embargo, no se sabe si en realidad los germenos aislados fueron *Bartonella*

bacilliformis; es más probable que haya sido alguna otra especie de *Bartonella*. Se conoce actualmente que casi todos los animales domésticos y muchos silvestres, son reservorios de especies de *Bartonellas*, la mayoría de ellas no patógenos para el hombre; debido a que la morfología de las colonias de las diferentes especies son similares, no es posible distinguirlas por este método, y es necesario realizar pruebas moleculares como el PCR para diferenciarlas. Es por ello, que los resultados de los estudios realizados anteriormente deben ser confirmados utilizando nuevas herramientas de diagnóstico, que permitan diferenciar especies y cepas de *Bartonellas*.

Ha la fecha el único reservorio demostrado para *B. bacilliformis* es el hombre, sin embargo no se descarta la posibilidad de que exista un reservorio animal.

Se conoce muy poco sobre la epidemiología de *B. bacilliformis* en el humano. No se ha determinado si los portadores asintomáticos son en realidad personas aparentemente sanas o se encuentran en el periodo de incubación y posteriormente presentaran las características clínicas de la enfermedad o se encuentran en el periodo intercalar; tampoco se han realizado estudios prospectivos para determinar el tiempo de duración de la bacteremia en personas asintomáticas. Hay pocos estudios que correlacionan el antecedente de la enfermedad y el estado de portador. Aparentemente los que sufrieron la enfermedad, en la forma anémica o eruptiva, tienen mayor probabilidad de tener hemocultivos positivos, incluso si recibieron tratamiento adecuado, y serian los potenciales reservorios en áreas endémicas de transmisión. Esto llevaria ha replantear la eficacia del tratamiento con antibióticos considerando no solo la cura clínica sino también la cura bacteriológica.

7.1.2. Prevalencia de bacteremia

Se han realizado múltiples estudios para determinar la prevalencia de bacteremia en población sintomática y asintomática, sin embargo la mayoría de los estudios no son comparables puesto que se utilizaron diferentes anticoagulantes y volúmenes de sangre para realizar los cultivos; diferentes tiempos entre la toma de muestra y el procesamiento de la muestra, y de incubación; diferentes medios de cultivo, algunos realizaron subcultivos de los cultivos primarios; diferentes poblaciones no comparables, algunos estudios fueron realizados en áreas endémicas y otros durante brotes en nuevas áreas de transmisión.

La prevalencia de aislamiento de *Bartonellas* depende de muchos factores, entre los principales están el volumen de sangre utilizado para el cultivo, el tiempo entre la toma de muestra y el sembrado en los medios, el anticoagulante utilizado, el medio de cultivo, el tiempo de observación de los cultivos, la realización de subcultivos sistemáticos a partir de los cultivos primarios, el antecedente de haber sufrido la enfermedad anémica o eruptiva, entre otros.

La tabla N° 3 resume los principales estudios de prevalencia de bacteremia en personas sintomáticas y asintomáticos realizados en Perú y Ecuador, y el medio de cultivo utilizado.

Tabla N° 3. Estudios de prevalencia de bacteremia realizados en Perú y Ecuador

| Autor | Año | Lugar | Tipo de pacientes | Total muestras | % de aislamientos | Medio de cultivo |
|------------------------|------|----------------------|------------------------------|----------------|-------------------|--|
| Colichon ⁸⁵ | 1970 | Callejón de Huaylas | Asintomáticos | 50 | 12% | Medio de fases de Colichon, subcultivo al 100% de cultivos primarios en gel de fases |
| Herrer ⁸⁶ | 1980 | Cajabamba, Cajamarca | Asintomáticos | 364 | 6.6 | Medio semisolido de Noguchi para Leptospiras |
| Herrer ⁸⁷ | 1981 | Huarmaca, Piura | Asintomáticos | 482 | 0.6 | Medio semisolido de Noguchi para Leptospiras |
| Gray ¹⁰¹ | 1987 | Pomabamba, Ancash | Asintomáticos y sintomáticos | 97 | 3.1% | Gel de fase |
| Solano ⁸⁸ | 1988 | Huari, Ancash | Asintomáticos | 201 | 38.3 | Medio de fases de |

| | | | | | | |
|------------------------|------|---------------------------|--|-----|------|---|
| | | | Anémicos y verrucosos | 7 | 42.9 | |
| | | | Con antecedente verrucoso | 26 | 53.8 | |
| | | | Sin antecedente verrucoso | 171 | 35.7 | |
| Maguiña ⁸⁹ | 1983 | San Marcos, Huari, Ancash | Asintomáticos con antecedente | 23 | 0 | Agar de fases: Sólida: agar-soya-triptica-sa modificada Líquida: Caldo soya tripti-casa |
| | | | Asintomáticos sin antecedente | 34 | 0 | |
| Cooper ¹⁴⁵ | 1996 | Zamora-Chinchipec Ecuador | Asintomáticos | 253 | 0 | Agar Columbia + 10% sangre humana |
| Colichon ⁹⁰ | 1997 | Callejón de Huaylas | Asintomáticos | 13 | 7.7 | Bordet-Gengou + RPMI 1640 |
| | | | Verrucosos | 31 | 58 | |
| Laughlin ⁹¹ | 1997 | Caraz, Ancash | Asintomáticos | 600 | 0.7 | Medio F1 + RPMI |
| | | | Asintomáticos con antecedente anémico | 21 | 14 | |
| | | | Asintomático con antecedente verrucoso | 27 | 22 | |
| Ellis ¹¹² | 1998 | Urubamba, Cusco | Contactos asintomáticos | 126 | 4.7 | Agar infusión de corazón + 5% de sangre de conejo |
| | | | Casos frotis + | 13 | 38.5 | |
| | | | | | | |

En otros estudios reportan la presencia de 9-29% de individuos asintomáticos infectados con *B. bacilliformis* en áreas endémicas con sin historia de enfermedad^{92,93}

Herrer reporto en el valle de Huayllacallán, en Ancash, sobre 1371 encuestados, el 45% (616/1371) refirió haber sufrido la fase eruptiva o anémica⁹⁴, asimismo refiere que la distribución altitudinal de la verruga esta entre los 780 y 3000 msnm.

7.1.3. Seroprevalencia

Los estudios de seroprevalencia permiten determinar la real magnitud y la dinámica de la enfermedad en la población. Se han realizado pocos estudios de seroprevalencia en el Perú y todos son estudios transversales únicos, por lo que no es posible determinar cual es la dinámica de la infección en áreas endémicas. Los estudios de seroprevalencia también permiten evaluar el impacto de las medidas de prevención y control ejecutadas por los programas de salud; si los estudios se realizan en niños menores de 5 años con cierta periodicidad, se puede observar la dirección de la curva de prevalencia en el tiempo, en niños menores de 5 años; si la prevalencia disminuye quiere decir que los niños no han estado expuesto al agente probablemente debido a la eficacia de las actividades de prevención y control. Por otro lado, si la prevalencia aumenta la interpretación seria todo lo contrario.

La seroprevalencia también depende de varios factores, entre los principales esta el método utilizado, ya que cada técnica tiene una sensibilidad y especificidad diferente, la población sobre el cual se realiza el estudio y el método utilizado para seleccionar la muestra. Por lo tanto, los resultados de un estudio, solo es valido para la población sobre la que se realizo el estudio, no es posible extrapolarlo a otras áreas. A continuación se presenta un resumen de los estudios de seroprevalencia realizados en Perú y Ecuador, no son comparables puesto que utilizaron técnicas diferentes, se realizaron en poblaciones diferentes y utilizaron diferentes métodos para la selección de la muestra. La sensibilidad y especificidad de cada una de las pruebas utilizadas será discutidas posteriormente.

La tabla N° 4 resume los principales estudios de seroprevalencia realizados en Perú y Ecuador, y la técnica utilizada.

Tabla N° 4. Estudios de seroprevalencia realizados en Perú y Ecuador según lugar, técnica utilizada y población.

| Autor | Año | Lugar | Prevalencia | Técnica | Población |
|----------------------------|------|---------------------------------|-------------|------------------------|---------------------------------|
| Knoblock | 1985 | Cajamarca, Perú | 63.6 | Con ELISA, AF y HI | Población general |
| | | | | ELISA | |
| | | | | AF. | |
| | | | | HI | |
| Solano ⁸⁸ | 1988 | Huari, Ancash, Perú | 91.4 | Aglutinación en lamina | Población general |
| Gray | 1988 | Shumpillan, Pomabamba, Perú | 21.7 | ELISA | Asintomáticos |
| | | | 50 | ELISA | Sintomáticos |
| Minaya ⁹⁵ | 1993 | Carhuaz, Huaraz, Perú | 49 | ELISA | Población total |
| | | | 41.25 | ELISA | Personas sin antecedente |
| | | | 77.27 | ELISA | Personas con antecedente |
| Amano ¹²⁰ | 1997 | Manabi, Ecuador | 21 | ELISA | Contacto de casos |
| | | Oro y Zamora Chinchipe, Ecuador | 17 | ELISA | Contacto de casos |
| Chambarlein ¹⁶⁸ | 1998 | Caraz, Ancash, Perú | | TIF | Población total |
| Delgado ⁹⁶ | 1999 | Bongara, Amazonas, Perú | 77.6 | Western blot | Población general |
| | | | 94.6 | Western blot | Personas con lesiones eruptivas |

AF: Anticuerpos fluorescentes, HI: hemaglutinación indirecta

TIF: Test de inmunofluorescencia indirecta

No existen reportes de estudios de seroprevalencia en Colombia.

7.1.3. Mortalidad:

La mortalidad es otra variable que se ha estudiado extensamente desde la epidemia de Enfermedad de Carrión que afectó a obreros durante la construcción del ferrocarril de la Oroya. A pesar de ser dos variables diferentes, muchos investigadores han usado indistintamente mortalidad y letalidad como si fueran sinónimos.

La mortalidad por Enfermedad de Carrión puede variar por múltiples causas. Se ha observado que se incrementa durante los años epidémicos en áreas endémicas. Varios factores pueden explicar este fenómeno, por ejemplo el incremento de casos anémicos y cuadros clínicos más severo que en años no epidémicos; el desconocimiento de la enfermedad por el personal de salud nuevo realizando diagnósticos erróneos o tardíos; la falta de un esquema de tratamiento protocolizado también a influido, aunque recientemente el Programa de Control de Malaria y Otras Enfermedades Metaxénicas¹⁶⁹ ha elaborado un manual de normas y procedimientos que ha sido de ayuda invaluable para uniformizar criterios de diagnóstico, tratamiento, seguimiento y vigilancia epidemiológica; sin embargo, no hay esquemas de tratamiento para casos complicados que no responden al tratamiento de primera línea y para gestantes con bartonelosis ni criterios para referir pacientes a hospitales de referencia.

La mortalidad también es mayor cuando se presenta en forma de brote, sobre todo si el brote se presenta en áreas nuevas de transmisión, donde el personal de salud desconoce la

enfermedad y el personal de laboratorio no está capacitado para la lectura del frotis de sangre periférica, toma de muestras o para realizar cultivos. El desconocimiento de los principales síntomas y signos, y las creencias y costumbres de la población es quizá uno de los principales factores que influye en el incremento de la mortalidad.

La mortalidad no es posible determinarla basándose solo en los casos reportados en los Hospitales Nacionales o Regionales; no es posible conocer el numerador con precisión, debido a que los casos que fallecen proceden de varios departamentos o provincias y no todos las defunciones ocurren en estos hospitales. El denominador si es posible determinarlo, ya que la población en riesgo de enfermar y fallecer es conocida a través de los censos de población que realiza el INEI. La tasa mortalidad más cercana al valor real es obtenido por el sistema de vigilancia epidemiológica, sin embargo también existe gran subregistro de información.

7.1.4. Letalidad:

La letalidad está muy relacionada con la mortalidad, se refiere a la proporción de personas que sufrieron la enfermedad y que fallecieron como consecuencia de ello. La mayoría de autores la han confundido con mortalidad.

La letalidad también es muy variable y el valor calculado para una área específica o para un hospital no puede extrapolarse para otros. En general, al igual que la mortalidad, se incrementa durante los años epidémicos y cuando se presenta en brotes o en áreas nuevas de transmisión donde el personal de salud no está capacitado para el diagnóstico y tratamiento de esta enfermedad. La letalidad es mayor en los Hospitales Regionales o Nacionales, debido a que los pacientes graves y complicados son transferidos desde los establecimientos de salud de menor complejidad, por carecer de medicamentos, exámenes de laboratorio o equipamiento necesario para el tratamiento de las complicaciones; por lo tanto, la letalidad en estos hospitales será mayor; debido a este sesgo de selección no puede extrapolarse a los hospitales locales.

En hospitales locales de áreas endémicas la letalidad es menor, debido a que la mayoría de los pacientes atendidos en consulta externa son no complicados; muy pocos necesitan ser hospitalizados. Esta letalidad se aproxima más a la letalidad real, puesto que una mayor cantidad de pacientes acude a los hospitales locales. Sin embargo, también hay un sesgo de selección puesto que no todos los casos acuden a los hospitales locales; muchos son atendidos en los Puestos y Centros de Salud.

El valor más cercano a la letalidad y mortalidad real, es el estimado por las Direcciones Regionales de Salud, Unidades Territoriales de Salud, Unidades Básicas de Salud o Cabeceras de Red, etc. Porque consideran en su denominador todos los pacientes que enfermaron y fueron atendidos en algún servicio de salud (Puesto y Centro de Salud, Hospitales Locales o Regionales) o que fueron atendidos al realizar visitas domiciliarias o campañas de salud en las comunidades. En este caso también puede haber un sesgo, puesto que muchos pacientes no son captados por el sistema de vigilancia, pero el sesgo es menor que en los casos anteriormente mencionados. La letalidad y mortalidad estimada en este caso también es válida solo para el área donde ha sido calculada, pero pueden ser comparables con la letalidad de otras áreas, DISAS, UTES o UBAS.

La letalidad es mayor en áreas donde predominan la fase anémica, ejemplo San Ignacio y Cuzco y es menor en áreas donde predominan la fase eruptiva, ejemplo, Ancash, esta observación clínica ha permitido postular desde hace muchos años atrás, la posible existencia de varias cepas de *Bartonella bacilliformis*, algunas serían más virulentas y anemizantes, mientras que otras serían menos virulentas y más verrucogénas.

En la fase eruptiva mortalidad y letalidad es de 0%.

La letalidad de la fase anémica en la era preantibiótica era de un 40%^{7,15} hasta 91.7%. Con el uso de antibióticos la letalidad disminuyó, pero alcanzaba hasta 90% en los casos no tratados con superinfección por Salmonellas⁹⁷

La tabla N° 5 muestra la letalidad de la Enfermedad de Carrión en fase anémica en las últimas décadas, en grandes hospitales, hospitales locales y DISAS.

Tabla N° 5 . Letalidad de la Enfermedad de Carrión en fase anémica en Perú y Ecuador.

| Autor | Año | Departamento/ provincia | Tipo Paciente | Tipo hospital | Circuns- tancia | Nº Pa- cientes | Letalidad |
|---|---------|------------------------------|----------------------------------|---------------|----------------------------------|-------------------|-----------|
| Gray ¹⁰¹ | 1987 | Ancash/ Pomabamba, Perú | Comunidad | | Brote* | 16 | 88 |
| Espinoza | 1987 | Lima | Hospitalizados | Nacional | | 39 | 7.7 |
| Maguiña ¹⁶ | 1993 | Lima/Lima, Perú | Hospitalizados | Nacional | | 68 | 8.8 |
| Broncano ⁶⁶ | 1992 | Ancash/Huaylas, Perú | Hospitalizados y ambulatorio | Local | Brote en una área endémica | 259 | 1.16 |
| Handabaca ⁹⁸ | 1996-97 | Ancash/Sihuas, Perú | Hospitalizados | Local | Endémico | 30 | 0 |
| | 1997 | Cajamarca, Perú | Comunidad | | Brote | 13 | 15.4 |
| Nuñez ⁶⁴ | 1998 | Cusco/La Convención, Perú | Hospitalizados y ambulatorios | Local | Brote | 41 | 12.2 |
| Montoya ⁹⁹ | 1998 | Cusco/Cusco, Perú | Hospitalizados | Regional | Brote | 26 | 23 |
| SNE de malaria ¹⁰⁷ (*) | 1970 | Zamora-Chinchipe Ecuador | Hospitalizados y ambulatorios | Local | Brote | 200 | 1.5 |
| Cooper ¹⁴⁵ | 1984-95 | Zamora-Chinchipe Ecuador | Hospitalizados y ambulatorios | Local | Endémico | 12 | 0 |
| Cooper ¹⁰² | 1995-96 | Zamora-Chinchipe Ecuador | Hospitalizados y ambulatorios | Local | Brote | 18 | 11.1 |
| Gómez ¹⁰⁰ | 1988-95 | Lima, Perú | Hospitalizados | Nacional | | 5 | 40 |
| Pachas ⁶⁷ | 1998 | Ancash, Perú | DIRES | DIRES | Brote | 735 | 3.4 |
| Pachas ⁶⁷ | 1999 | Ancash, Perú | DIRES | DIRES | Brote | 372 | 0.54 |

(*) Letalidad en pacientes que no recibieron tratamiento con antibióticos.

(**) Servicio Nacional de Erradicación de la Malaria de Ecuador

7.1.5. Factores de riesgo para enfermar y morir

a) Factores de riesgo para enfermar

La mayoría investigaciones realizadas han evaluado los aspectos clínicos; son escasos los estudios epidemiológicos. Una de las áreas epidemiológicas menos conocida son los factores de riesgo para enfermar; esto quizá se deba al desconocimiento en nuestro país de la metodología de los estudios caso-control para determinar factores de riesgo en enfermedades infecciosas y al alto costo de los estudios de cohorte. A la fecha no se ha realizado ningún estudio de cohorte en el país para evaluar factores de riesgo para enfermar por la Enfermedad de Carrión. Proyecto Verruga esta realizando un estudio de cohorte en Caraz, el primer estudio de este tipo realizado en más de 115 años de continua investigación de la Enfermedad de Carrión. También están realizando estudios caso-control y caso-control anidados en una cohorte, cuyos resultados serán conocidos en los próximos años y serán de gran importancia para la prevención y control.

El primer estudio caso-control para determinar factores de riesgo para enfermar por Enfermedad de Carrión en nuestro país, ha sido realizado recientemente por Ellis¹¹² durante un brote de bartonelosis en Urubamba, el único factor de riesgo encontrado fue la referencia de picadura por mosquitos cuando se compararon los casos con controles vecinos (OR=5.8, IC=1.2-39.2) y controles lejanos (OR=8.5, IC=1.7-57.9). Ambos grupos, casos y controles refirieron mayor cantidad de mosquitos durante el periodo del estudio, comparado con el mismo periodo de años anteriores. No hubo diferencias entre las viviendas de casos y controles respecto a la frecuencia de agua corriente, eliminación de excretas, electricidad, potenciales criaderos de *Lutzomyia* (pared de piedras, tronco de arboles) o número de ventanas abiertas.

Gray¹⁰¹ realiza un estudio caso-control en 1987 durante un brote de Enfermedad de Carrión en la comunidad de Shumpillan, provincia de Pomabamba, Ancash, pero hubo errores en el diseño del estudio por lo que sus resultados pueden estar sesgados y no lo considero como el primer estudio caso-control, a pesar de haber sido realizado 12 años antes que el estudio de Ellis. Gray reporta en su estudio un incremento de la población de roedores antes de la aparición del brote, y la presencia de ratas fue significativamente más frecuente en la vivienda de los casos.

Otros dos estudios sobre factores de riesgo para enfermar han sido reportados en la literatura, Cooper en 1996 realiza el primer estudio caso-control en Ecuador y encontro como factores asociados para enfermar la presencia de pollos enfermos o muertos y de garrapatas dentro del domicilio de los casos¹⁴⁵. En otro estudio caso-control, también realizado en Ecuador por el mismo autor en 1997, reporto la presencia de roedores muertos en el peridomicilio de los casos como único factor de riesgo asociado para enfermar¹⁰².

En realidad todavía no se conoce con certeza cual o cuales son los factores de riesgo para enfermar. Los primeros estudios realizados no llegan a una conclusión clara y en cada área donde se realizaron los estudios los factores de riesgo encontrados son diferentes. Sospecho que los factores de riesgo son validos solo para la zona de estudio, similar a los factores de riesgo para enfermar por Leishmaniasis. La importancia de determinar los factores de riesgo para enfermar radica en que al identificarlos podemos concentrar nuestros esfuerzos específicamente sobre ellos con el objetivo de modificarlos o eliminarlos, de esta manera podremos ser más eficientes y obtener mayor impacto con los escasos recursos del MINSA.

b) Factores de riesgo para morir

Determinar los factores de riesgo para morir también es importante, porque al identificar uno o más de estos factores, al examinar por vez primera a un paciente, permitirá identificar aquellos pacientes que deben ser tratados agresivamente para disminuir la mortalidad y letalidad. Son pocos los estudios que han identificado factores de riesgo para morir en la Enfermedad de Carrión.

Maguiña¹⁶ en un primer estudio evaluó los factores de riesgo para morir por Enfermedad de Carrión en pacientes hospitalizados en un Hospital Nacional y reporto que la anasarca, dificultad respiratoria, delirio y coma fueron los signos clínicos asociados con mayor letalidad. En un segundo estudio sobre el mismo tipo de pacientes reporto además que la hipoalbuminemia (albúmina<2.8g/L), leucocitos persistente, hiponatremia y la alteración de

las pruebas hepáticas (elevación de la TGO,TGP,FA) también están asociados a una mayor letalidad⁶⁹. Montoya¹¹³ en un estudio realizado en el Hospital Regional del Cusco, reporta como factores de riesgo para morir, la edad < 1 y > de 32 años, presencia de shock al momento del ingreso, bilirrubina > de 3.7 mg/dl, leucocitos > 12,000 mm³ e índice de parasitemia > de 80%.

7.1.6. Enfermedad de Carrión y niveles de pobreza

Desde 1994 se esta observando en el departamento de Ancash, un incremento de casos en el Callejón de los Conchucos, la zona mas pobre de la región. El primer estudio que correlaciona la Enfermedad de Carrión con los estratos de pobreza fue realizado por Pachas¹⁰³, utilizando como método para medir pobreza, la proporción de hogares con Necesidades Básicas Insatisfechas (NBI), un indicador que permite medir pobreza estructural. Otra forma de medir pobreza es la metodología de la Línea de Pobreza, que relaciona los ingresos familiares mensuales con el costo de la canasta básica familiar, este método permite cuantificar la pobreza coyuntural, tiene el inconveniente de ser muy variable y no muy confiable por que se puede introducir sesgos de informacion.

Al estratificar los distritos por NBI considero los siguientes intervalos de proporción de hogares con NBI:

| Estrato | Clasificación | %hogares con NBI |
|----------------|----------------------|-------------------------|
| I | No pobre | < 40 |
| II | Pobre | 40-59.9 |
| III | Muy pobre | 60-79.9 |
| IV | Extremadamente pobre | 80-100 |

En la tabla N° 6 se observa que con el transcurso de los años la proporción de casos de Enfermedad de Carrión en los distritos en extrema pobreza se ha incrementado de 14% en 1984 hasta 32% en 1999. El estrato no pobre reporta solo el 0.2% de los casos y la variación durante el transcurso de los años es insignificante.

Tabla N° 6. Proporción de casos de Enfermedad de Carrión notificados Según estratos de pobreza. Ancash-Perú. 1994-1999

| Estrato | 94 | 95 | 96 | 97 | 98 | 99 |
|-----------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| No pobre | 0 | 2 | 1 | 1 | 0,2 | 0,2 |
| Pobre | 66 | 58 | 43 | 39 | 46 | 53 |
| Muy pobre | 20 | 18 | 25 | 20 | 25 | 15 |
| Extrema pobreza | 14 | 21 | 31 | 40 | 29 | 32 |
| Total | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |

Al realizar el análisis de la tasa de incidencia por estratos de pobreza, si comparamos la tasa de incidencia de la Enfermedad de Carrión entre los años 1994 y 1998, observamos que en el estrato no pobre no se incrementa; en el estrato muy pobre hay un incremento del 471% y en el estrato de extrema pobreza el incremento de la tasa de incidencia es de 730% (Tabla N° 7).

Tabla N° 7. Tasa de incidencia (*) de la Enfermedad de Carrión Según estratos de pobreza y por años. Ancash-Perú. 1994-99

| Estrato | 94 | 95 | 96 | 97 | 98 | 99 |
|----------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| No pobre | 0 | 3 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| Pobre | 143 | 100 | 64 | 109 | 342 | 192 |

| | | | | | | |
|-----------------|----|----|----|-----|-----|-----|
| Muy pobre | 64 | 45 | 56 | 87 | 301 | 85 |
| Extrema pobreza | 29 | 34 | 43 | 109 | 211 | 117 |
| Regional | 54 | 42 | 37 | 70 | 190 | 93 |

(*) Tasa por 100,000 habitantes

Este estudio demuestra el desplazamiento de la Enfermedad de Carrión hacia la población principalmente rural y con mayor inaccesibilidad económica, cultural y geográfica. Estos factores incrementaran inevitablemente la mortalidad y letalidad, una justificación más para que el Ministerio de Salud garantice el tratamiento gratuito al 100% de los casos diagnosticados.

7.1.7. Conocimientos, actitudes y practicas de la población en áreas endémicas

El primer estudio sobre este tema fue realizado en 1978 en las provincias de Huaylas y Yungay, Ancash, por Susuki¹⁰⁴ a través de una encuesta a 1037 familias. Respecto al conocimiento de la enfermedad, el 77.8% de los encuestados (807/1037) refirieron conocer la enfermedad, principalmente por la observación del brote verrucoso y por síntomas tales como los dolores osteoarticulares acompañados de palidez y decaimiento general. Al preguntar sobre la forma de transmisión de la enfermedad el 22.6% respondieron que se transmite por la picadura de las "titiras", el 20.4% al beber o bañarse con agua contaminada y el 57% lo desconoce. Respecto a la prevalencia de la enfermedad, el 61.7% de los encuestados refiere que uno o mas familiares se enfermaron durante el año que se aplico la encuesta. Al evaluar las actitudes, el 37.8% manifestaron que acuden al establecimiento de salud para tratarse por el medico o sanitarios de la zona.

Gonzales¹⁰⁵ en 1993 realiza el segundo estudio CAP en las provincias de Huaraz y Carhuaz, sobre una muestra de 128 familias, el 49.2% declaro que conocia la verruga pero solo 28.5% conocia que era transmitida por mosquitos, el 50% reconoce la enfermedad porque presenta fiebre, 23.8% por que presenta verruga y anemia o palidez el 14.3%. El 66.7 refiere que si se enferma acudiria aun establecimiento de salud y solo el 1.6% acudiria a un curandero. El 57.8% refirio conocer las "titiras" y de estos el 69.4% refirio que se encuentran dentro de la vivienda y 1.6% en las pircas. El 50% refirio que se cura con antibioticos y un 2.6% con transfusion de sangre.

En 1999 alumnas de enfermería de la Universidad Nacional Santiago Antunez de Mayolo han aplicado una encuesta CAP cuyos resultados aun no están publicados.

7.1.8. Migración, circulación de la población y expansión de la Enfermedad de Carrión

Esta área no ha sido investigada, observaciones no cuantificadas realizadas en áreas endémicas del Callejón de los Conchucos, en el distrito de Llumpa, alrededor del 30% de familias viajan a la costa en los meses de enero a marzo en busca de trabajo, durante el periodo de vacaciones escolares de sus hijos, retornando ha su lugar de origen en el mes de abril. Durante la investigación de un brote de la Enfermedad de Carrión en Urubamba, Cusco, al investigar el lugar de origen del brote, se observo que muchos pobladores de Urubamba viajaban todos los años a la provincia de La Convención durante la época de cosecha del café, un área que según un estudio retrospectivo realizado en el Hospital de Quillabamba durante los años 1996 y 1997 sobre 251 historias clinicas cuyo diagnostico era hepatitis viral, 53 fueron casos compatibles con Enfermedad de Carrión. Es en base a este estudio que se postula que el brote de Enfermedad de Carrion en Urubamba y otras provincias del Cusco, probablemente se inicio en La Convencion.

Investigar esta área es de vital importancia para fortalecer la vigilancia epidemiológica y entomológica en las principales áreas de inmigracion de la población para disminuir el riesgo de transmisión hacia nuevas áreas.

7.1.9. Enfermedad de Carrión y su impacto económico sobre la población y el país

Recientemente la Oficina General de Epidemiología, a través de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, ha realizado un estudio sobre el impacto económico de la Enfermedad de Carrión, cuyos resultados serán conocidos en los próximos meses.

7.1.10. Descripción de la situación epidemiológica en Ecuador y Colombia

La Enfermedad de Carrión ha sido reportada en el Perú, Ecuador y Colombia^{2,13,14,16}. Se han reportado aislamientos de bacterias similares a las *Bartonellas* en EE.UU., Sudan, Nigeria y Tailandia⁴⁰, Bolivia, Chile y probablemente Guatemala¹⁰¹ pero no hay reporte de casos confirmados de Enfermedad de Carrión procedentes de estos países, por lo que el análisis epidemiológico se circunscribirá a estos tres países.

a) Distribución geográfica en Ecuador:

Al igual que en el Perú, probablemente los primeros casos de la Enfermedad de Carrión en el Ecuador se remonten hasta la época de las culturas precolombinas. La primera evidencia de esta hipótesis, es un huaco precolombino hallado en San Isidoro, provincia de Manabi, que muestra lesiones en la cara sugestiva de verruga peruana, que cubre incluso los ojos y la boca. La segunda evidencia es una mascara precolombina, encontrada en la misma región y que también representa un caso de verruga peruana¹.

Durante la época de la conquista la única evidencia escrita es la que narra Pedro Pizarro sobre la epidemia de verrugas que sufrieron los españoles en 1531 al llegar a Coaque, provincia de Manabi. Se produce un silencio epidemiológico de más de trescientos años, hasta que en 1928 Heinert reporto un caso de verruga peruana al que denominó verruga nostra, este caso procedía de Balao, Guayas, un pueblo localizado en la costa. En 1937 se reportan los primeros casos de bartonellosis en el Ecuador¹⁴⁵. Otros reportes no confirmados reaparecen en Ecuador en 1939 en las provincias de Guayas, Los Ríos y El Oro.

En 1940 se reporta un brote en Zumba, una localidad cercana a la frontera peruana, en este brote se logra identificar por primera vez en Ecuador *Bartonellas* en un frotis¹⁴. En este mismo periodo se presenta una epidemia de Fiebre de la Oroya en Zaruma, provincia de El Oro. Este mismo año en el Instituto Nacional de Salud de Perú Hertig¹⁰⁶ logra aislar *B. bacilliformis* de la sangre de una niña de 7 años procedente de la provincia El Oro.

Desde 1940 se han reportado casos esporádicos procedentes de las provincias de Manabi, Guayas, El Oro, Zamora Chinchipe, Azuay y Tungurahua.

Se han reportado brotes en la provincia de Zamora-Chinchipe, que limita con la provincia de San Ignacio, en la frontera norte del Perú, en los años 1970 (más de 200 casos)¹⁰⁷, 1979-80 (más de 200 casos), 1984 (13 casos), 1984-1995 (17 casos)¹⁴⁵ y 1995-96 (19 casos)¹⁰².

Si consideramos los registros históricos y los datos a partir de 1940, la bartonellosis tiene una amplia distribución en el Ecuador, reportándose al menos de cuatro provincias de la costa (Manabi, Guayas, Los Ríos y El Oro) y cuatro provincias andinas (Zamora-Chinchipe, Azuay, Loja y Tungurahua)¹.

Recientemente se han reportado casos atípicos de verruga peruana en el Ecuador posiblemente asociado con cepas menos virulentas y que están reemergiendo y diseminándose a áreas nuevas de transmisión¹⁰⁸.

Ecuador ha reportado brotes en los últimos 5 años en la provincia de Zamora-Chinchipe,^{109,145}. Ambas consideradas como áreas endémicas de transmisión de bartonellosis.

b) Distribución geográfica en Colombia:

Los primeros casos de la Enfermedad de Carrión en Colombia fueron reportados en 1936, año en que ocurrió un brote en el departamento de Nariño¹³, el pico máximo del brote se presentó entre 1938-40; afecto a 13 municipios ubicados entre 1300 y 1850 msnm, con una población en riesgo de enfermar de 150,000 habitantes, estimándose oficialmente 1,448 fallecidos¹¹¹, pero otros autores refieren que fueron cerca de 5,000 fallecidos entre 1936 y 1939¹¹⁰; desde entonces no se han reportado más casos procedentes de Nariño.

El segundo departamento de Colombia que reporto casos es Cauca, el primer caso en 1941 y el segundo en 1988; este último fue un paciente en fase anémica que 18 meses después presenta una lesión eruptiva sobre el brazo¹ no habiéndose reportado más casos. En resumen, la Enfermedad de Carrión actualmente no es un problema de salud pública en

Colombia, en los últimos sesenta años reportaron solo dos casos procedentes del departamento del Cauca.

7.1.11. Situación epidemiológica en el Perú

a) Distribución geográfica

La Enfermedad de Carrión es una enfermedad endémica en áreas andinas de Perú, Ecuador y Colombia^{1,2,16,36,38,39,83,110,111}. La distribución geográfica de la bartonelosis clásicamente se ha restringido a valles andinos del Perú entre 800 y 3000 msnm¹¹², sin embargo en la última década esta extendiéndose a nuevas áreas de transmisión y el número de casos se ha incrementando notablemente por lo que actualmente es considerada como una enfermedad re-emergente en el Perú.

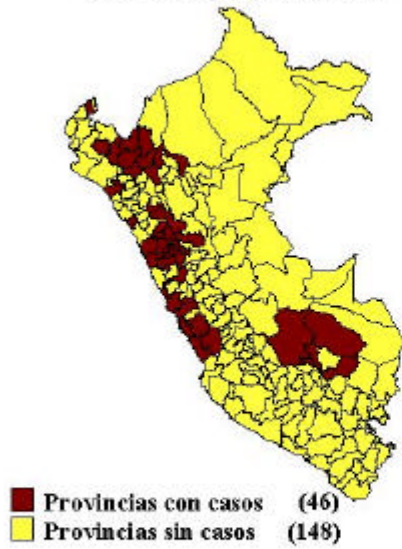
Se han reportado casos autóctonos de 12 de los 24 departamentos del país, estos son Piura, Cajamarca, Amazonas, La Libertad, Ancash, Lima, Huancavelica, Huánuco, Ica, Junín, Ayacucho y Cusco.

Durante 1998 se ha reportado el mayor número de brotes de Enfermedad de Carrión en diferentes partes del país, posiblemente como consecuencia del fenómeno del niño, que al incrementar las temperaturas mínimas y máximas en los valles occidentales e interandinos, favorece el ciclo biológico de las *Lutzomyia*. En 1998 se han reportado brotes en las provincias de La Convención⁶⁴, Urubamba, Calca, Cusco y Quispicanchis¹¹³ en el departamento de Cusco; Patáz en La Libertad, Huamalíes en Huánuco, Yauyos en Lima, Huaylas, Yungay, Carhuaz, Antonio Raymondi, Mariscal Luzurriaga, Pomabamba y Pallasca en Ancash⁶⁷. Dichos brotes se extendieron en muchas provincias hasta 1999, lo que evidencia que los efectos del fenómeno del niño sobre la Enfermedad de Carrión se producen durante al menos dos años consecutivos. Un fenómeno similar se observó en el departamento de Ancash durante el fenómeno del niño de 1992-93.

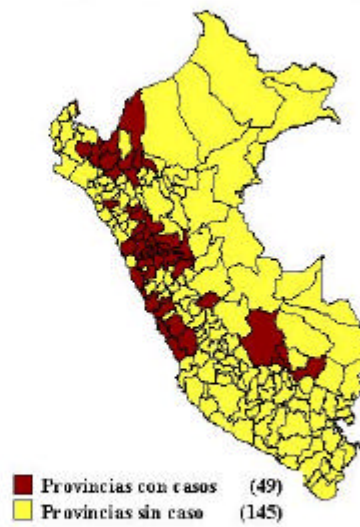
En los últimos 50 años el departamento de Ancash a reportado más del 80% de los casos notificados en el ámbito nacional⁶³. Son áreas endémicas los callejones de Huaylas y Conchucos, siendo las provincias de Huaylas y Carhuaz las más afectadas y en mayor riesgo, pero también se han descrito casos autóctonos de la provincia de Casma en la costa (Pachas, datos no publicados).

Se han reportado casos importados en extranjeros que visitaron nuestro país y pernoctaron en áreas endémicas, presentando la enfermedad al regresar a su país de origen, por lo que también debe ser considerada como una enfermedad de los viajeros¹¹⁴ y debe tenerse en cuenta al realizar el diagnóstico diferencial cuando estamos frente a un paciente con síndrome febril anémico agudo o lesiones angioproliferativas.

Casos de Enfermedad de Carrión por Provincias. Perú 1998



Casos de Enfermedad de Carrión por Provincias. Perú 1999



DddDhdhdhdhfhf
 Dddddd
 dddddf

Casos acumulados de Enfermedad de Carrión por Provincias. Perú 1998-200



DIKI

Nuevas áreas de transmisión

Los casos clásicamente han sido reportados de áreas endémicas ubicadas entre 800 a 3200 msnm, en la vertiente oriental de los andes y en los valles interandinos, sin embargo Rebagliati¹¹⁵ refiere la presencia de casos en la esquina de Asia ubicado a 200 msnm y de la localidad de Huasta a 3250 msnm.

Uno de los problemas de salud pública para nuestro país es el incremento alarmante del número de casos en las áreas endémicas en los últimos 5 años, pero sobre todo la expansión de la enfermedad hacia algunas áreas de la costa y selva alta, desconociéndose hasta la fecha los potenciales vectores incriminados en la transmisión en estas áreas, al no haberse realizado estudios entomológicos minuciosos.

Las nuevas áreas de transmisión están ubicados en la selva alta del Perú. Son el distrito de San José de Lourdes, provincia de San Ignacio, Cajamarca¹¹⁶ y de 6 (Santa Ana, Echarate, Maranura, Quellouno, Occobamba y Vilcabamba) de los 9 distritos de la provincia de La Convención en Cusco^{117,64,118}, Utcubamba y Rodríguez de Mendoza en Amazonas, Huamalies en Huánuco¹²⁸.

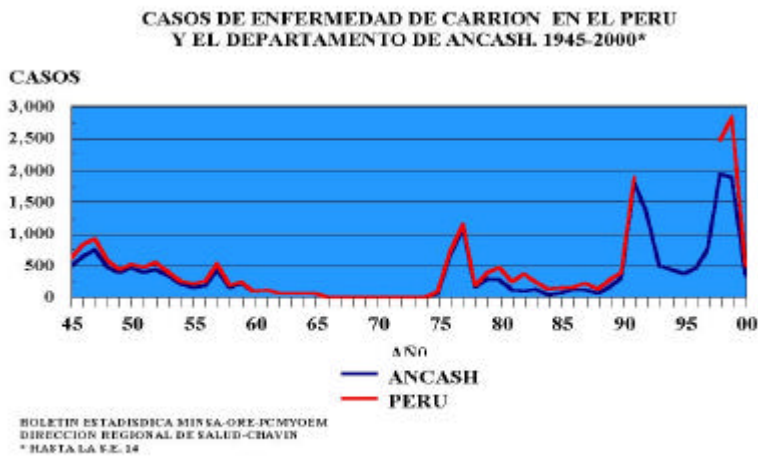
En la costa las áreas recientemente comprometidas son Pasamayo-Boza en el distrito de Huaral departamento de Lima, Grosio Prado en el departamento de Ica¹¹⁹ y la provincia de Casma en Ancash (Pachas, datos no publicados).

En Ecuador también se han reportado casos de cuatro provincias de la zona costa, Manabi, Guayas, Los Ríos y El Oro^{1,120}. Reportes recientes han notificado casos de Portoviejo (50 msnm) y Pajan (150 msnm), provincia de Manabi, confirmados por estudios clínicos, histopatológicos, microscopía electrónica y biología molecular¹²⁰. En estas áreas no se encuentra el vector clásico *L. verrucarum*, por lo que se sospecha que otras especies de *Lutzomyia* podrían también ser vectores eficaces en la transmisión.

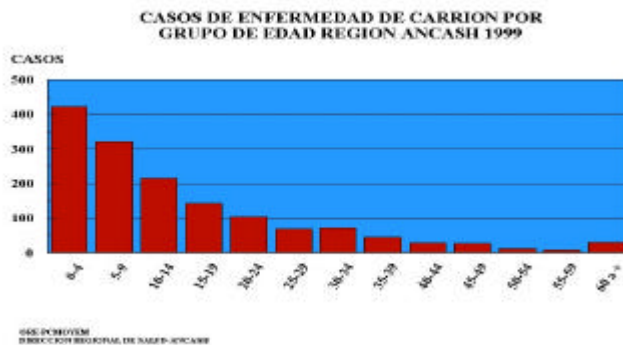
Provincias que reportaron nuevas áreas de transmisión en algunos de sus distritos. Perú 2000.



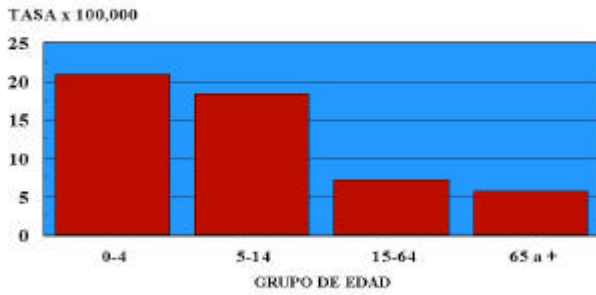
b) Distribución en el tiempo:



c) Distribucion en persona

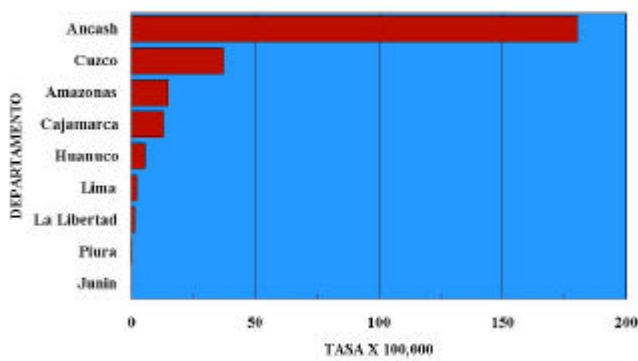


TASA DE INCIDENCIA DE LA ENFERMEDAD DE CARRION POR GRUPO DE EDAD. PERU 1999



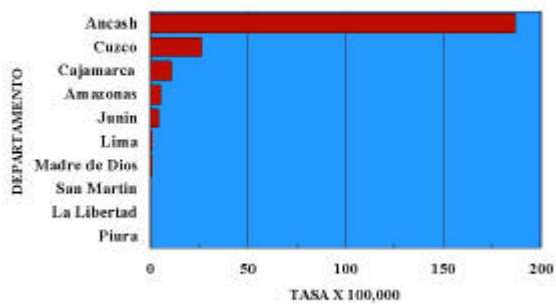
OFICINA GENERAL DE EPIDEMIOLOGIA

TASA DE INCIDENCIA DE LA ENFERMEDAD DE CARRION POR DEPARTAMENTOS. PERU 1999

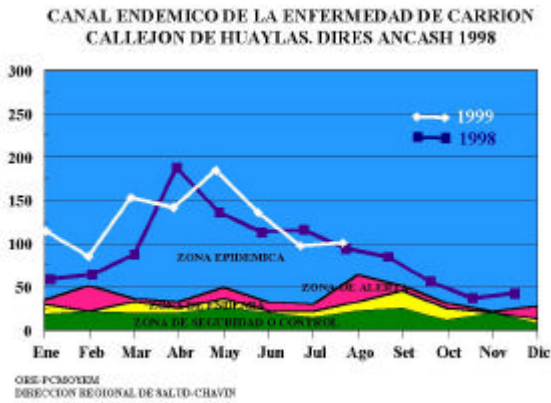
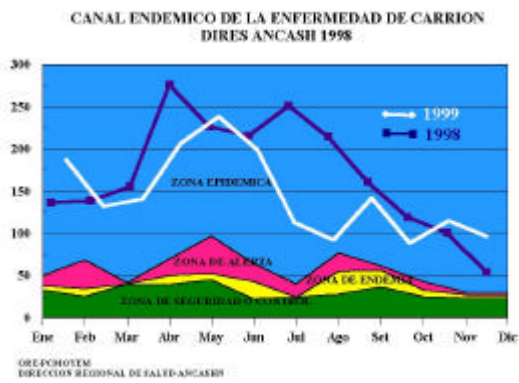


OFICINA GENERAL DE EPIDEMIOLOGIA

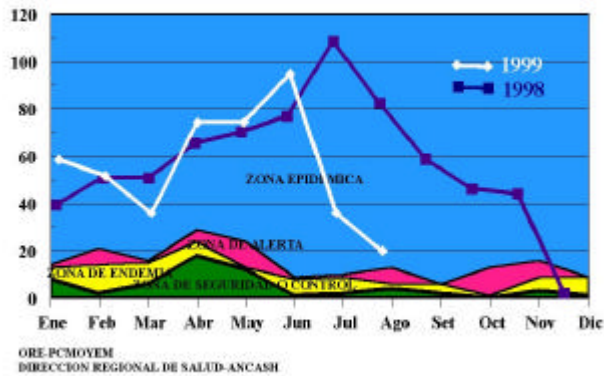
TASA DE INCIDENCIA DE LA ENFERMEDAD DE CARRION POR DEPARTAMENTOS. PERU 1998



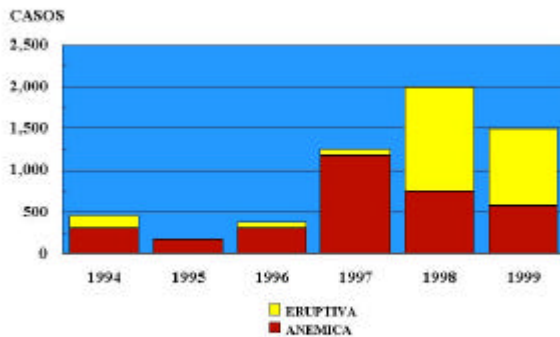
OFICINA GENERAL DE EPIDEMIOLOGIA



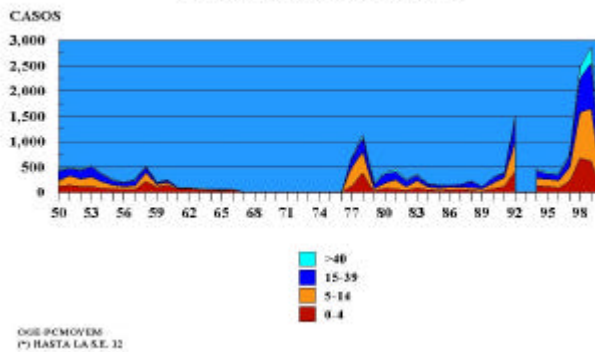
CANAL ENDEMIKO DE LA ENFERMEDAD DE CARRION
CALLEJON DE LOS CONCHUCOS, DIRES ANCASH 1998



CASOS DE ENFERMEDAD DE CARRION POR FORMAS
CLINICAS. ANCASH-PERU 1994-99(*)



CASOS DE ENFERMEDAD DE CARRION POR
GRUPO DE EDAD. PERU 1950-00*



e) Distribución altitudinal

7.2. EPIDEMIOLOGÍA DE LOS VECTORES

En el Perú se han descrito 115 especies de flebotominos¹²¹, pero la transmisión de *Bartonella bacilliformis* se incrimina clásicamente a la picadura del mosquito *Lutzomyia verrucarum* hembra¹²². Los mosquitos fueron implicados como vectores de la bartonelosis desde 1764¹²³. La historia entomológica de la Enfermedad de Carrión se inicia en 1899 cuando Arce publica un artículo en el que sugiere que ciertos mosquitos (*Culicidae*) frecuentes en las zonas endémicas serían los posibles vectores y que el uso de mosquiteros puede prevenir la enfermedad. En 1913 Townsend postula que *P. verrucarum* sería el vector al encontrar correlación entre el hábitat del mosquito y la epidemiología de la Enfermedad de Carrión. Sin embargo no fue demostrado hasta 1928 cuando Battistini reportó haber transmitido experimentalmente *B. bacilliformis* a monos *Macaca rhesus* al ser expuesto a picaduras o por inyección intradérmica de homogeneizados de *P. verrucarum*¹²², además, logra aislar *B. bacilliformis* en medio de Leptospiras a partir de un lote de *Phlebotomus* silvestres demostrando que eran portadores del organismo. Aunque Battistini afirma haber trabajado con *P. verrucarum*, no logra diferenciar correctamente *P. noguchii* de *P. verrucarum*, ya que las claves taxonómicas para diferenciar ambas especies fueron publicadas por Hertig en 1938. Nueve especímenes del mismo lote usado en sus experimentos fueron examinados posteriormente por Hertig, encontrando un ejemplar de *P. noguchii*.

Noguchi¹²⁴ reporta haber transmitido *B. bacilliformis* a monos *Macacus rhesus* al aplicar vía intradérmica o endovenosa triturados de *Phlebotomus* en solución salina.

Shannon¹²⁵ (Shannon 1929) también logra aislar *B. bacilliformis* de *P. verrucarum* capturados en el valle del río Rimac y describe en forma preliminar dos nuevas especies de *Phlebotomus* capturados en Matucana, a los que llama *P. noguchii* y *P. peruensis*.

Posteriormente en 1942, Hertig¹²² al exponer 8 monos *Macacus rhesus* a picaduras de *P. verrucarum* silvestres, logra aislar *B. bacilliformis* en la sangre de cinco de ellos. Ninguno presentó la fase eruptiva. (Hertig 1942) También realiza 581 cultivos de la proboscis de *P. verrucarum*, de los cuales 209 fueron contaminados, 327 negativos, 26 logra aislar un organismo no identificado al que le llama *x-prob* y logra aislar *B. bacilliformis* en 2 de ellos.

7.2.1. Hábitat de las *Lutzomyia*

El hábitat natural de las *Lutzomyia* está ubicado en áreas entre 500 a 3,200 m.s.n.m.¹²⁶

Las *Lutzomyia* necesitan alimentarse de azúcares, en un estudio realizado sobre *L. peruensis* capturadas en el valle Chaute, Huarochirí, Lima, los principales azúcares encontrados fueron glucosa y fructosa, y en pequeñas cantidades sucrosa, maltosa, melibiosa, turanosa y un trisacárido probablemente rafinosa¹²⁷.

7.2.2. Distribución de las *Lutzomyia* en áreas endémicas

En el departamento de Amazonas¹²⁸ las especies de *Lutzomyia* incriminadas como posibles vectores en la transmisión son *L. verrucarum* para las provincias de Luya y Chachapoyas ubicadas en áreas sub-xerofíticas con escasa vegetación y predominio de suelos desnudos y pedregosos con cultivos temporales; *L. robusta* y *L. maranonensis* para las provincias de Utcubamba y Rodríguez de Mendoza ubicados en ambientes tropicales con abundante lluvia, humedad y vegetación durante todo el año, predominando los cultivos de café cacao y bosques tropicales.

En el departamento de Cajamarca las especies incriminadas en la transmisión son *L. robusta* y *L. maranonensis* para las provincias de San Ignacio y Jaen^{128,129}, *L. verrucarum* y *L. pescei* en Cajabamba⁸⁶.

En el Departamento de Ancash⁶⁷ lo son *L. verrucarum* para las provincias de Huaylas, Yungay, Huaraz, Huari, M. Luzuriaga, Pomabamba y Sihuas, mientras que para la provincia de Carhuaz lo son *L. peruensis* y *L. verrucarum*. En un brote en 1987 Gray reportó la captura de *L. verrucarum* en la provincia de Pomabamba, donde recientemente se ha confirmado

además la presencia de *L. peruensis*. Cáceres¹³⁰ reportó cinco especies en la provincia de Recuay, *L. verrucarum* 53% (378/717), *L. caballeroi* 28.5% (204/717), *L. peruensis* 12.1% (87/717), *L. gorbitzi* 5% (36/717) y *L. noguchii* 1.6% (12/717); *L. verrucarum* fue la única capturada en el intradomicilio y la más abundante en el peridomicilio. Herrer¹³¹ reportó la presencia de *L. verrucarum* en Huaraz, Huallanca y Yuramarca; *L. peruensis* en Yungay y *L. noguchii* en Huallanca.

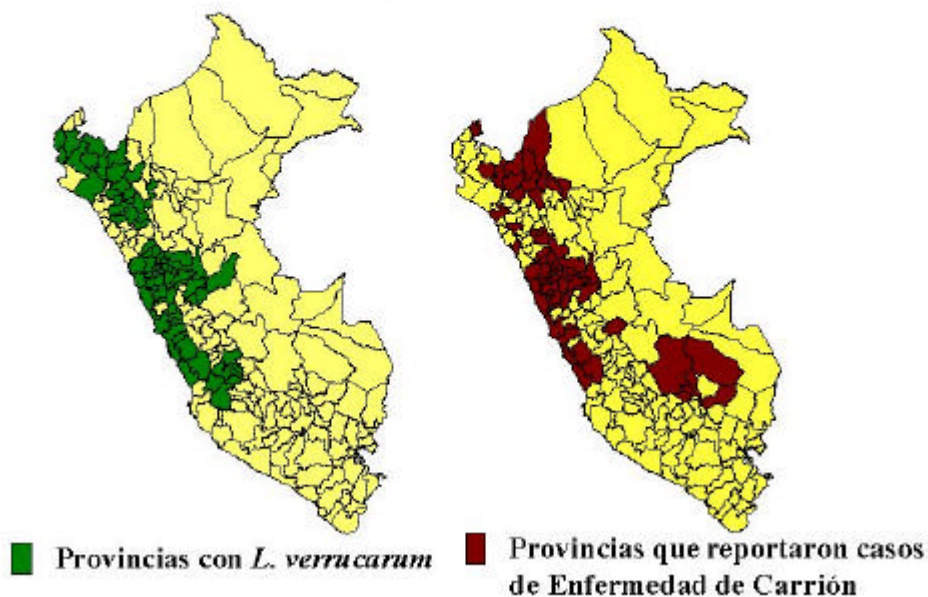
En el departamento del Cusco las especies capturadas en las provincias de Urubamba y Calca son *L. peruensis*¹¹² y en muy escasa cantidad *L. pescei*¹¹³; *L. nuñestovari* en Maranura provincia de La Convención¹¹⁹.

En la provincia de Castrovirreyna, departamento de Huancavelica se reporta un brote de bartonelosis en 1985, al realizar el estudio entomológico se capturaron 3114 flebotominos; las especies encontradas fueron *L. verrucarum* en 72.8% y *L. noguchii* 27.2%, no se encontró *L. peruensis*¹³². Todas las *Lutzomyia* capturadas en el intradomicilio fueron de la especie *L. verrucarum*; en el peridomicilio 97.6% fueron *L. verrucarum* y 2.4 % *L. noguchii*; en el área rural 34.1% fueron *L. verrucarum* y 65.9% *L. noguchii*.

En el valle de Huarmaca, provincia de Huancabamba, Piura durante un brote en 1981 Herrer reporta la presencia de *L. verrucarum* 79% (64/81), *L. peruensis* 5% (4/81), *L. noguchii* 1.2% (1/81) y una *Lutzomyia* sp. 13.6 (11/81). Las *Lutzomyia* fueron capturadas principalmente en las habitaciones (38/81)⁸⁷.

En el departamento de Lima se han realizado múltiples estudios principalmente en el valle del río Rimac. En la localidad de Chaute, provincia de Huarochirí, Lima una zona endémica de leishmaniasis, Pérez¹³³ realiza un estudio los años 1990-91 y reporta haber capturado 7931 *Lutzomyia* de los cuales el 81.06% fueron *L. verrucarum*, 18.9% *L. peruensis* y el 0.025% *L. noguchii*.

Distribución de casos de Enfermedad de Carrión y *L. Verrucarum* por provincias. Peru 2000.



7.2.3. Variación estacional de las *Lutzomyia*

Son escasos los estudios que han investigado la variación estacional de la población de *Lutzomyia*. Pérez¹³³ realizó un estudio entre abril 1990-mayo 1991 y encontró que *L. peruensis* fue la más antropofílica; el pico máximo de la población de *Lutzomyia* fue en el mes de abril; durante el periodo de lluvias (enero-marzo) decrece hasta casi desaparecer; la mayor actividad antropofílica fue registrada entre las 18 y 19 horas y hubo variación estacional de la predominancia de especies, en épocas lluviosas (enero-febrero) predomina *L. peruensis*, en resto del año predomina *L. verrucarum*. Según este estudio, al parecer la temperatura promedio no tiene relación con la densidad de *Lutzomyia*.

7.2.4. Lutzomyia como factor de riesgo

En un estudio caso control realizado durante un brote de bartonelosis en el valle de Urubamba, Cusco¹¹² se colectaron 312 *L. peruensis* de las viviendas de casos y controles, no se capturaron otras especies, el promedio de *Lutzomyia* capturadas por trampas de luz fueron similares en las viviendas de casos y controles en ambiente intra, peri y extradomiciliario. La presencia de potenciales criaderos de *Lutzomyia*, arbustos y áreas de reposo también fueron similares en las viviendas de casos y controles. El único factor de riesgo encontrado fue la referencia de haber sido picado por mosquitos.

7.2.5. Estudios de antropofilia utilizando test de ELISA

Un estudio realizado en Caraz por el proyecto verruga encuentra resultados similares al estudio de Pérez, respecto al tipo de sangre con el que se habían alimentado las *Lutzomyia*. La sangre con el que se alimentaron los mosquitos fue analizada por la técnica de ELISA para determinar el animal sobre el que se habían alimentado, identificándose al humano, rata, ratones, cuyes, pollos, perros, vaca, chanchos, gatos y caballos. De 520 mosquitos sometidos a esta técnica más del 65% fueron positivos a sangre de humanos. Aproximadamente 10% se habían alimentado sobre chanchos y caballos, otros fueron positivos a gato, pollos, vacas, perros y ratón. Ninguno fue positivo para ratas y cuyes¹³⁴.

Este estudio es importante porque descarta la posibilidad de que las ratas y cuyes puedan ser los potenciales reservorios, un paradigma que se había mantenido durante muchas décadas.

7.2.6. Estudios entomológicos realizados con la técnica de biología molecular

En nuestro país solo existen dos estudios entomológicos que utilizaron la biología molecular. El primer estudio cuyo objetivo era determinar si las *Lutzomyia* contenían especies de *Bartonellas*, fue realizado en Caraz utilizando la técnica de PCR, con primer para amplificar el gen de la citrato sintetasa. Se analizaron 790 *Lutzomyia* en 107 pools. Treinta pools fueron positivos a *Bartonellas sp* por PCR (28 pools de *L. verrucarum* y 2 de *L. noguchii*). El secuenciamiento genético de los productos amplificados por PCR revelaron una alta similitud a varias secuencias de *Bartonellas* publicadas. Dos pools de *Lutzomyia* tenían una concordancia mayor del 99% con *B. quintana*. Otra secuencia tenía alta similitud a *B. henselae* y otras 8 secuencias fueron similares a genotipos aun sin nombres, pero asociados a *Bartonellas sp* encontrados en roedores capturados en Perú y en el sur de los Estados Unidos¹³⁵. Por primera vez logran aislar e identificar *B. bacilliformis* de *Lutzomyia verrucarum* utilizando PCR¹³⁶.

El otro estudio ha sido realizado durante un brote en Cusco por Ellis y col¹¹². De 104 *L. peruensis* analizados por PCR, se confirmó la presencia de DNA de *Bartonella* en dos de ellas (2%). Al realizar el secuenciamiento genético del gen de la citrato sintetasa, una de ellas era idéntica a *B. bacilliformis* y la otra a una nueva *Bartonella* cuyo secuenciamiento fue similar en un 96% a *B. grahamii*. Ambas *Lutzomyia* fueron capturadas en viviendas de casos.

La tasa de infección *L. verrucarum* con *B. bacilliformis* encontrada en el estudio de Caraz confirma los hallazgos de Hertig¹²² quien reporto una tasa de infección de 0.4 a 3%, sin

embargo al conocer ahora que *L. verrucarum* puede estar infectada con otras especies de *Bartonellas*, no estamos seguros si en los estudios anteriores realizados por Battistini y Hertig, aislaron *B. bacilliformis* de *L. verrucarum* o fue alguna otra especie de *Bartonella*. *L. verrucarum* y *L. peruensis* también han sido incriminados como vectores en la transmisión de leishmaniasis demostrado por PCR¹³⁷.

7.2.7. Otros posibles vectores diferentes a *L. verrucarum*

Aunque no se ha demostrado que otras especies de *Lutzomyia* diferentes a *L. verrucarum* estén incriminadas en la transmisión de la Enfermedad de Carrión, existen fuertes evidencias que sugieren que otras especies pueden estar incriminadas. Esta hipótesis se basa en los siguientes hechos: 1) no siempre se encuentra *L. verrucarum* en zonas verrucogenas^{1,126,128,129,130}. Las otras especies antropofílicas que podrían estar incriminadas con la transmisión son *L. blancasi*, *L. caballeroi*, *L. gorbitzi*, *L. battistine*, *L. bicornuta*, *L. pescei*, *L. maranonensis* y *L. robusta*^{17,126}, *L. peruensis*¹¹², *L. gomezi*, *L. panamensis*, *L. shanoni*, *L. sallesi*, *L. gorbitzi*, *L. cayennensis*, *L. serrana* y *L. nevesi*¹⁴¹ en Ecuador y *L. columbiana* en Colombia¹. 2) Se ha logrado identificar DNA de *B. bacilliformis* en *L. peruensis* capturados en Urubamba, Cusco¹¹². 3) Noguchi¹³⁸ en 1926 logró transmitir *B. bacilliformis* de un mono *Macacus rhesus* infectado experimentalmente hacia otro sano, a través de la picadura y por inoculación de triturado de las vísceras de garrapatas *Dermacentor andersoni*. Aisló *B. bacilliformis* de sangre de los monos y de vísceras de las garrapatas. Aunque no se ha demostrado que las garrapatas transmitan especies de *Bartonella* a humanos, Schouls¹³⁹ recientemente ha reportado que el 70% de las garrapatas *Ixodes ricinus* capturados del ratón venado *Capreolus capreolus* son portadoras de especies de *Bartonella* no patógenas o de organismos relacionados a las *Bartonellas*, demostrado por PCR y secuenciamiento genético de fragmentos de DNA. Este hallazgo puede explicar que la transmisión de especies de *Bartonellas* entre roedores, es al menos en parte mediado por garrapatas. Existe un solo estudio que reporta tres pacientes con bacteremia por *B. henselae* que no tenían historia de contacto con gatos, pero sí de picaduras de garrapatas antes de la bacteremia¹⁴⁰. Un estudio caso control realizado en Ecuador reportó como único factor de riesgo asociado la presencia de garrapatas en la vivienda de los casos¹⁴⁵.

7.2.8. Posibles vectores en Ecuador

Las áreas donde se reportan casos de bartonelosis de Ecuador y Colombia difieren ecológicamente de las áreas endémicas del Perú. Los vectores de *B. bacilliformis* en Ecuador y Colombia aun no han sido identificados, ya que *Lutzomyia verrucarum* parece estar ausente en ambos países¹⁴¹. En Ecuador las *Lutzomyia* no han sido lo suficientemente estudiada pero probablemente existan más de las 60 especies. Pajan, Puerto Viejo y Jipijapa son áreas endémicas de bartonelosis ubicadas en la zona costa; en Pajan las especies predominantes son *L. gomezi*, *L. panamensis*, *L. shanoni* y en pequeño número *L. sallesi* y *L. serrana*; en Portoviejo solo *L. gorbitzi* y *L. cayennensis*, mientras que en Jipijapa no se ha encontrado ninguna especie. Ninguna de las especies anteriores ha sido incriminada con la transmisión de *B. bacilliformis*¹⁴¹. En Zumba ubicada en valle andino predominaba *L. serrana* y *L. nevesi*.

7.2.9. Posibles vectores en Colombia

En Colombia, el vector más probable es *L. columbiana* una especie muy relacionada con *L. verrucarum*, es altamente antropofílica y se encuentra en los tres departamentos que han reportado casos de bartonelosis. Capturas realizadas durante el brote ocurrido en el departamento de Nariño entre 1938-40, reportaron cinco especies, *L. columbiana*, *L. osoroi*, *L. evansi*, *L. trididanensis*. Esta última se alimenta principalmente de reptiles y muy raras veces de humanos¹. Una especie fue erróneamente identificada.

7.2.10. Vigilancia de la resistencia de las *Lutzomyia* a los insecticidas

Los primeros estudios en el Perú que evalúan la susceptibilidad de *Lutzomyia verrucarum* a los insecticidas fueron realizados en 1999 por Lucero et. al. en Ancash. El primer estudio se realizó junio de 1999 en el distrito de Llumpa, provincia de Mariscal Luzuriaga, ubicada en el Callejón de Conchucos¹⁴². Al exponer 15 *L. verrucarum* hembras alimentadas a Cyfluthrin, Deltamethrin y Alfacipermethrin al 0.1%, a dosis de 3.6 mg/cm², la mortalidad de *Lutzomyia* en la primera hora de exposición fue de 100%, mientras que en el tubo control la mortalidad fue de 0%. Este estudio demuestra que *L. verrucarum* es muy susceptible a estos insecticidas y puede ser utilizado para el control vectorial. El segundo estudio fue realizado en la localidad de Maya, provincia de Carhuaz, ubicada en el Callejón de Huaylas encontrando resultados similares¹⁴³. Estos resultados eran esperados ya que los piretroides no han sido utilizados en el control químico de *L. verrucarum*. Sin embargo los agricultores de la zona utilizan frecuentemente otros insecticidas piretroides para el control de plagas de sus cultivos, especialmente en el Callejón de Huaylas, por lo que es posible que pueda surgir resistencia cruzada. Es de importancia replicar este estudio en otras regiones del país, que han utilizado estos insecticidas para el control de *Anopheles* con la finalidad de detectar precozmente la aparición de cepas de *Lutzomyia* resistente a los piretroides.

7.3. EPIDEMIOLOGÍA DE LOS RESERVORIOS

Una de las áreas poco estudiadas, a pesar de los más de cien años de investigación son los potenciales reservorios de la Enfermedad de Carrión. A la fecha, el único reservorio demostrado es el hombre. Algunas evidencias como la presencia de personas aparentemente asintomáticas pero con frotis de sangre periférica o hemocultivos positivos para *Bartonella*, ha sido reportado en numerosos estudios, y ha sido el sustento para que algunos autores postulen como potenciales reservorios a estas personas⁶². Varios estudios realizados con animales hace varias décadas tuvieron como objetivo demostrar la presencia de posibles reservorios diferentes al hombre, pero no tuvieron éxito.

Desde que se demostró que *B. henselae* era el agente etiológico de la angiomasia bacilar y otros síndromes relacionados, en pacientes con diagnóstico de SIDA, se ha incrementado notablemente el interés por investigar *Bartonellas* en humanos y animales. Diferentes estudios realizados en Europa, Asia, América del Norte y Perú, han logrado aislar *Bartonellas spp.* en diferentes especies de mamíferos silvestres y domésticos, sin embargo, aunque no se ha logrado aislar *B. bacilliformis* de ningún animal, no se descarta la posibilidad de que exista un reservorio animal.

Aunque algunos investigadores han reportado casos de bartonelosis en personas que ingresaron a áreas inhabitadas⁸, el potencial reservorio animal, si es que existe, aun no ha sido identificado, y la hipótesis de que el único reservorio de *B. bacilliformis* es el hombre aun se mantiene vigente. Recientemente un investigador basado en el resultado de un estudio caso-control ha postulado que los roedores pueden ser el reservorio natural¹⁰⁹; esta hipótesis no tiene mayor sustento, ya que en otro estudio cuyo objetivo era identificar el tipo de animal sobre el que se había alimentado las *Lutzomyia* analizando la sangre que contenían en su intestino, reporto que las *Lutzomyia* se alimentan muy raramente de los roedores¹³⁴. Otro estudio reciente realizado en Caraz no ha encontrado *B. bacilliformis* en una muestra de más de 750 animales que incluye *Mus musculus*, *Phyllotis andinus*, *Oryzomys xantheolus*, *Akodon mollis*, cuyes y perros utilizando cultivos y PCR¹⁴⁴.

Múltiples investigadores han realizado estudios experimentales reportando haber infectado a pollos, perros, monos, etc. Infección con *B. bacilliformis* puede ser inducida experimentalmente en animales incluyendo ardillas, perros, conejos, pollos⁵² ratones, monos. Muchos sufren solo febrículas o desarrollan verrugas en el sitio de inoculación. El mono *Macacu rhesus* y los ratones blancos recién nacidos son muy susceptibles a la infección con *B. bacilliformis* (Tesis doctoral,)

Los habitantes de áreas endémicas de bartonelosis tienen la costumbre de criar animales domésticos como caballos, burros, perros, gatos, conejos, cabras, vacunos, etc. que son susceptibles a infección por *Bartonellas sp.* y desarrollan lesiones similares a las observadas en la piel de pacientes con verruga peruana¹²⁵, sin embargo nunca se ha logrado demostrar microbiológicamente la presencia de *B. bacilliformis* en verrugas de animales.

En Colombia Patiño reportó que los cuyes son muy susceptibles a la infección por *B. bacilliformis*, a diferencia de la cepa peruana que es refractario para infectar el cuy. Este hallazgo hizo postular a Patiño de que el cuy podría ser el reservorio de *Bartonella*¹¹⁰. En otro estudio Patiño¹¹¹ inocula cultivos de *Bartonella* a monos *Macacus rhesus* y a monos nativos (*Cebus fatuellus*) produciéndoles verrugas semejantes a los humanos. En cuyes normales o esplenectomizados produce en bajo porcentaje el fenómeno orquíptico de Moser, pero por inoculación intradérmica logra producir verrugas en la piel del cuy.

7.3.1. Estudios caso-control para determinar presencia de animales como factor de riesgo para enfermar

Un estudio retrospectivo caso-control de 1984 a 1995 realizado en la provincia de Zamorra-Chinchipec, Ecuador, encontró una asociación entre los casos de bartonelosis y la presencia de pollos enfermos o muertos. Este estudio presenta algunos errores en el diseño por lo que sus conclusiones pueden no ser válidas; casi todos los casos en humanos fueron clasificados solo por confirmación clínica¹⁴⁵, pudiendo haberse cometido sesgo de mala clasificación de los casos.

7.3.2. Estudios realizados en animales con la técnica de biología molecular

Un estudio realizado en el sur de los Estados Unidos¹⁴⁶ encontró una prevalencia de bacteremia por *Bartonellas* de 54.3% (149/279) en roedores de 11 especies diferentes, pero la prevalencia de anticuerpos antibartonella en estos mismos roedores fue de 1.5% (6/388), un resultado inusualmente bajo (Kosoy 1997), si se compara a los hallazgos de otros estudios realizados en gatos, donde la presencia de anticuerpos contra *B. henselae* varía de 15-80%. En este estudio las *Bartonellas* aisladas de los roedores fueron agrupadas en cuatro grupos filogenéticos distintos y se identificaron 14 variantes genotípicas por secuenciamiento genético del gen de la citrato sintetasa. Se encontró además, que en una área geográfica determinada, una misma especie de roedor era portadora de hasta tres grupos filogenéticos distintos, pero, los grupos filogenéticos también fueron aislados de diferentes especies de roedores, lo que demuestra la falta de especificidad de huésped para las *Bartonellas*.

Otro estudio realizado en el Reino Unido, reporta una prevalencia de bacteremia por *Bartonella* (antes *Grahamella*) en roedores de 62% (23/37)¹⁴⁷.

El primer estudio en el Perú utilizando la técnica de la biología molecular, fue realizado recientemente por Carney¹⁴⁸ en una localidad de Caraz sobre 750 animales para determinar la prevalencia de infección por *Bartonella sp.* a través de hemocultivos o PCR, logrando identificar infección por *Bartonellas* en roedores de las especies *Mus musculus*, *Phyllotis andium*, *Oryzomys zanthaeolus*, *Akodon mollis* y también en cuyes y perros domésticos. El análisis de la secuencia genética de una parte del total de muestras que tuvieron cultivo o PCR positivo, ha logrado identificar varias cepas de *Bartonellas* con gran similitud a las *Bartonellas* aisladas de roedores al sur de los Estados Unidos y en otras áreas del Perú. El análisis filogenético demuestra que múltiples cepas de *Bartonellas* están circulando en el departamento de Ancash. Aunque aun no se ha terminado de procesar el 100% de las muestras, no se ha aislado ninguna cepa de *Bartonella* patógena para el hombre en la sangre de los animales domésticos o silvestres estudiados. Están pendiente los resultados de hemocultivos y PCR realizados en ganado vacuno, ovino, caprino y equino.

Un segundo estudio ha sido realizado en la localidad de Huayllacayan, provincia de Bolognesi, Ancash¹⁴⁹. Se colectaron muestras de sangre para hemocultivo de animales domésticos y de roedores capturados en viviendas, donde al menos un miembro de la familia refería antecedente de haber presentado un cuadro de bartonelosis en los últimos tres años; de 50 animales ingresados al estudio (16 cuyes, 13 perros, 12 gatos, 4 *Rattus norvegicus*, 3 *Mus musculus* y 2 *Phyllotis peruviana*), se logró aislar cuatro cepas de *Bartonellas*. Dos nuevas cepas de *Bartonellas* aisladas de *Phyllotis peruviana* fueron similares a otra cepa aislada en un roedor de la misma especie, pero capturado en el valle del río Rimac. Este hallazgo nos indica que la infección por esta nueva especie de *Bartonella* es muy amplia y probablemente se encuentre infectando a roedores de la misma especie en otras áreas del país. Otra cepa aislada de *Rattus norvegicus* (rata del desagüe) en este estudio, fue similar a *B. elizabethae*, una *Bartonella* patógena para el hombre aislada en una sola oportunidad en un paciente con endocarditis bacteriana. Aunque se necesitan otros estudios para confirmar estos hallazgos, se ha demostrado por primera vez que *B. elizabethae* tiene un posible reservorio animal. Una cuarta cepa también aislada de *Rattus norvegicus* fue una cepa nueva aun no caracterizada, pero muy relacionada filogenéticamente a *B. elizabethae*; esto demostraría que una misma especie de mamífero (*R. norvegicus*) puede ser reservorio de especies distintas de *Bartonellas*. Este estudio tampoco logró aislar *B. bacilliformis* de ningún animal estudiado. Aunque el número de gatos muestreados en este estudio es pequeño, llama la atención el no haber aislado ninguna cepa de *B. henselae*, a diferencia de los estudios realizados en otros países. Otro estudio realizado en Francia¹⁵⁰ sobre 436 gatos domésticos reportó que el 5% tenía coinfección con *B. henselae* y *B. clarridgeiae*, demostrando también que una misma especie de animal puede ser reservorio de dos especies diferentes de *Bartonellas*.

VIII) DIAGNOSTICO POR LABORATORIO

Desde que se reconoció el género *Bartonella*, por más de 90 años la única especie conocida era *B. bacilliformis*. Los países industrializados no dieron importancia a *B. bacilliformis*, por ser el agente etiológico de una enfermedad regional limitada a algunas áreas andinas del Perú, Ecuador y Colombia^{1,2,41} y no representaba una amenaza para ellos. Con la aparición de la epidemia mundial del VIH/SIDA y de nuevos síndromes producidos por gérmenes oportunistas conocidos y otros nuevos agentes, junto con el desarrollo de nuevas herramientas de diagnóstico más sensibles y específicas para el aislamiento, detección e identificación de microorganismos por biología molecular, el descubrimiento de nuevas pruebas para diagnóstico serológico, han facilitado la investigación de las *Bartonellas*.

Con el avance de la biología molecular y el perfeccionamiento de los métodos ya conocidos, han permitido determinar con precisión las características fenotípicas y filogenéticas de los géneros *Rochalimaea* y *Grahamella* reclasificándolos hacia el género *Bartonella*^{19,22}, además, se ha logrado identificar nuevas especies *Bartonellas*, alguna de ellas patógenas para el hombre. Sin embargo, un problema aun no resuelto es la falta de estandarización de estas nuevas pruebas de diagnóstico¹⁵¹.

Las pruebas de laboratorio que deberán utilizarse para confirmar las infecciones por *Bartonellas* dependerán de la fase en que se encuentra la enfermedad, tipo de muestra colectada, disponibilidad de equipos e infraestructura, y la existencia de personal entrenado en los laboratorios locales, regionales o nacionales.

Los métodos de diagnóstico actualmente utilizados tienen muchas limitaciones. El frotis de sangre periférica es un método sencillo y de bajo costo pero tiene el inconveniente que es poco sensible¹¹² y depende principalmente de dos factores: una buena toma de muestra y de personal debidamente capacitado para la lectura del frotis. El diagnóstico por cultivo es más sensible que el frotis, pero se necesita mayor infraestructura y tecnología; requiere de la preparación de medios de cultivo muy enriquecidos, que fácilmente se contaminan (tasa de contaminación de 7-20%), ambientes especiales como cámara de flujo laminar para realizar

la siembra, una temperatura de incubación de 28 °C, periodos de incubación prolongados hasta por seis semanas y subcultivos sistemáticos de los cultivos primarios negativos para incrementar la sensibilidad. El diagnóstico histopatológico con tinción de hematoxilina-eosina o con tinción de plata de Warthin-Starry en la practica solo es posible realizarlo en biopsias de lesiones de la fase eruptiva, o en muestras de necropsias realizadas a pacientes que fallecieron en fase anémica; aunque la primera técnica es sencilla la segunda es compleja y necesita personal entrenado. El diagnóstico serológico por ELISA desarrollado por Knobloch necesita la preparación de un antígeno altamente purificado que requiere de tecnología complicada y es de alto costo. Una técnica de Western Blot recientemente desarrollada por Mallqui et al.¹⁶² es muy prometedora por ser de bajo costo y no requiere de equipos de alta tecnología; esta técnica es la que más se adecua para nuestro medio y debe ser difundida para ser aplicada en laboratorios regionales y locales de áreas endémicas.

El método de diagnóstico por laboratorio a utilizarse depende también de la fase en que se encuentra la enfermedad al momento de realizar el diagnóstico. Un resumen se presenta en la tabla N° 8.

Tabla N° 8. Método de diagnósticos según fases de la Enfermedad de Carrión

| Método | Fase aguda | Fase eruptiva | Asintomáticos |
|--------------------|------------|---------------|---------------|
| Frotis | + | + | + |
| Hemocultivo | + | + | + |
| Cultivo de biopsia | - | + | - |
| Histopatología | - | + | - |
| Serológico | + | + | + |
| PCR | + | + | + |

8.1. Diagnóstico por frotis de sangre periférica: Durante la fase aguda, este es el método más practico, aunque no el más sensible. La tinción puede realizarse con Wright o Giemsa. Recomendamos este último utilizando la técnica de coloración con la lamina invertida para evitar la precipitación del colorante sobre la lamina y evitar los falsos positivos (E. Pérez, comunicación personal). Al inicio de la fase aguda se puede observar las formas bacilares (forma tóxica de la bacteria), posteriormente las cocobacilares y hacia el final de la fase aguda las cocoides (formas benignas). El parasitismo es intracelular y pueden observarse una o múltiples bacterias dentro de los eritrocitos. El índice parasitario puede ir desde 1 hasta 100% de eritrocitos parasitados⁶² (fig xxx). Esta técnica tiene la ventaja de ser sencilla, de bajo costo y puede realizarse hasta en los Centros y Puestos de Salud más alejados, sin embargo, debemos tener presente que la sensibilidad, especificidad y valor predictivo positivo del frotis en fase aguda es de 36%, 96% y 44% respectivamente¹¹² (Ellis 1999). Es decir, un resultado de frotis positivo confirma el diagnóstico, pero un resultado negativo no lo descarta, por lo tanto el diagnóstico en la fase aguda es clínico y se debe iniciar el tratamiento inmediatamente, aun si el resultado del frotis fuera negativo. En la fase eruptiva la sensibilidad del frotis es todavía menor, siendo inferior al 10%. Por lo tanto en áreas endémicas de transmisión el diagnóstico de la fase eruptiva también es clínico y debe considerarse como caso a todo paciente que cumpla con la definición de caso. El tratamiento también debe iniciarse en el momento de hacer el diagnóstico, previa toma de muestra para frotis y hemocultivo.

8.2. Diagnóstico por aislamiento en cultivos

La única manera de poder identificar las diferentes especies de *Bartonellas* es aislando la cepa a partir de una muestra biológica y realizando su posterior secuenciamiento genético de los productos amplificados por PCR. Las muestras biológicas para aislar *B. bacilliformis* pueden ser sangre venosa, aspirado de medula ósea, biopsia de lesiones verrucosas o de órganos, liquido pericardico, liquido cefaloraquideo, etc.

La muestra usualmente utilizada para realizar los cultivos es sangre venosa, pero deberá obtenerse realizando una aepsia rigurosa de la zona de punción, debido a que la contaminación de los cultivos se produce generalmente en este momento, más que durante el procesamiento de las muestras en el laboratorio para la siembra en los medios de cultivo. Siguiendo la misma técnica de aepsia descrita anteriormente para la toma de biopsias, debe obtenerse 5 cc de sangre venosa directamente en un tubo vacutainer con citrato de sodio. No recomendamos el uso de jeringas por que hay mayor probabilidad de contaminación. Después de tomar la muestra, rotar el vacutainer suavemente para mezclar la sangre con el anticoagulante. Esta muestra deberá de mantenerse a una temperatura de 4 a 8 °C, de no ser posible puede mantenerse a temperatura ambiente. Teóricamente es posible aislar *Bartonellas* en estas muestras hasta un mes después haberlas tomado, pero debemos tener presente que a mayor tiempo entre la toma de muestra y el sembrado en los medios de cultivo, menor es la probabilidad de aislar las cepas, por lo que recomendamos que este tiempo no sea mayor de 1-2 semanas.

Noguchi¹⁵² realiza un estudio para determinar la viabilidad de *B. bacilliformis* en 15 muestras de sangre citratada tomadas de 8 monos. Las muestras fueron almacenadas a 4°C y logro aislar *B. bacilliformis* hasta 152 días después de haberlasa obtenido. Dos muestras fueron guardadas a temperatura ambiente (15-20°C) y 45 días después los cultivos fueron positivos, pero además observo multiplicación de las *B. bacilliformis*.

El aislamiento de *Bartonellas* no requiere de medios especiales, equipos altamente sofisticados y no es técnicamente difícil, pero el crecimiento es lento y se necesita un tiempo de 2 a 6 semanas para el aislamiento primario. Las cepas aisladas deben ser identificadas por pruebas moleculares¹⁵¹.

8.2.1 Cultivos en Agar:

B. bacilliformis puede ser cultivado en Agar Columbia enriquecido con 5% de sangre de carnero o conejo e incubado a 28°C^{40,41}. Debido a que su crecimiento es muy lento, los cultivos deben ser mantenidos hasta por 8 semanas para ser considerado como negativo. Se puede incrementar la sensibilidad realizando subcultivo ciego a partir de los cultivos primarios negativos.

El uso de medios enriquecidos con sangre, así como la necesidad de mantener los medios de cultivo por periodos de incubación largos, incrementa la posibilidad de contaminación especialmente por hongos⁵². El uso de la lisis centrifugación de los eritrocitos incrementa la sensibilidad de los aislamientos de *Bartonellas sp.* de la sangre.

Los primeros subcultivos a partir de un aislamiento primario es difícil de obtener, pero los siguientes subcultivos crecen con mayor facilidad; el crecimiento de las colonias de los subcultivos demora menos tiempo que el cultivo primario. Los subcultivos repetidos reducen este tiempo hasta tres a cinco días, pero la morfología de las colonias se afecta insignificanamente⁵².

Los cultivos permiten aislar e identificar las *Bartonellas sp.* por las características morfológicas de las colonias hasta el nivel de género, pero no de especie. La identificación de especie y las cepas dentro de cada especie solo es posible realizarlo a través de PCR y el posterior secuenciamiento genético de los fragmentos de DNA amplificados o a través del perfil de ácidos grasos de la pared celular por cromatografía de gas líquida.

Para el aislamiento de *B. henselae*, *B. quintana* u otras especies de *Bartonellas* se utiliza el mismo medio pero debe de incubarse a mayor temperatura y en una atmósfera con 5% de CO₂. Para otras *Bartonellas* diferente a *B. bacilliformis*, el cultivo es considerado poco sensible, si lo comparamos con la técnica de PCR para casos de endocarditis bacteriana por *B. henselae* o *B. quintana* (44%vs 81%), muestras de biopsia de piel de pacientes con angiomatosis bacilar (43% vs 100%), y ganglios linfáticos de enfermedad del arañazo del

gato (13% vs 30%). Los subcultivos de caldo de cultivo incrementa notablemente la sensibilidad comparado con el sembrado directo en placas de agar, especialmente para aislar *B. quintana* (98% vs 10%). En ningún paciente con endocarditis y tratamiento previo con antibióticos se logra aislar cepas de *Bartonellas*¹⁵³.

Un estudio refiere que las características de las colonias podría ayudar a identificar las diferentes especies de *Bartonellas*. Por ejemplo, *B. elizabethae* y *B. vinsonii* crecen rápidamente y forman grandes colonias; *B. henselae* y *B. quintana* crecen más lentamente y forman pequeñas colonias induradas no adherentes al medio, pero son indistinguibles entre ellas; *B. bacilliformis* es la única que crece mejor a 30°C¹⁵⁴.

8.2.2 Cultivos celulares

Los sistemas de cultivo celulares son más sensibles que los cultivos en agar sangre y permiten el crecimiento más rápido de las *Bartonellas*⁵². Las *Bartonellas* que fueron aisladas en cultivos celulares difícilmente pueden subcultivarse en agar sangre. Son pocos los casos en el que se logra aislar *B. henselae* o *B. quintana* solo en agar sangre. Una combinación de cultivos en agar y en líneas celulares es más útil para optimizar el aislamiento de las *Bartonellas spp*¹⁶⁴.

El uso frecuente de cultivos celulares y largos periodos de incubación de los hemocultivos pueden explicar parcialmente el incremento de aislamientos de *Bartonellas sp.*¹⁵⁵. Varios estudios han demostrado diferencias en el aislamiento de *B. quintana* cuando se comparo cultivos celulares con sembrado directo sobre agar sólido¹⁶⁴.

Bartonella bacilliformis también puede ser aislada in vitro utilizando varios tipos de células eucarióticas, incluyendo fibroblastos dérmicos humanos, células Hep-2, células HeLa y células endoteliales de vena umbilical humano^{47,156}. En nuestro país aun no se realiza cultivo celulares para aislamiento de *B. bacilliformis* a partir de muestras clínicas, y se desconoce la sensibilidad de este método, sin embargo teóricamente es más sensible que los cultivos en agar.

8.2.3. Identificación de las cepas aisladas

La identificación de las *Bartonellas* hasta el nivel de especie es muy difícil. Las cepas aisladas en cultivo producen colonias con algunas características morfológicas que nos ayudan a identificar el género *Bartonella*, pero no la especie. El uso de la biología molecular incluyendo hibridación DNA-DNA, PCR con posterior secuenciamiento genético de los fragmentos amplificados, PCR con análisis de restricción del polimorfismo largo y el análisis de los ácidos grasos de la pared celular por cromatografía de gas-líquido, son los principales métodos utilizados para identificar *Bartonellas* hasta el nivel de especie e incluso para diferenciar cepas dentro de una misma especie¹⁵¹.

Lamentablemente estas técnicas involucran procedimientos largos, tediosos y necesitan ambientes y equipos especiales. En el Perú no se realizan rutinariamente y solo están disponibles en los laboratorios de investigación del Instituto Nacional de Salud, Instituto de Medicina Tropical "Alexander Von Humbolt" y NAMRID-Lima.

Reacción en cadena de polimerasa (PCR)

La reacción en cadena de la polimerasa es el prototipo de los métodos utilizados para amplificar los ácidos nucleicos. Esta técnica ha evolucionado desde una prueba laboriosa y relativamente insensible hasta un procedimiento altamente flexible y extremadamente sensible y específica. El descubrimiento de la DNA polimerasa termotolerante y el desarrollo de termocicladores automáticos de PCR, ha facilitado la introducción de esta técnica como método de diagnóstico de rutina en los laboratorios de países industrializados, y la ha llevado a un incremento exponencial de sus aplicaciones en los últimos años. El DNA de cualquier insecto o animal que vivió hace millones de años atrás o de tejidos de momias puede ser amplificado millones de veces en unas pocas horas. La PCR ofrece un medio rápido y

específico para detectar e identificar fragmentos de DNA de *Bartonellas spp.* directamente a partir de muestras clínicas, biopsias o de cepas aisladas en cultivos. Teóricamente PCR es más sensible que los cultivos cuando las muestras clínicas son adecuadas¹⁵¹. Sin embargo, el principal problema es que su disponibilidad está limitada solo para algunos laboratorios de investigación que tienen los equipos y expertos necesarios.

PCR es una herramienta de diagnóstico ampliamente utilizada para la detección e identificación de organismos, sobre todo de aquellos que son difíciles de cultivar. Hasta antes de usarse esta técnica, no era posible detectar e identificar directamente *Bartonellas* en forma rápida y específica a partir de muestras clínicas de pacientes, ya que debido a su crecimiento lento, la identificación de las cepas aisladas en los cultivos puede demorar hasta ocho semanas o más si los cultivos primarios son negativos y se realiza subcultivos. Esta técnica también permite detectar e identificar *B. bacilliformis* en los cultivos contaminados por otras bacterias o de cualquier muestra biológica, incluso muestras de tejido.

El principal problema en la investigación de vectores, ha sido la dificultad de aislar *B. bacilliformis* a partir de las *Lutzomyia* debido a la fácil contaminación de los medios de cultivo cuando eran sembrados con triturados de estos vectores. Este problema ha sido resuelto por la técnica de la PCR. Actualmente puede investigarse la presencia de *Bartonellas sp.* en *Lutzomyia* individualmente o en pools, o investigar otros potenciales vectores incriminados en la transmisión.

Las muestras para aplicar esta técnica pueden ser sangre venosa, biopsia de lesiones verrucosas o de órganos preservadas en formol al 10% con buffer⁴⁰, cepas aisladas en cultivos a partir de muestras biológicas o vectores preservados en alcohol de 80°.

La PCR es basado sobre el fragmento de DNA de la cepa B13 de *B. bacilliformis*⁴³. La estructura del fragmento de DNA del genoma EcoR1 contiene las secuencias 76-307 de la secuencia específica de *Bartonella* usado en la PCR. Este fragmento también codifica la proteína Bb65. El secuenciamiento genético de los fragmentos de PCR amplificados permite identificar las diferentes especies de *Bartonellas*.

La PCR también ha sido utilizada por diferentes investigadores para amplificar los genes que codifican el 16SrRNA, 23SrRNA, la región entre el gen 16SrRNA-23SrRNA, 16SrRNA-23SrRNA más una porción del gen 23SrRNA¹⁵⁷, el gen de la citrato sintetasa^{158,159}.

Amano¹²⁰, basado en estudios clínicos, inmunológicos y de biología molecular (PCR y secuenciamiento genético de los fragmentos amplificados), postula que existirían cepas menos virulentas en la provincia de Manabí, Ecuador, por el incremento de casos atípicos en la cual la fase eruptiva es la única manifestación clínica.

8.3. Diagnóstico serológico

Los primeros estudios sobre la inmunidad humoral hacia *B. bacilliformis* fueron realizados a través de la prueba de fijación del complemento por Noguchi en 1928 y por el test de aglutinación por Howe¹⁶⁰ en 1942, test de hemaglutinación por Colichón-Cantella en 1972. En los últimos años se han desarrollado otras pruebas serológicas como el test de anticuerpos fluorescentes, hemaglutinación indirecta, ELISA¹⁶¹ y Western blot^{42,162}.

Muchos individuos desarrollan aglutininas a *B. bacilliformis* durante la fase aguda de la enfermedad alcanzando el pico antes de la fase de erupción después del cual disminuye y usualmente desaparece. Ellos no parecen jugar un rol importante en la inmunidad. Un test para la detección de anticuerpos contra *B. bacilliformis* por fijación del complemento fue reportado como específica¹⁶³.

El test de anticuerpos fluorescentes para IgG e IgM, ELISA, hemaglutinación indirecta han sido utilizados para estudios epidemiológicos en áreas endémicas, sin embargo su sensibilidad y especificidad no han sido determinadas y no están en la actualidad comercialmente disponibles⁴¹.

La detección de anticuerpos contra *Bartonellas* tiene las ventajas de que evita los problemas asociados con otros métodos como los largos periodos de incubación para los cultivos, obtención de muestras difíciles de obtener (biopsia de tejidos u órganos), o la

implementación con equipos altamente especializados y ambientes especiales para realizar cultivos y pruebas por biología molecular. La desventaja es que la respuesta de anticuerpos es inespecífica en los humanos, hay reacción cruzada entre las diferentes especies de *Bartonella* y entre *B. bacilliformis* y *Chlamydia psittaci*⁴², entre *B. quintana* y *Chlamydia neumoniae*, *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydia psittaci*¹⁶⁴ y *Coxiella burnetii*^{28,165}.

Estudios de seroprevalencia

Un estudio reportó que el 63% de 187 sueros de personas residentes en una área endémica de bartonelosis en Cajamarca fueron reactivos al utilizar ELISA, FAT e IHA¹⁶¹. ELISA fue el más sensible (54.8%), seguido por el FAT (33.7%) y IHA (27.8%). La fracción IgM estuvo presente no solo en pacientes en fase anémica sino también en pacientes en fase intercalar, en un paciente en fase eruptiva y aun en pacientes que habían tenido la fase anémica meses o aun hasta dos años antes de realizar la prueba. No se ha estudiado la persistencia de estos anticuerpos, pero posiblemente se deba a que tienen anticuerpos persistentes o a una continua reinfección. No encontró reacción cruzada con sueros que contenían anticuerpos contra otras bacterias (Knobloch 1985), sin embargo, en otros estudios se ha encontrado reacción cruzada con anticuerpos contra *Chlamydia psittaci* cuando utilizó el test de ELISA con antígenos crudos de *B. bacilliformis*⁴² (Knobloch 1988). También se ha demostrado reacción cruzada entre *B. quintana* y *Chlamydia sp*¹⁶⁶ (Maurin 1997) y entre *Bartonella henselae* y *Bartonella quintana* con *Chlamydia sp*¹⁶⁴ (Drancourt 1995), entre *B. quintana* y *Bartonella henselae* con *Coxiella burnetii*¹⁶⁷ (La Scola 1996). El test de western blot confirma la existencia de reacción cruzada^{166,167} (Maurin 1997, La scola 1996).

8.3.1. Western blot

El primer estudio utilizando el test de western blot fue realizado por Knobloch⁴², reportando alta sensibilidad y especificidad, sin embargo la obtención del antígeno por cromatografía líquida de alto performance hace que esta técnica sea muy cara y compleja, lejos del alcance de los laboratorios locales.

En otro estudio, utilizando la técnica de western blot¹⁶², los antígenos fueron obtenidos por sonicación o extraído con glicina. Para ambas técnicas, las bandas de diagnóstico fueron observadas en 94% (30/34) de los sueros de casos confirmados de Enfermedad de Carrión en fase eruptiva. Para la fase anémica las bandas de diagnósticos fueron observadas en 70% (7/10) cuando se usó la técnica de sonicación, y en 30% (3/10) cuando se usó la técnica de extracción con glicina. La especificidad para ambas técnicas fue de 100%. Se observaron reacciones cruzadas en 34% (17/50) de sueros de pacientes con *Brucella sp.*, 5% (1/20) con *C. psittaci* y 7% (1/14) con *C. burnetii*, siendo mayor las reacciones cruzadas con la técnica de extracción del antígeno con glicina. No se observó reacción cruzada con *B. henselae*.

8.3.2. Test de anticuerpos fluorescentes indirecto

Proyecto Verruga ha realizado un estudio en Caraz desarrollando utilizando el test de anticuerpos fluorescentes indirecto para la detección de anticuerpos contra *B. bacilliformis*. Fueron probados los sueros de 43 pacientes confirmados con frotis o por cultivo, 101 controles y 356 voluntarios de una área endémica de Enfermedad de Carrión. Usando un punto de corte de 256 o más, 32 (74%) de los pacientes con Enfermedad de Carrión y 38% de los 356 voluntarios fueron seropositivos para *B. bacilliformis*. 93 (92%) de los controles sanos fueron seronegativos. Uno de dos pacientes con enfermedad del arañazo del gato y uno de dos pacientes con sífilis tenían títulos mayores de 256. El IFA es 74% sensible y 92% específico en detectar anticuerpos para *B. bacilliformis*, comparado con el cultivo como gold estándar para la infección. Puesto que muchas muestras fueron tomadas durante la fase aguda la sensibilidad puede incrementarse con una segunda muestra en la fase de convalecencia. La seroprevalencia utilizando el IFA fue de 38%¹⁶⁸.

8.4. Diagnóstico anatomopatológico: Esta técnica de diagnóstico es útil para pacientes con Enfermedad de Carrión en fase eruptiva en cualquiera de sus formas, miliar, mular o nodular y en algunos pacientes en fase anémica complicada. La biopsia de la verruga debe tomarse en forma aséptica con un sacabocado, previa anestesia local con xilocaína al 2%. Se recomienda realizar la afección de la siguiente manera: limpiar la zona de la lesión y unos 3 cm de piel sana a su alrededor, primero con alcohol de 96°, luego con tintura de yodo y finalmente limpiar la tintura con alcohol puro, dejar secar y colocar un campo fenestrado. Después de tomar la biopsia deberá aplicarse un antibacteriano tópico y cubrir con una gasa estéril a presión. Las lesiones biopsiadas tienen tendencia a sangrar fácilmente y a sobreinfectarse por lo que debe ser realizado exclusivamente por personal entrenado. La mitad de la biopsia deberá colocarse en un frasco pequeño con 3-5 cc de suero fisiológico, la cual servirá para realizar el cultivo. La otra mitad debe guardarse en formol al 10%, para realizar el diagnóstico anatomopatológico y/o para realizar PCR si fuera posible.

En pacientes en fase aguda complicada también es posible realizar biopsia de algunos órganos, como la biopsia hepática o aspirado de medula ósea cuando hay complicaciones de estos órganos.

La técnica de tinción de los cortes histológicos depende del objetivo del estudio. Si queremos observar *Bartonellas*, la coloración debe realizarse con la tinción de plata de Warthin-Starry (fig xx). Si el objetivo es observar las lesiones angioproliferativas y el infiltrado celular característico de las verrugas, es suficiente una tinción de hematoxilina-eosina. Por último, si deseamos estudiar los tipos de poblaciones celulares de la que esta compuesta la verruga, deberá realizarse tinciones inmunohistoquímicas.

Tener presente que el diagnóstico histopatológico con la tinción de Warthin-Starry solo confirma la presencia de bacterias e identificarlas hasta nivel de genero pero no de especie.

8.5. Obtención de la muestra.

8.5.1. Toma de frotices: Los frotices serán tomados de la cara lateral interna del dedo medio de la mano menos usada, en niños muy pequeños puede tomarse del talón del pie. Se colocaran dos gotas de sangre. Con una de ellas se realizara la gota gruesa y con la otra el extendido, similar a la toma de muestra de gota gruesa para diagnóstico de malaria. Se dejara secar a temperatura ambiente, rotulara en uno de los extremos y fijar solo el frotis en alcohol metílico absoluto por 3 minutos. Esta actividad será realizada por todos los establecimientos de salud del MINSA y las otras instituciones que prestan servicios de salud. Los frotices serán coloreadas con la técnica standard de coloración con Giemsa, pero con la modificación de invertir la lamina al momento de colorearla para evitar la precipitación del colorante sobre la lamina y disminuir los falsos positivos. En la lectura se determinará la forma de la bacteria (cocoide o bacilar) y el índice de parasitemia en los laboratorios locales. Todas los frotices positivos mas el 10% de los negativos deberán ser enviadas mensualmente al LRR para el control de calidad.

8.5.2. Toma de muestra de sangre para cultivo: las muestras venosas serán tomadas previa desinfección minuciosa de la zona de venopunción realizando círculos concéntricos con alcohol de 96°, luego con tintura de yodo, y finalmente otra vez con alcohol de 96°. Previa desinfección del tapón con alcohol yodado, se tomará una muestra de sangre de 5 cc en un tubo vacutainer con citrato (tapón celeste) de preferencia o con EDTA a todos los pacientes que cumplan con las definiciones de caso propuesta por el PCMYOEM. Las muestras deberán de ser rotuladas adecuadamente, mantenidas entre 4-8°C y ser enviada adjuntando la ficha de laboratorio al Laboratorio de Referencia Regional o al Instituto Nacional

de Salud. Esta actividad será realizada por todos los establecimientos de salud del MINSA y las otras instituciones que prestan servicios de salud. Esta muestra de sangre será sembrada en un medio bifásico de caldo triptosa con agar Columbia enriquecido con 5% de sangre de carnero o conejo. La siembra deberá realizarse obligatoriamente cerca a un mechero o en una cámara de flujo laminar. Se considerará el cultivo como negativo si después de 6 semanas de incubación a 28 °C no se observan colonias en el medio. Todos los hemocultivos negativos serán subcultivados para incrementar la probabilidad de aislar *B. bacilliformis*. Todos los cultivos serán realizados en los laboratorios locales que tengan capacidad para realizar los hemocultivos, en los Laboratorios Referenciales Regionales de las DISAs o en el Instituto Nacional de Salud.

8.5.3. Obtención de sueros: Previa asepsia de la zona de venopunción descrita anteriormente, debe tomarse una muestra de 5 cc de sangre venosa en un tubo vacutainer sin anticoagulante (tapón rojo); esta muestra deberá ser mantenida obligatoriamente entre 4-8°C para evitar la destrucción de los anticuerpos. Deberá evitarse la hemólisis tratando de movilizar la muestra lo menos posible. Centrifugar el vacutainer a 3,000 RPM por 5 minutos para separar el suero de los glóbulos rojos. Separar el suero sobrenadante en crioviales y mantenerlo de preferencia congelado hasta el momento de procesarlo. Enviar al LRR o al INS en cadena de frío.

8.5.4. Obtención de especímenes por biopsia: En pacientes con Enfermedad de Carrión en fase eruptiva la biopsia de la verruga o del nódulo subcutáneo deberá obtenerse en forma aséptica con un sacabocado utilizando como anestésico local xilocaína al 2%. Realizar la asepsia de la lesión y unos 3 cm de piel sana a su alrededor con alcohol de 96°, luego con tintura de yodo, finalmente limpiar la tintura con alcohol y colocar un campo fenestrado para evitar la contaminación. Aplicar un antibacteriano tópico y cubrir con una gasa estéril a presión la zona de donde se obtuvo la biopsia. Las verrugas biopsiadas sangran fácilmente y pueden sobreinfectarse, por lo que deberá ser realizado exclusivamente por personal entrenado.

La mitad de la biopsia se colocará en un frasco pequeño rotulado y con 3-5 cc de suero fisiológico, esta muestra servirá para realizar el cultivo. La otra mitad debe preservarse en en formol al 10% de preferencia o alcohol de 80° para realizar el diagnóstico anatomopatológico y/o PCR si fuera posible. Se realizará este mismo procedimiento para las biopsias de órganos. Enviar las muestras al LRR o al INS.

- **Características de los resultados laboratoriales en la enfermedad.** Hemograma. Bioquímica, etc. Comparación entre las pruebas diagnósticas según sensibilidad y especificidad.

- **Fluxograma para el procesamiento de las muestras**

IX) DIAGNOSTICO DIFERENCIAL

9.1. Fase anémica:

En la fase inicial debe realizarse el diagnóstico diferencial con:

| | |
|------------------------------|-----------------|
| Fiebre tifoidea | Malaria |
| Brucelosis | Hepatitis viral |
| Tuberculosis | Leptospirosis |
| Meningitis | Leucemias |
| Anemia hemolítica autoinmune | Anemia aplásica |
| Tifus murino | |

9.2. Fase eruptiva

| | |
|----------------------|----------------------|
| Hemangioma | Sarcoma de Kaposi |
| Granuloma piógeno | Fibrosarcoma |
| Angiomatosis bacilar | Lepra |
| Linfoma maligno | Reticuloendoteliosis |
| Lipomas | Glangliones |

X) PROCEDIMIENTOS PARA LA VIGILANCIA EPIDEMIOLOGICA

10.1. VIGILANCIA EPIDEMIOLOGICA

Las definiciones de casos de la Enfermedad de Carrión para la Vigilancia Epidemiológica en el Perú, han sido propuestas por el Programa de Control de Malaria y Otras Enfermedades Metaxénicas (PCMYOEM) y la Oficina General de Epidemiología del Ministerio de Salud. Estas definiciones de casos fueron planteadas en 1997 en una reunión con expertos nacionales en bartonelosis, las Direcciones Generales del MINSA, Universidades e Instituto Nacional de Salud y oficializadas con el documento Doctrinas, Normas y Procedimientos Para el Control de la Bartonelosis o Enfermedad de Carrión en el Perú, a partir de 1998. Sin embargo aun no se ha validado la sensibilidad, especificidad y valor predictivo positivo de cada una de las definiciones de caso propuestas. Estas definiciones son las siguientes¹⁶⁹:

10.1.1. DEFINICION DE CASOS PROBABLES

a) Caso probable de bartonelosis aguda o anémica

Toda persona con fiebre, anemia severa e ictericia residente o procedente de zonas endémicas de transmisión de bartonelosis.

b) Caso probable de bartonelosis crónica o verrucosa

Epidemiología de la Enfermedad de Carrión en el Perú
Oficina General de Epidemiología / Instituto Nacional de Salud

Todo persona con presencia de verrugas rojizas y sangrantes de tamaño diverso y/o nodulares subdermicas, residente o procedente de zonas endémicas de transmisión de bartonelosis.

c) Caso probable de bartonelosis grave-complicada

Toda persona con fiebre, anemia e ictericia, con una o más complicaciones de tipo neurológico, hepático y pulmonar, residente o procedente de zonas endémicas de transmisión de bartonelosis.

10.1.2. DEFINICION DE CASOS CONFIRMADOS

a) Caso confirmado de bartonelosis aguda anémica

Toda persona con fiebre, anemia e ictericia residente o procedente de zonas endémicas de transmisión de bartonelosis con resultado positivo a *Bartonella bacilliformis* por examen de frotis o hemocultivo.

b) Caso confirmado de bartonelosis crónica o verrucosa

Todo persona con presencia de verrugas rojizas y sangrantes de tamaño diverso y/o nodulares subdermicas, residente o procedente de zonas endémicas de transmisión de bartonelosis, con resultado positivo a *Bartonella bacilliformis* por examen de frotis o hemocultivo.

c) Caso confirmado de bartonelosis grave-complicada

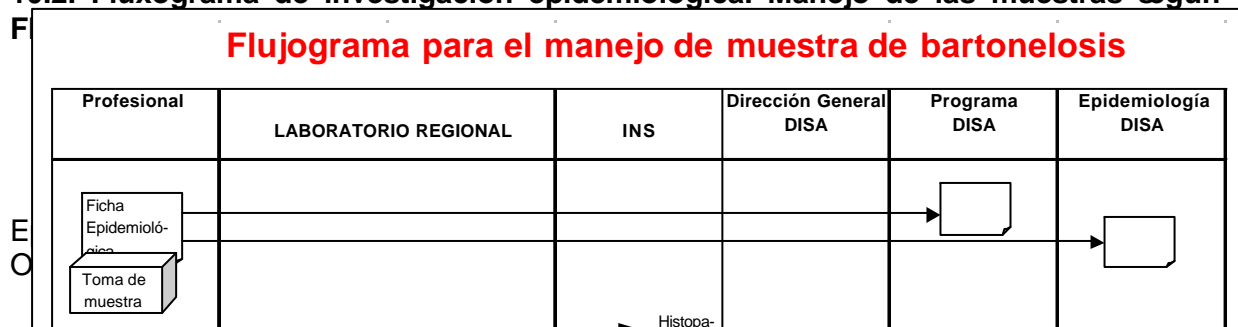
Toda persona con fiebre, anemia e ictericia, residente o procedente de zonas endémicas de transmisión de bartonelosis, con una o más complicaciones de tipo neurológico, hepático o pulmonar con resultado positivo a exámenes de laboratorio.

Las definiciones de casos propuestas por el PCMYOEM se han basado en las experiencias de los profesionales que han tenido oportunidad de diagnosticar y tratar a muchos casos de bartonelosis; sin embargo estas experiencias son diferentes entre los profesionales que trabajan en áreas endémicas y los que trabajan en los hospitales regionales o nacionales. Esto se debe a que los casos que llegan a los hospitales de referencia son generalmente derivados de los Hospitales de Apoyo, Centros o Puestos de Salud de áreas endémicas, donde no es posible tratarlos debido a la severidad de la enfermedad, complicaciones o porque son personas que por algún motivo viajaron a alguna zona endémica donde se infectaron, y enfermaron al regresar su ciudad de origen, por ser foráneos presentan cuadros más severos que los nativos¹⁶. Mientras que en áreas endémicas aproximadamente un 90% de los casos son leves con pocos síntomas y signos, y un índice de parasitemia menor de 10%.

Por último, la inclusión de ictericia en la definición de caso de bartonelosis anémica incrementa la especificidad pero disminuye grandemente la sensibilidad. En la practica, en las áreas endémicas del departamento de Ancash se considera como caso sospechoso la presencia de fiebre y anemia aguda, ya que son muy pocos los casos con ictericia.

La definición de caso grave complicado también tiene algunas limitaciones, primero no considera las complicaciones hematológicas, cardiacas y renales. Segundo, tampoco considera como caso grave complicado las superinfecciones por virus, bacterias, hongos o parásitos que son frecuente en los pacientes hospitalizados y causan alta letalidad.

10.2. Fluxograma de investigación epidemiológica. Manejo de las muestras según



XI) MEDIDAS DE PREVENCIÓN Y CONTROL

11.1. MEDIDAS DE PREVENCIÓN.

Los turistas nacionales o extranjeros que visitan áreas endémicas deben tomar algunas medidas de prevención, incluyendo protección contra la picadura de mosquitos (camisas de manga larga, pantalones, repelentes), evitar realizar actividades fuera de las viviendas durante las horas de mayor actividad de las *Lutzomyia* (17.00-22.00 horas), no pernoctar cerca de los lugares que pueden ser potenciales criaderos o de reposo de las *Lutzomyia* como cuevas, arboles, pircas, criaderos de animales, etc, uso de mosquiteros.

No existe vacuna para evitar la enfermedad. El tratamiento profiláctico con antibióticos no es aceptado, pero no se han realizado estudios para evaluar su eficacia.

11.2. MEDIDAS DE CONTROL.

El control de la Enfermedad de Carrión como en cualquier otra enfermedad infecciosa se basa fundamentalmente en la posibilidad de romper el ciclo epidemiológico que consta de cuatro factores: el huésped, reservorio, vector y el medio ambiente donde se interrelacionan.

11.2.1. Medidas de control sobre el huésped y reservorio

Es posible combatir a *B. bacilliformis* sobre el huésped (el humano) cuando produce enfermedad con la administración de antibióticos. Se sabe que es muy sensible a múltiples

antibióticos produciendo cura clínica en la mayoría de pacientes, sin embargo no se ha investigado la eficacia de los antibióticos evaluando la cura bacteriológica (ausencia de bacterias en sangre). Desde que se inicio el uso de antibióticos se ha observado que pacientes en fase anémica pueden presentar posteriormente la fase eruptiva a pesar del tratamiento. Laughlin⁹¹ ha reportado que 14% de pacientes en fase anémica y que recibieron tratamiento continúan con bacteremia por *B. bacilliformis* 2-12 meses después de la cura clínica; en pacientes en fase eruptiva el 23% fueron bacterémicos. Aunque el número de casos de este estudio es pequeño, se postula que estos dos grupos serían los potenciales reservorios. Estos hallazgos iniciales nos obligan a reevaluar los esquemas de tratamiento vigentes y a replantear las estrategias de control en áreas endémicas, enfatizando el seguimiento de estos dos grupos de potenciales reservorios. La reducción de la infección en estos grupos sería la principal medida de control en humanos. Para ello debemos investigar la eficacia de los antibióticos actualmente usados en los esquemas de tratamiento del PCMYOEM considerando la cura bacteriológica en lugar de la cura clínica.

11.2.2. Medidas de control sobre el vector

Respecto al vector, existen evidencias de que otras especies diferentes de *L. verrucarum* pueden estar incriminadas en la transmisión de la enfermedad. No es posible erradicar pero si es posible realizar la vigilancia entomológica y el control de la población de *Lutzomyia* a través del control vectorial integrado que incluye el control físico y químico para disminuir la población de adultos. Estas actividades deben realizarse en coordinación con la comunidad organizada, autoridades e instituciones públicas y privadas. Proyecto verruga está realizando actualmente un estudio piloto de vigilancia entomológica en una comunidad de Caraz utilizando tecnología de punta como GIS, fotografías aéreas y sensores remotos.

a) Vigilancia entomológica: Esta dirigida a conocer la distribución de las especies, hábitos, variación estacional, población, índice de picadura hombre-noche (IPNH), índice de picadura hombre-hora (IPHH), y otros indicadores entomológicos que nos permitan conocer y estratificar áreas en riesgo de transmisión. Esta es una actividad que no se está realizando rutinariamente en las áreas endémicas. Para ello es necesario capacitar al personal de salud y agentes comunitarios, implementar la red de laboratorio de entomología con equipos e insumos, diseñar protocolos de vigilancia entomológica con los formatos, flujo de muestras, responsables, periodicidad de capturas y de envío de especímenes capturados, etc. Un problema aún no resuelto, es el diseño de indicadores entomológicos para la vigilancia entomológica de *Lutzomyia*; actualmente se están usando los indicadores para la vigilancia de *Anopheles*, pero necesitan ser validados.

Desde abril de 1999 se está realizando un estudio piloto de vigilancia entomológica de *Lutzomyia* financiado por la Oficina General de Epidemiología en el departamento de Ancash, resultados preliminares demuestran que aparentemente no hay correlación entre el número de casos reportados y la densidad de *Lutzomyia*, no sería necesario una alta densidad de *Lutzomyia* ni IPHN e IPHH altos para producir transmisión de la enfermedad, la transmisión es principalmente intradomiciliaria, *L. verrucarum* sería el principal vector incriminado en la transmisión en el Callejón de Huaylas y Conchucos, pero *L. peruensis* también lo estaría en la provincia de Carhuaz⁶⁷. Proyecto verruga también está realizando la vigilancia entomológica en una comunidad de Caraz, resultados preliminares demuestran que *L. verrucarum* es principalmente antropofílica y no se alimenta de roedores¹³⁴, se ha aislado e identificado ADN de *B. bacilliformis* en *L. verrucarum*¹³⁶ y utilizando el sistema de información geográfico, fotografías aéreas y sensores remotos se ha determinado que los casos ocurren en viviendas agrupadas en un rango de vuelo de *Lutzomyia* de 60 metros, ocurre principalmente en áreas rurales y alejados de los ríos¹⁷⁰.

b) Control físico: Esta actividad debe realizarse en coordinación con los actores sociales de la comunidad. Esta dirigido a reordenar el medio para eliminar los potenciales focos, criaderos y lugares de reposo de las *Lutzomyia*. Por ejemplo, eliminación de materias orgánicas en descomposición en intra y peridomicilio, eliminación de malesas, taponamiento de pircas y grietas de las paredes, colocación de mallas metálicas en puertas y ventanas de las viviendas, construcción de corrales para el ganado lejos de las viviendas, etc.

c) Control químico. Esta dirigido a controlar la población adulta de *Lutzomyia* cuando esta se incrementa, a través de la aplicación de insecticidas espaciales o de acción residual del grupo de los piretroides. No es posible realizar el control larvario, debido a que este estadio lo realiza en lugares que son casi imposibles de ubicar. Esta indicado cuando la transmisión es intra o peridomiciliaria y el habito del vector es endofílico. Es necesario realizar estudios previos de susceptibilidad a los insecticidas en forma periódica. Estudios realizados en Ancash en el Callejón de Huaylas y Conchucos han demostrado alta sensibilidad de *Lutzomyia* a insecticidas piretroides actualmente usados en el Perú^{142,143}.

11.2.3. Uso de Sistema de Información Geográfico y Sensores remotos en el control de la Enfermedad de Carrión

Proyecto Verruga esta utilizando el sistema de información geográfico (GIS) y ha llegado a determinar que los pacientes viven principalmente en áreas agrícolas y muchos casos se presentan en grupos dentro de un rango de vuelo para las *Lutzomyia* de 60 metros. Usando el GIS se esta implementando un método de control de la bartonelosis, centrado en las viviendas de los casos agudos para realizar control vectorial y un programa de detección de casos activo. Este estudio ayudara a planificar las medidas de control de salud pública¹⁷⁰.

Usando sensores remotos y mapeo del área de estudio usando fotografías aéreas para localizar alrededor de mil viviendas en Caraz, llegaron a la misma conclusión, los casos ocurren frecuentemente en áreas agrícolas, pocos casos en el área urbana y frecuentemente no ocurren cerca de los ríos. Futuros estudios ayudaran a determinar los factores ambientales que están relacionados a la distribución de los vectores y la enfermedad¹⁷¹.

11.2.4 Diagnóstico precoz y Tratamiento oportuno de casos

Esta es quizás la principal medida de prevención y control ya que permite actuar sobre el huésped, disminuye los potenciales reservorios y el impacto sobre la población al reducir la tasa de mortalidad y letalidad. Por su importancia a continuación se realiza una revisión sobre este tema.

XII. TRATAMIENTO

12.1. Esquemas de tratamiento

El tratamiento oportuno de los pacientes disminuye las complicaciones infecciosas y no infecciosas de la Enfermedad de Carrión. Ha la fecha no se ha realizado un ensayo clínico, doble ciego y randomizado para evaluar la eficacia de un antibiótico sobre otro. Los esquemas de tratamiento propuestos se han basado en la evaluación de la respuesta a un antibiótico en una serie de casos sin tener un grupo testigo. La tabla Nº 9 muestra los esquemas de tratamiento propuesto por el PCMYOEM¹⁶⁹.

Tabla Nº 9. Esquemas de tratamiento de tratamiento según cuadro clínico de la Enfermedad de Carrión.

| Cuadro clínico | Esquema A | Esquema B | Esquema C |
|----------------------------|---|---|--|
| Fase anémica no complicada | Cloranfenicol ^{5,16} 50mg/kg/día dividido en cuatro dosis los tres primeros días, luego 25mg/kg/día en cuatro dosis hasta completar 14 días. | | |
| Fase anémica complicada | | Cloranfenicol 50-100 mg/kg/día dividido en cuatro dosis más Penicilina G sódica 50,000-100,000 UI/kg/ día dividido en 4 a 6 dosis, ambos por 14 días. | |
| Fase eruptiva | | | Rifampicina ^{5,172} Adultos: 600mg una sola dosis, vía oral. Niños: 10 mg/kg/día en una sola dosis, vía oral. En ambos casos el tratamiento debe ser administrado por 14 días. |

Fuente: Doctrinas, normas y procedimientos para el control de la bartonelosis o Enfermedad de Carrión en el Perú. PCMYOEM-MINSA 1998.

La respuesta clínica al tratamiento usualmente se observa a las 24 a 48 horas después de iniciar el tratamiento, la mejoría del estado general del paciente es espectacular. El seguimiento de los pacientes debe realizarse a través de la evaluación clínica y con frotices de controles. En la fase anémica ambos deben realizarse a los 3,7,14 y 21^{avo} día de iniciado el tratamiento. En la fase eruptiva al terminar el tratamiento, a los 30 y 60 días después.

En pacientes con diagnóstico de bartonelosis en fase aguda, debe considerarse como falta de respuesta clínica al tratamiento (ya que no se ha demostrado resistencia al antibiótico por laboratorio) si después del quinto día de iniciado el tratamiento se observa persistencia o incremento del índice de parasitemia en frotis de sangre periférica y no hay mejoría clínica. En este caso deberá administrarse tratamiento con un antibiótico alternativo. Para la fase eruptiva, se considera falta de respuesta al tratamiento si después de 30 días de terminado el tratamiento aun persiste o se incrementan las lesiones.

Una de las principales complicaciones que presentan los pacientes en la fase anémica son las superinfecciones por bacterias, hongos, parásitos o virus. Deberá sospecharse una sobreinfección en aquellos pacientes que después de 72 horas de iniciado el tratamiento, se observa disminución significativa o ausencia de parasitemia pero sin mejoría o empeoramiento del cuadro clínico. En estos pacientes debe investigarse el o los agentes etiológicos agresivamente a través de hemocultivos seriados, biopsias de órganos o tejidos y toma de muestras de suero para títulos de anticuerpos de los agentes etiológicos que se sospeche. La letalidad en estos pacientes es muy alta si no se administra el tratamiento específico.

12.2. Esquemas propuestos para la falta de respuesta al tratamiento

Aunque no está demostrado que exista resistencia de *B. bacilliformis* a los antibióticos, cada vez es más frecuente la falta de respuesta clínica al cloranfenicol y rifampicina, probablemente debido a la venta libre de este medicamento en farmacias y bodegas de áreas endémicas que conlleva a la automedicación con dosis y duración de los esquemas

de tratamiento inadecuados. Al presentar mejoría clínica con uno o dos días de tratamiento o por carecer de dinero para la compra de los medicamentos, el paciente abandona el tratamiento favoreciendo probablemente la aparición de cepas de *B. bacilliformis* “resistentes” a los antibióticos. Esta es la razón por la que el PCMYOM recomienda que la administración de los antibióticos debe ser supervisado por el personal de salud y por lo que debe de asegurar el tratamiento completo y en forma gratuita al 100% de los casos. La tabla N° 10 muestra los esquemas sugeridos para los casos en los que se observa falta de respuesta al tratamiento.

Tabla N° 10. Esquemas de tratamiento sugeridos para pacientes con falta de respuesta al tratamiento.

| Cuadro clínico | Esquemas sugeridos |
|----------------------------|--|
| Fase anémica no complicada | <ul style="list-style-type: none"> • Ciprofloxacina: 500 mg c/12 horas, VO, por 10 días^{5,16,62} • Cotrimoxazol: 800 sulfametoxazol / 160 trimetoprin c/12 horas, VO, por 14 días • Ampicilina: 500 mg c/12 horas, VO, por 14 días • Amoxicilina: 500 mg c/8 horas, VO, por 14 días |
| Fase anémica complicada | <ul style="list-style-type: none"> • Ciprofloxacina: 250 mg c/12 horas, EV, por 10 días • Ceftriaxona: 1 gr c/12 horas, EV, por 10 días |
| Fase eruptiva | <ul style="list-style-type: none"> • Eritromicina: 25-50 mg/kg/día, dividido en 4 dosis, VO, por 14 días. • Ciprofloxacina: 500 mg c/12 horas por 7-10 días⁵. |

12.3. Tratamiento de gestantes con bartonelosis:

a) Fase anémica

Debe ser considerado como una emergencia medica y la paciente debe ser transferida en el menor tiempo posible al hospital de referencia; previa toma de muestra de frotis y sangre venosa para cultivo debe administrarse la primera dosis del antibiótico antes de ser transferida. Debido a la alta letalidad de la madre y el feto, no existe ninguna justificación para que sea tratada en los Centros o Puestos de Salud.

El tratamiento debe iniciarse con el esquema B, cloranfenicol mas penicilina a dosis máxima, aun si la paciente se encuentra sin complicaciones en el momento de realizar el diagnóstico. En aquellos casos en la que se observa falta de respuesta al tratamiento puede administrarse ceftriaxona a las dosis convencionales por 10 días. Esta contraindicado el uso de quinolonas por el riesgo teorico de producir daño al cartilago de crecimiento del feto.

b) Fase eruptiva:

La letalidad en esta fase es 0 %, sin embargo se ha observado bajo peso al nacer y partos pretermino. La paciente debe ser transferida al hospital de referencia para evaluación obstétrica por el medico, previa toma de muestra de frotis y sangre venosa para hemocultivo y la primera dosis del antibiótico. El tratamiento debe iniciarse con el esquema C, rifampicina a las dosis usuales por 14 días. Una alternativa es la eritromicina 500 mg c/6 horas por 14 días.

12.4. Respuesta al tratamiento: ¿Eficacia clínica o bacteriológica?

Cloranfenicol es altamente efectivo para *Bartonella bacilliformis* y muchas especies de *Salmonella* y es la razón por la que se ha considerado como antibiótico de elección en la fase anémica⁴¹, sin embargo algunos estudios recientes ponen en duda su eficacia bacteriológica. Laughlin⁹¹ al realizar seguimiento de los pacientes en fase aguda y eruptiva que recibieron tratamiento de acuerdo a los esquemas recomendados por el PCMYOEM ha encontrado que 14% de pacientes en fase aguda continuaban con hemocultivos positivos y el 23% de pacientes en fase eruptiva también continuaban con hemocultivos positivos. Otro estudio realizado en Cusco¹¹² reporta 11 aislamientos de *B. bacilliformis*; seis fueron en pacientes asintomáticos, de los cuales tres habían terminado su tratamiento con cloranfenicol dos semanas antes de la colecta de la muestra.

No se ha evaluado el rol de estos hallazgos en la epidemiología de la Enfermedad de Carrión, pero se pueden plantear varias hipótesis. Una explicación sería que estos pacientes al continuar viviendo en una área endémica y al no modificarse los factores de riesgo para enfermar, es posible que vuelvan a reinfectarse y volver a presentar bacteremia sin enfermedad posiblemente por la presencia de anticuerpos parcialmente protectores. Otra explicación sería que las *Bartonellas* cambiarían su estructura hacia las formas L, como un mecanismo de defensa al estar frente a un medio hostil (presencia de antibióticos en sangre); al terminar el tratamiento y mejorar las condiciones volvería a tomar su forma original y continuar ocasionando bacteremia. Una tercera explicación, sería que las *Bartonellas* se alojarían en algún lugar del cuerpo o de las células (hematíes o endotelios) donde no pueden actuar o penetrar los antibióticos evitando su acción sobre la bacteria, al terminar el tratamiento volverían a circular en la sangre.

Esta última hipótesis tiene sustento, se sabe que *B. bacilliformis* es una bacteria intracelular y los antibióticos que tienen acción intracelular tendrían mayor eficacia clínica y bacteriológica.

Se sabe que el único reservorio demostrado para *B. bacilliformis* es el humano, pero el principal reservorio en las áreas endémicas serían las personas que sufrieron la enfermedad anémica o eruptiva⁹¹. Esta hipótesis es fortalecida por los hallazgos de otros investigadores quienes han reportado mayor prevalencia de bacteremia y de anticuerpos contra *B. bacilliformis* en las personas que refieren antecedente de haber sufrido la enfermedad anémica o eruptiva^{88,90,95,96,101,112}.

Respecto a la eficacia del tratamiento, surge la interrogante de si la evaluación de la eficacia de los antibióticos debe realizarse clínicamente o bacteriológicamente. No se han realizado estudios para evaluar la eficacia bacteriológica de los antibióticos después de terminar el tratamiento, pero es necesario evaluar los antibióticos actualmente recomendados por el PCMYOEM. Si el principal reservorio es la persona que sufrió la enfermedad, el mejor antibiótico sería el que tenga la menor prevalencia de bacteremia después de terminado el tratamiento, esta sería la principal medida de prevención y control de la Enfermedad de Carrión en áreas endémicas. En un futuro muy cercano es posible que los esquemas de tratamiento actualmente propuestos por el PCMYOEM cambien radicalmente y sospecho que el cloranfenicol dejaría de ser la droga de elección por no tener acción intracelular. El apoyo a investigaciones para confirmar esta hipótesis es necesario.

12.5. Sensibilidad de *Bartonella bacilliformis* a los antibióticos

Existe un solo estudio de la literatura mundial que ha evaluado la sensibilidad de *B. bacilliformis* a los antibióticos utilizando como medio de cultivo agar Columbia enriquecido con 10% de sangre de caballo, con antibióticos diluidos a diferentes concentraciones¹⁷³. Este estudio demostró que las cuatro cepas utilizadas de *B. bacilliformis* KC583 (ATCC 35685), KC584 (ATCC 35686), Acochaca y Monzón (cepas peruanas) tienen un patrón Epidemiología de la Enfermedad de Carrión en el Perú

homogéneo de alta sensibilidad a muchos antibióticos beta lactámicos (excepto para oxacilina, cefalotina y cefotetan) aminoglucosidos, cloranfenicol, macrolidos, doxiciclina, cotrimoxazol, rifampicina y vancomicina. Entre las quinolonas ciprofloxacina y sparfloxacina son las más efectivas. Clindamicina y colistina tienen poca efectividad en inhibir el crecimiento de *B. bacilliformis* (tabla N° 11). Otros estudios han demostrado la sensibilidad de las otras *Bartonellas* patógenas para el humano a los macrolidos¹⁷⁴ y a otros antibióticos¹⁷⁵; los resultados de susceptibilidad de las otras *Bartonellas* comparados con la susceptibilidad de *B. bacilliformis* son muy similares.

Tabla N° 11. MICs para cepas de *B. bacilliformis* determinado por la técnica de dilución del antibiótico en agar Columbia suplementado con 10% de sangre de caballo.

| Antibiótico | MICs (mg/ml) para cepas de <i>B. bacilliformis</i> | | | |
|-------------------------|--|------------|--------------|------------|
| | ATCC 35685 | ATCC 35686 | Acochaca 812 | Monzón 269 |
| Penicilina G | 0.015 | 0.015 | 0.03 | 0.03 |
| Oxacilina | 0.5 | 0.25 | 0.5 | 0.5 |
| Amoxicilina | 0.03 | 0.03 | 0.06 | 0.06 |
| Amoxicilina-clavulanato | 0.03-0.003 | 0.03-0.003 | 0.06-0.006 | 0.06-0.006 |
| Ticarcilina | 0.06 | 0.06 | 0.12 | 0.12 |
| Cefalotina | 8 | 4 | 8 | 8 |
| Cefotetam | 2 | 2 | 2 | 2 |
| Cefotaxime | 0.06 | 0.03 | 0.12 | 0.12 |
| Ceftriaxona | 0.003 | 0.003 | 0.006 | 0.003 |
| Ceftazidime | 0.25 | 0.12 | 0.25 | 0.25 |
| Imipenem | 1 | 0.5 | 1 | 1 |
| Estreptomina | 4 | 4 | 4 | 4 |
| Gentamicina | 1 | 1 | 2 | 2 |
| Tobramicina | 2 | 2 | 4 | 4 |
| Amikacina | 4 | 2 | 8 | 4 |
| Eritromicina | 0.06 | 0.06 | 0.06 | 0.06 |
| Azitromicina | 0.015 | 0.015 | 0.015 | 0.015 |
| Claritromicina | 0.03 | 0.015 | 0.03 | 0.015 |
| Roxitromicina | 0.03 | 0.03 | 0.03 | 0.03 |
| Clindamicina | 64 | 32 | 64 | 64 |
| Doxiciclina | 0.03 | 0.03 | 0.03 | 0.06 |
| Pefloxacina | 2 | 1 | 2 | 1 |
| Ciprofloxacina | 0.25 | 0.25 | 0.5 | 0.5 |
| Sparfloxacina | 0.25 | 0.25 | 0.25 | 0.25 |
| Tiamfenicol | 0.25 | 0.25 | 0.25 | 0.25 |
| Cotrimoxazol | 0.8-4 | 0.4-2 | 0.8-4 | 0.4-2 |
| Rifampicina | 0.003 | 0.003 | 0.003 | 0.003 |

| | | | | |
|-------------|----|----|----|----|
| Fosfomicina | 16 | 8 | 16 | 16 |
| Colistina | 16 | 16 | 16 | 16 |
| Vancomicina | 8 | 4 | 8 | 8 |

Fuente: Sobraqués et.al.¹⁷³

12.6. Evidencias bibliográficas de la eficacia de algunos antibióticos

En el estudio de un brote de fiebre de la Oroya en una comunidad de Callejón de Conchucos en Ancash, se reportó que el 88% (14/16) de pacientes que no recibieron antibióticos fallecieron, mientras que no falleció ninguno de 10 pacientes que se trataron con cloranfenicol (Gray 1990).

Tabla Nº 12. Eficacia de los antibióticos en la Enfermedad de Carrión en fase aguda.

| Autor | Año | Lugar | Antibiótico | Dosis | Nº pacientes | Eficacia (%) |
|------------------------|------|---------------|---------------|-------------------|--------------|--------------|
| Urtega ¹⁷⁶ | 1955 | Lima | Cloranfenicol | 17 g en 5 días | 19** | 79 |
| Cuadra ¹⁵ | 1956 | Lima | Cloranfenicol | S.D. | 8* | 100 |
| Espinoza ⁷³ | 1987 | Lima | Cloranfenicol | S.D. | 19 | 100 |
| Maguiña ⁵ | 1998 | Lima | Cloranfenicol | S.D. | 65 | 95.4 |
| Maguiña ⁵ | 1998 | Lima | Norfloxacina | S.D. | 1 | 100 |
| Maguiña ⁵ | 1998 | Lima | Ampicilina | S.D. | 1 | 100 |
| Cooper ¹⁰² | 1997 | Ecuador | Cloranfenicol | S.D. | 16 | 93.8 |
| Cooper ¹⁰² | 1997 | Ecuador | Doxiciclina | 100mg/d x 7 d | 1 | 100 |
| | | | | | | |
| | | | | | | |
| | | | | | | |
| Guzmán ¹⁷⁷ | 1998 | Huari, Ancash | Cloranfenicol | 50 mg/kg/d x 14 d | 38 | 92.5 |
| | | | | | | |
| | | | | | | |

* Todos tenían complicación con salmonelosis

** Cuatro pacientes tuvieron una recaída, un paciente con salmonelosis falleció.

Tabla N° 13. Eficacia de los antibióticos en la Enfermedad de Carrión en fase eruptiva

| Autor | Año | Lugar | Antibiótico | Dosis | Nº pacientes | Eficacia (%) |
|-------------------------|------|---------------|----------------|---|--------------|--------------|
| | | | | | | |
| | | | | | | |
| | | | | | | |
| Maguiña ¹⁶ | 1993 | Lima | Rifampicina | 10mg/kg/d en niños o 600mg adultos x 14 d | 46 | 95.7 |
| Maguiña ¹⁶ | 1993 | Lima | Estreptomicina | 15mg/kg/día x 10 d | 5 | 80% |
| | | | | | | |
| Maguiña ¹⁷⁸ | 1997 | Lima | Ciprofloxacina | 500mg b.i.d. x 5d | 8 | 75 |
| Guzmán ¹⁷⁷ | 1998 | Huari, Ancash | Rifampicina | 10 mg/kg/d x 10d | 4 | 100 |
| Bautista ¹⁷⁹ | 1999 | Lima | Azitromicina | 10/mg/kg/d x 10d | 1 | 100 |
| | | | | | | |

12.6. Tratamiento folklórico en áreas endémicas

El único estudio encontrado por el autor es el realizado por Susuki¹⁰⁴ en 1978 en las provincias de Huaylas y Yungay sobre una muestra de 1037 familias, reporto que el 62.2% de los encuestados refirieron como único tratamiento la medicina folklórica, tal como lo hacían sus antepasados de hace varios siglos atrás. Para aliviar los dolores osteoarticulares, especialmente de la región lumbar y dorsal, aplican el “shillqui”, que consiste en sujetar la persona del tórax y la cintura y levantarlo violentamente por tres o cuatro veces; también es frecuente realizar el “shockma” o sobada de cuy.

Los medicamentos empíricos más usados llamados “jampis” obtenidos por preguntas abiertas a los encuestados y por entrevistas informales a pobladores son los siguientes:

El “quisuar” un arbusto de cuyas hojas y flores se prepara una infusión que hace “brotar” las verrugas.

La planta “patsa salvia”, una variedad de penca, se hierve en poca cantidad de agua y se toma una copa tres veces al día. También puede ser hervida en latas o peroles para bañar al paciente. Tiene la propiedad de hacer “brotar” las verrugas.

El “café de choloque”, obtenido de las semillas de este árbol, se prepara en infusión para que los pacientes con verruga lo tomen a voluntad como agua de tiempo.

Para tonificar el paciente “débil” por la enfermedad, se hierve trigo, maíz blanco y caña de azúcar, después de colarlo se agrega “vino oporto”, la dosis es tres vasos al día. Otra receta es hervir la planta “huachua” con maíz blanco, azar a la brasa “caña criolla” y luego mezclar ambos con agua hervida. Se da al paciente según su voluntad.

Los baños termomedicinales, en especial los que contienen abundante hierro y de elevada temperatura son recomendados para hacer “brotar la verruga interna” y calmar los dolores osteoarticulares.

Otras plantas utilizadas en orden de frecuencia son: la “huacua”, “huacima”, “maguey”, “soldacon”, “pique pique”, “añaspamaquin”, “limón agrio” “uña de gato”, etc.

Otro estudio realizado en 1999 por alumnas de enfermería de la Universidad Nacional Santiago Antunez de Mayolo, de Huaraz se encuentra en fase análisis.

XIII) ANEXOS

- Obtención de muestras. Procedimiento de laboratorio. Ficha de envío y de investigación clínico epidemiológica

FICHA DE INVESTIGACIÓN DE LA ENFERMEDAD DE CARRION



ESTABLECIMIENTO : _____ N° HIST.CLINICA: _____

NOMBRE DEL ENCUESTADOR: _____ FECHA ENCUESTA: __/__/__

APELLIDOS Y NOMBRES PACIENTE: _____

EDAD : _____ años _____ meses SEXO: Masc. () Femen. ()

Gestante: : Si () No () FUR: __/__/__ Edad Gestacional: __/__/__

Departamento: _____ Provincia: _____ Distrito: _____ Localidad: _____

TIEMPO DE RESIDENCIA: _____ OCUPACION:

Viaje a localidades o comunidades vecinas durante 1998

Fecha de viaje __/__/__ Lugar : _____ Tiempo permanencia: _____

Fecha de viaje __/__/__ Lugar : _____ Tiempo permanencia: _____

FECHA DE INICIO DE ENFERMEDAD: __/__/__ FECHA INGRESO AL ESTUDIO: __/__/__

T.E. : F.I.: Curso: O DE DIAGNOSTICO

SINTOMAS : (Marque con una X si el paciente refiere los siguientes síntomas)

- | | | |
|----------------------|---------------------|---------------------|
| Fiebre () | Nauseas () | Polipnea () |
| Palidez () | Vómitos () | Tos () |
| Cefalea () | Hiporexia () | Expectoración () |
| Malestar general () | Dolor abdominal () | Dolor torácico () |
| Mialgias () | Hematoquesia () | Disnea () |
| Dolor articular () | Melena () | Cianosis () |
| Astenia () | Diarrea () | Convulsiones () |
| Prurito () | Ictericia () | Inyección conj. () |
| Petequias () | Disuria () | Epistaxis () |
| Equimosis () | Polaquiuria () | Cong.faringea () |
| Escalofríos () | Coluria () | Odinofagia () |
| Mareos () | Epigastralgia () | Fotofobia () |
| Verrugas () | Somnolencia () | Exitac.psicom. () |
| Lumbalgia () | | |

FUNCIONES VITALES:

Temperatura:°C P.A: __/__/__ F.R.: _____ Pulso: _____ Peso: _____Kg

SIGNOS:

- | | | | | | |
|----------------------|-----|-----|-----------------------|-------------------|----|
| GENERALES: | Si | No | | Si | No |
| Lúcido | () | () | Estado general | (B) (R) (M) | |
| Orientado en tiempo | () | () | Estado de nutrición | (B) (R) (M) | |
| Orientado en espacio | () | () | Estado de Hidratación | (B) (R) (M) | |
| Orientado en persona | () | () | | | |

PIEL:

Palidez: () Leve: () Moderada : () Severa: ()

Petequias: () Localización :

Equimosis: () Localización :

Lesiones eruptivas:

- | | | | | | | | |
|-----------|-----|---|------------|------------|----------------|----------------|---------------|
| | N° | LOCALIZACION (colocar el numero en el paréntesis) | | | | | |
| Miliares | ___ | Cara () | Cuello () | Tronco () | Ext.Super. () | Ext.Infer. () | Sangrante () |
| Mulares | ___ | Cara () | Cuello () | Tronco () | Ext.Super. () | Ext.Infer. () | Sangrante () |
| Nodulares | ___ | Cara () | Cuello () | Tronco () | Ext.Super. () | Ext.Infer. () | Sangrante () |

Observaciones:

TEJIDO CELULAR SUBCUTANEO:

Sin alteraciones ()

Edema ()

Miembros inferiores () Palpebral () Otro: _____

Miembros superiores () Lumbosacro ()

GANGLIOS LINFATICOS:

Axilares : N° ____ Tamaño: ____ mm Móviles: () Dolorosos ()
Inguinales: N° ____ Tamaño: ____ mm Móviles: () Dolorosos ()
Cervicales: N° ____ Tamaño: ____ mm Móviles: () Dolorosos ()
Epitrocleares: N° ____ Tamaño: ____ mm Móviles: () Dolorosos ()

CABEZA:

Conjuntivas: Pálidas () Leve: (+/+++) Moderada: (++) Severa: (+++/+++)
Escleróticas: Ictéricas () Leve: (+/+++) Moderada: (++) Severa: (+++/+++)
Inyección conjuntival ()
Pupilas: CIRLA () Otros:

BOCA: Mucosa oral:

Faringe : Normal () Congestiva ()
-Amígdalas Normales () Hipertroóficas () Otros:
Congestivas () Purulentas ()

OSTEOMUSCULAR:

Tono muscular:
Míalgias:
Lumbar () Dorsal () Brazos () Otros:
Muslos () Pantorrillas () Antebrazos ()
Dolor articular
Hombro () Codos () Muñeca () Otros :
Cadera () Rodillas () Tobillos ()
Artritis:

APARATO RESPIRATORIO:

Murmullo vesicular:
Soplos: ()
Crepitantes ()
Subcrepitantes ()
Sibilantes ()
Otros:

APARATO CARDIOVASCULAR:

Ruidos cardiacos:
Soplos:
Otros:

APARATO GASTROINTESTINAL:

Ruidos hidroaéreos:
Hígado:
Bazo:
Otros:

GENITOURINARIO

Puntos renoureterales:
Percusión lumbar:
Edemas:
Otros:

NEUROLOGICO:

Estado de conciencia:
Pares craneales:
Convulsiones: ()
Babinsky: ()
Signos meningeos:
ROT: ()

Sensibilidad:
 Signos de focalización:
 Otros:

HOSPITALIZADO: a) Si () b) No ()
 Fecha de hospitalización: ___/___/___ Días de hospitalización: _____

CONDICION DE ALTA:
 a) Curado () c) Transferido () e) Fallecido ()
 b) Mejorado () d) Alta voluntaria ()

DIAGNOSTICO CONSULTA EXTERNA O INGRESO: DIAGNOSTICO DE ALTA (Solo sí fue hospitalizado)
 1.- _____ 1.- _____
 2.- _____ 2.- _____
 3.- _____ 3.- _____

EVOLUCION:

| SIGNO | FECHA : Mes : Año: | | | | | | | | | | | | | |
|-------------------|--------------------------------|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|
| | | | | | | | | | | | | | | |
| Temperatura | | | | | | | | | | | | | | |
| Hemoglobina | | | | | | | | | | | | | | |
| Hematocrito | | | | | | | | | | | | | | |
| Transfusiones (U) | | | | | | | | | | | | | | |
| Frotis | | | | | | | | | | | | | | |
| Hemocultivo (*) | | | | | | | | | | | | | | |
| Antibióticos | | | | | | | | | | | | | | |
| Penicilina () | | | | | | | | | | | | | | |
| Cloranfenicol() | | | | | | | | | | | | | | |
| Rifampicina () | | | | | | | | | | | | | | |
| Ciprofloxacina() | | | | | | | | | | | | | | |
| Eritromicina () | | | | | | | | | | | | | | |
| Cotrimoxazol () | | | | | | | | | | | | | | |
| Ceftriaxona () | | | | | | | | | | | | | | |
| Otros | | | | | | | | | | | | | | |

(*) Indicar si se tomó muestra ya que el resultado del cultivo demora hasta 40 días

() Colocar la dosis del antibiótico dentro del paréntesis

EXAMENES AUXILIARES

| EXAMEN AUXILIAR | Mes..... Año: | | | | | | | |
|------------------------------|---------------------|--|--|--|--|--|--|--|
| | | | | | | | | |
| Grupo sanguíneo | | | | | | | | |
| Plaquetas | | | | | | | | |
| Hematies | | | | | | | | |
| TGO | | | | | | | | |
| TGP | | | | | | | | |
| Fosfatasa alcalina | | | | | | | | |
| Bilirrubina directa | | | | | | | | |
| Bilirrubina Indirecta | | | | | | | | |
| Bilirrubina total | | | | | | | | |
| Urea | | | | | | | | |
| Glucosa | | | | | | | | |
| Creatinina | | | | | | | | |
| Leucocitos totales | | | | | | | | |
| Segmentados | | | | | | | | |
| Abastionados | | | | | | | | |
| Linfocitos | | | | | | | | |
| Monocitos | | | | | | | | |
| Eosinofilos | | | | | | | | |
| Basófilos | | | | | | | | |
| Blastos | | | | | | | | |
| Aglutinaciones: Tífico " O " | | | | | | | | |
| Tífico " H " | | | | | | | | |
| Paratífico A | | | | | | | | |
| Paratífico B | | | | | | | | |
| Brucellas | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |

XI) REFERENCIAS BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFIA

- ¹ Alexander B. A review of bartonellosis in Ecuador and Colombia Am J Trop Med Hyg 1995;52:354-359.
- ² Schultz MG. A history of bartonellosis (Carrión's disease) Am J Trop Med Hyg 1968;17:503-515.
- ³ Maguiña C. Maguiña T. Nuevos aportes sobre la historia de la verruga peruana o Enfermedad de Carrión. Diagnóstico 1984;13:47-51.
- ⁴ Leonard J. Daniel Carrión y la enfermedad que lleva su nombre. Bol Of Sanit Panam 1992;113:35-44
- ⁵ Maguiña C. Bartonelosis o Enfermedad de Carrión. Nuevos aspectos de una vieja enfermedad. A.F.A. Editores Importadores S.A. Lima-Perú. 1998.
- ⁶ Pérez JE, Ogasaku E. Historical aspects of the vectors of bartonellosis and leishmaniasis in Peru. Bol Dir Malariol San Amb 1995;35:Supl 1:277-294
- ⁷ García-Cáceres U and García FU. An immunodepressive disease and the life of Daniel Alcides Carrión. 1991;95(4 Suppl 1)S58-66
- ⁸ Herrer A. Epidemiología de la verruga peruana. González – Magabun. Lima, Perú.1990.
- ⁹ Cueto Marcos. Tropical medicine and bacteriology in Boston and Peru: studies of Carrión Disease in the early twentieth century. Medical History 1996; 40:344-364
- ¹⁰ Alarcón J. Carrión como científico: Análisis metodológico del experimento de Carrión. Anal Fac Med Lima1998;59:
- ¹¹ Noguchi H, Battistini T. Etiology of Oroya Fever. I. Cultivation of *Bartonella bacilliformis*. J Exp Med 1926;43:851-864.
- ¹² Oficina Sanitaria Panamericana. Verruga peruana. Bol Of Sanit Panam 1939;18:879-882.
- ¹³ Patiño L. Un nuevo foco de bartonellosis en America. Bol Of Sanit Panam 1939;18:305-312
- ¹⁴ Montalvan JA. Un foco de bartonellosis en el Ecuador. Bol Of Sanit Panam 1940;19:154
- ¹⁵ Cuadra M. Salmonellosis complication in human bartonellosis. Texas Report Biol Med 1956;14:97-113
- ¹⁶ Maguiña CP. Estudio clínico de 145 casos de bartonellosis en el Hospital Nacional Cayetano Heredia: 1969-1992. Tes Dr UPCH, 1993.
- ¹⁷ Cáceres AG, Galati EAB, Le Pont F, Velásquez C. Possible role of *Lutzomyia maranonensis* and *Lutzomyia robusta* (Diptera:Psychodidae) as vector of human bartonellosis in three provinces of region nor oriental del Marañón, Perú. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 1997;39:51-52.
- ¹⁸ Birtles RJ, Harrison NK. et al. Taxonomic consideration of *Bartonella bacilliformis* based on phylogenetic and phenotypic characteristics. FEMS Microbiol Letter 1991;83:187-192.
- ¹⁹ Brenner JD, McWorter PO, Winkler HH, Steigerwalt AG. Proposal to unify the genera *Bartonella* and *Rochalimaea*, with descriptions of *Bartonella quintana* comb. nov., *Bartonella vinsonii* 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;43:777-86
- ²⁰ Daly JS, Worthington MG, Brenner DJ, Moss CW, Hollis DG, Weyant RS, Steigerwalt AG, Weaver RE, Daneshvar MI, O'connor SP. *Rochalimaea elizabethae* sp. nov., isolated from a patient with endocarditis J Clin Microbiol 1993;31:872-871
- ²¹ Regnery RL, Anderson BE, Claridge JE III, et al. Characterization of a novel *Rochalimaea* species, *R. henselae* sp. nov., isolated from a blood of a febrile, human immunodeficiency virus-positive patient. J Clin Microbiol 1992;30:265-274
- ²² Birtles RJ. et al. Proposals to unify the genera *Grahamella* and *Bartonella*, with descriptions of *Bartonella talpae* comb. nov., *Bartonella peromysci* comb. nov. and three new species, *Bartonella grahamii* sp. nov., *Bartonella taylorii* sp. nov. and *Bartonella doshiae* sp. nov. Int J Syst Bacteriol 1995;45:1-8.
- ²³ Lawson PA, Collins MA. Description of *Bartonella clarridgeiae* sp. nov. isolated from the cat of a patient with *Bartonella henselae* septicemia. Med Microbiol Letter 1996;5:64-73
- ²⁴ Heller R, Riegel P, Hansmann Y, Delacour G, Bermound D, Dehio C, Lamarque F, Monteil H, Chomel B and Piémont Y. *Bartonella tribocorum* sp. nov., a new *Bartonella* species isolated from the blood of wild rats. Int J Syst Bacteriol 1998;48:1333-1339.

-
- ²⁵ Heller R, Kubina M, Mariet P, Riegel P, Delacour G, Dehio C, Lamarque F, Kasten R, Boulouis HJ, Monteil H, Chomel B and Piémont Y. *Bartonella alsatica* sp. nov., a new *Bartonella* species isolated from the blood of wild rabbits. Int J Syst Bacteriol 1999;49:283-288
- ²⁶ Droz S, Chi B, Horn E, Steigerwalt AG, Whitney AM, Brenner DJ. *Bartonella koehlerae* sp. nov., isolated from cats. J Clin Microbiol 1999 Apr;37:1117-1122
- ²⁷ Schwartzman W. *Bartonella (Rochalimaea)* infections: beyond cat scratch. Annu Rev Med 1996;47:355-364.
- ²⁸ Maurin M and Raoult D. *Bartonella (Rochalimaea) quintana* infections Clin Microbiol Rev 1996;9:273-292
- ²⁹ Jerris RC, Regnery RL. Will the real agent of cat-scratch disease please stand up? Annu Rev Microbiol. 1996;50:707-25.
- ³⁰ Kordick DL, Hilyard EJ, Hadfield TL, Wilson KH, Steigerwalt AG, Brenner DJ, Breitschwerdt EB. *Bartonella clarridgeiae*, a newly recognized zoonotic pathogen causing inoculation papule, fever and lymphadenopathy (cat scratch disease). J Clin Microbiol 1997;35:1813-1818.
- ³¹ Kerkhoff FT, Bergmans AMC, van der Zee A, Rothova A. Demonstration of *Bartonella grahamii* DNA in ocular fluids of a patient with neuroretinitis. J Clin Microbiol 1999;37:4034-4038.
- ³² Baker JA. A rickettsial infection in Canadian vole. J Exp Med 1946;84:37-51
- ³³ Weiss E, Dash GA. Differential characteristics of strain of *Rochalimaea vinsonii* sp. nov., the Canadian vole agent. Int J Syst Bacteriol 1982;32:305-314.
- ³⁴ Roux V, Eykyn SJ, Wyllie S, Raoult D. *Bartonella vinsonii* subsp. *berkhoffii* as an agent of afebrile blood culture-negative endocarditis in a human. J Clin Microbiol 2000;38:1698-700
- ³⁵ Ellis BA, Regnery RL, Beati L, Bacellar F, Rood M, Glass GG, Marston E, Ksiazek TG, Jones D, Childs JE. Rats of the genus *Rattus* are reservoir hosts for pathogenic *Bartonella* species: an old world origin for a new world disease? J Infect Dis 1999;180:220-224.
- ³⁶ Solano L, Solano L Jr. La Enfermedad de Carrión y la biología de la *Bartonella bacilliformis*. Rev Per Med Trop UNMSM 1991;5:13-18
- ³⁷ Walker DH, Guerra H, Maguiña C. Bartonellosis. In Guerrant RL, Walker D, Walker P, (eds): Tropical Infectious Diseases, Principles, Pathogens, and Practice, vol A. Churchill Livingstone, 1999;pp 492-497.
- ³⁸ Slater LN, Welch DF. *Rochalimaea* species (recently renamed *Bartonella*). In Mandell Tropical infectious diseases. 1995
- ³⁹ Llanos-Cuentas A, Maguiña C, Warrell DA. Bartonellosis. In Weatherall DJ, Ledingham JGG, Warrell DA (eds) Oxford textbook of medicine. Oxford University Press 1996. 773-776.
- ⁴⁰ Maass M, Schreiber M, Knobloch J. Detection of *Bartonella bacilliformis* in cultures, blood, and formalin preserved skin biopsies by use of the polymerase chain reaction. Trop Med Parasitol. 1992;43:191-194
- ⁴¹ Bass JW, Vincent JM, Person DA. The expanding spectrum of *Bartonella* infections: I. Bartonellosis and trench fever. Pediatr Infect Dis J 1997;16:2-10
- ⁴² Knobloch J. Analysis and preparation of *Bartonella bacilliformis* antigens. Am J Trop Med Hyg 1988;39:173-178
- ⁴³ Knobloch J and Schreiber M. Bb65 a major immunoreactive protein of *Bartonella bacilliformis*. Am J Trop Med Hyg 1990;43:373-379
- ⁴⁴ Mernaugh G, Ihler GM. Deformation factor: an extracellular protein synthesized by *Bartonella bacilliformis* that deforms erythrocyte membranes. Infect Immun 1992;60:937-943.
- ⁴⁵ Scherer DC, DeBuron-Connors I, Minnick MF. Characterization of *Bartonella bacilliformis* flagella and effect of anti-flagellin antibodies on invasion of human erythrocytes. Infect Immun 1993;61:4962-4971.
- ⁴⁶ Ihler GM. *Bartonella bacilliformis*: dangerous pathogen slowly emerging from deep background. FEMS Microbiol Lett 1996;144:1-11
- ⁴⁷ McGinnis E, Raji A, Valenzuela MS, García F, Hoover R. Adhesion to and invasion of cultured human cells by *Bartonella bacilliformis*. Infect Immun 1992;60:4051-4058.
- ⁴⁸ Minnick MF, Strange JC, Williams KF. Characterization of the 16S-23S rRNA intergenic spacer of *Bartonella bacilliformis*. Gene 1994;143:149-150

-
- ⁴⁹ Patrucco R. Estudio de los parámetros inmunológicos en pacientes portadores de la Enfermedad de Carrión. *Diagnóstico* 1983;12:138-144.
- ⁵⁰ Maguiña CP. Estudio electroforético en suero de 16 pacientes portadores de bartonelosis humana en fase eruptiva. *Diagnóstico* 1986;17: 88-90.
- ⁵¹ García FU, Wojta J and Hoover RL. Interactions between live *Bartonella bacilliformis* and endothelial cells. *J Infect Dis* 1992;165:1138-41
- ⁵² Maurin M, Birtles R and Roul D. Current Knowledge of bartonella species. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1997;16:487-506
- ⁵³ Arias-Stella J, Arias-Stella J Jr. Formas histológicas de la verruga peruana. *Folia Dermatológica* 1997;8:15-20.
- ⁵⁴ Arrese J, Maguiña C, Piérard GE. La verruga peruana: pasado presente y futuro. *Piel* 1992;7:350-353.
- ⁵⁵ Arias-Stella J, Arias-Stella J Jr. Factores que tienen influencia en los modelos histológicos de la verruga peruana. *Folia Dermatológica* 1998;9:29-33.
- ⁵⁶ Arias-Stella J, Arias-Stella J Jr.. Identificación de *Bartonella bacilliformis*, a la microscopía de luz en la verruga peruana. *Folia Dermatológica* 1998;9:16-21.
- ⁵⁷ Arias-Stella J, Arias-Stella J Jr.. Las inclusiones de Rocha-Lima en la verruga peruana. *Folia Dermatológica* 1996;7:37-42.
- ⁵⁸ Arias-Stella J, Bravo-Puccio F, Arias-Stella J Jr.. Angiomatosis bacilar en el Perú. Una nueva forma de bartonelosis que es necesario diferenciar de la verruga peruana. *Folia Dermatológica* 1996;7:31-36.
- ⁵⁹ Cuadra M, Takano J. The relationship of *Bartonella bacilliformis* to the blood cell as revealed by electron microscopy. *Blood* 1969;33:708-716.
- ⁶⁰ Recavarren S. Pathogenesis of the verruga of Carrión's disease. Ultrastructural studies. *Am J Pathol* 1972;66:461-469.
- ⁶¹ Seminario V, Maita RB, Meléndez RA. Primeros reportes de inmunohistoquímica en la lesión dérmica de bartonelosis. *Rev Cuerpo Med* 1992;14:56-57
- ⁶² Maguiña C, Gotuzzo E. Bartonellosis. New and old. *Infect Dis Clin North Am* 2000;14:1-22
- ⁶³ Pachas P. Epidemiología de la bartonelosis en la Región Chavín. Libro de resúmenes de trabajos libres. IX Congreso Nacional de Medicina Interna. Lima 1996.
- ⁶⁴ Nuñez G, Canales J, Cjuno R, Grajeda P, González C. Brote de bartonelosis en la provincia de La Convención-Cusco 1998. *Situa* 1999;7:20-24
- ⁶⁵ Maguiña C, Huatuco G, Gómez L, Paz J, Cobos M, Leo E, Guerra H, Falconí E, Ugarte C, Seminario L. Brote de enfermedad desconocida en Aguarunas de Cajamarca y Enfermedad de Carrión en selva peruana. *Rev Farmacol Terap (Lima)* 1993;3:3-10.
- ⁶⁶ Broncano F, Tuya N, Arevalo L, Granados D. Epidemiología de la bartonelosis humana UTES-Caraz 1992. Libro de resúmenes de trabajos libres. III Congreso Peruano de Enfermedades Infecciosas y Tropicales. Lima 1993.
- ⁶⁷ Pachas P. Situación actual de la Enfermedad de Carrión en la DIRES Ancash hasta la semana epidemiológica N° 23 de 1999. *Boletín Epidemiológico* 1999;2:19-35.
- ⁶⁸ Ricketts WE. Clinical manifestations of Carrión's disease. *Arch Intern Med* 1949;84:751-81
- ⁶⁹ Maguiña C, Gotuzzo E, Carcelén A, Salinas C, Cok J, Recavarren S, Bussalleu A. Compromiso gastrointestinal en bartonelosis o enfermedad de Carrión. *Rev Gastroent Perú* 1997;17:31-43.
- ⁷⁰ Franco V. Complicaciones cardiovasculares de la fase aguda de la bartonelosis en el Hospital Nacional Cayetano Heredia entre los años 1987-1997. Tes Bach UPCH. Lima 1998.
- ⁷¹ Tataje J, Beteta L, Galvez J, Llosa L, Lema J, Sánchez L, Zegarra F, Moscoso I. Complicaciones hematológicas de las infecciones: a propósito de cinco casos. *Diagnóstico* 1984;13:52-55.
- ⁷² Hinojosa W. Estudio clínico epidemiológico sobre 76 casos de bartonelosis en el Callejón de Huaylas. Informe memoria de SECIGRA 1977.
- ⁷³ Espinoza R. Bartonellosis aguda en niños. Estudio retrospectivo en el Instituto Nacional de Salud del Niño, 1976-1985. Tes Bach Med UPCH, Lima 1987.
- ⁷⁴ López de Guimaraes D, Menacho J, Villanueva J, Salinas C, Ferrufino JC, Quispe R, Maguiña C. Hepatitis reactiva inespecífica y bartonelosis. Reporte de tres casos. Libro de

resúmenes de trabajos libres. III Congreso Peruano de Enfermedades Infecciosas y Tropicales. Lima 1993.

⁷⁵ Maguiña C, Acosta R, Gotuzzo E, Cabrera J, Campos P, Echevarria J, Vizcarra D, Cok J, Ferrufino JC. Compromiso del sistema nervioso central en la Enfermedad de Carrión. *Revista Neuropsiquiatria* 1996;59:3-25.

⁷⁶ Acosta R. El compromiso neurológico en la Enfermedad de Carrión. Estudio de 20 casos en fase anémica. Tes Bach Med UPCH. 1988.

⁷⁷ Trelles JO, Palomino L, Trelles L. Formas neurologicas de la Enfermedad de Carrión. *Rev Neuropsiquiatria* 1969;4:245-306

⁷⁸ Lopez de Guimaraes D, Avila F, Villanueva J. Enfermedad de Carrión Grave Complicada: relevancia del compromiso multisistémico. Libro de resúmenes de trabajos libres. VI Congreso Peruano de Enfermedades Infecciosas y Tropicales. Lima 1999.

⁷⁹ Tuya N, Broncano F, Enríquez A. Transmisión transplacentaria de la bartonelosis?. A propósito de un caso. Libro de resúmenes de trabajos libres. III Congreso Peruano de Enfermedades Infecciosas y Tropicales. Lima 1993.

⁸⁰ López de Guimaraes D, Avila F, Villanueva J. Enfermedad de Carrión y gestación. Reporte de ocho casos. Libro de resúmenes de trabajos libres. VI Congreso Peruano de Enfermedades Infecciosas y Tropicales. Lima 1999.

⁸¹ Broncano F, Tuya N, Granados D. Bartonelosis y gestación: a propósito de dos casos. Libro de resúmenes de trabajos libres. III Congreso Peruano de Enfermedades Infecciosas y Tropicales. Lima 1993.

⁸² Pinkerton H, and Weinman D. Toxoplasma infection in man. *Arch Path* 1940;30:374-392

⁸³ Maguiña C, Gotuzzo E, Alvarez H, Carcelen A, Irrivaren J, Soto J, Cok J. Toxoplasmosis en Bartonelosis humana. *Rev Med Hered* 1998;9:14-20.

⁸⁴ Maguiña C, Acosta R, Indacochea S, Bustamante B, Salinas C, Cok J, Varela L, López M, Salmalvides F, Macrae J. Histoplasmosis diseminada y bartonelosis humana, reporte de un caso. *Rev Med Hered* 1992;3:81-84.

⁸⁵ Colichón H, Calderón J, Bedón C. *Bartonella bacilliformis* en la sangre periférica de los pobladores de las zonas verrucogenas del Perú. *Rev Per Med Trop UNMSM* 1972;1:9-21.

⁸⁶ Herrer A. Epidemia de la Enfermedad de Carrión en Cajabamba (Cajamarca, Perú) 1980. *Rev Per Ent* 1990;32:9-18

⁸⁷ Herrer A. Verruga peruana en la quebrada de Huarmaca (Huancabamba, Piura) 1981. *Rev Per Ent* 1990;32:19-28

⁸⁸ Solano L, Marocho L, Bueno C, Villalta M, Castillo R, Alarcon W, Bardales J, Atencio G, Castillo J, Escobar J, Solano L. Investigación de bartonelosis en el valle del Puchka, provincia de Huari, Ancash-Perú. *Rev Per Med Trop UNMSM* 1993;7:13-25

⁸⁹ Maguiña C, Pérez E. La Enfermedad de Carrión y leishmaniasis andina en la región de Conchucos, distrito de Chavín, San Marcos y Huantar, Provincia de Huari, Departamento de Ancash. *Diagnóstico* 1983;16:5-12

⁹⁰ Colichón A, Columbus I, Latorre C. Aislamiento de *Bartonella bacilliformis* en pacientes con bartonelosis humana en el Callejón de Huaylas, Perú. Libro de resúmenes de trabajos libres. IV Congreso de Enfermedades Infecciosas y Tropicales. Lima 1995.

⁹¹ Laughlin L, Chamberlin J, Ponce C, Gonzales H, Romero S, Gonzalo A, Watts D, Carrillo C. Epidemiology of bartonelosis in Perú: prospective population-based study. Abstracts 1st International Conference on "*Bartonella* as Emerging Pathogens". Tunbingen, Germany 1999.

⁹² Herrer A Carrión's diseases II. Presence of *Bartonella bacilliformis* in the periferical blood of patients with the benign form *Am J Trop Med Hyg* 1953;2:645-649

⁹³ Weinman D, Pinkerton H. Carrión's diseases IV Natural sources of *Bartonella* in the endemic zone. *Proc Soc Exp Biol Med* 1937;37:596-598

⁹⁴ Herrer A. Verruga y uta en el valle de Huailacayán (Dpto. de Ancash) I. Determinación de los límites altitudinales de la zona endémica y de la incidencia de ambas enfermedades. *Rev Med Exper* 1057;11:40-49.

⁹⁵ Minaya P, González F, Romero S, Gómez L, Portugal W, Costa C, Chávez C, Nakamoto I, Salazar J, Suárez L, Ruiz J, Adrianzen A. Seroprevalencia de bartonelosis en localidades rurales de Carhuaz y Huaraz. Ancash. Junio 1993. Libro de resúmenes de trabajos libres. III Congreso de Enfermedades Infecciosas y Tropicales. Lima 1993.

- ⁹⁶ Delgado D. Enfermedad de Carrión: estudio clínico-patológico y uso de la técnica del western blot en pacientes de una nueva área de verruga peruana en el Perú. Tes Bach UPCH. Lima 1999.
- ⁹⁷ Weinman D. Bartonellosis. Weinman D, Ristic M, eds. Infectious blood diseases of man and animals. New York:Academic Press, 19.....3-24.
- ⁹⁸ Handabaka O, Gamarra S, Galvez M, Grados D. Reporte de casos de bartonellosis anémica en la provincia de Sihuas región Chavín. Libro de resúmenes de trabajos libres. V Congreso Peruano de Enfermedades Infecciosas y Tropicales. Lima 1997.
- ⁹⁹ Montoya M, Maguiña C, Vigo B, Caparo R, Briceño E, Astorga L, Ventocilla P, Pérez E, Guerra H. Acute bartonellosis in Regional Hospital Cusco, Perú, april-june 1998. Abstracts # PS30, 24th International Congress of Internal Medicine. Lima 1998.
- ¹⁰⁰ Gómez J, Loja D, Castro J, Ricse L, Vilca M, Cardenas Y. Estudio de 8 casos de Bartonellosis en el Hospital Arzobispo Loayza. Libro de resúmenes de trabajos libres. IV Congreso de Enfermedades Infecciosas y Tropicales. Lima 1997.
- ¹⁰¹ Gray GC, Jhonson AA, Thorton SA, Smith WA, Knobloch J, Kelley PW, Escudero LO, Huayda MA, Wignall FS. An epidemic of Oroya Fever in the peruvian andes. Am J Trop Med Hyg 1990;42:215-221
- ¹⁰² Cooper P, Guderian R, Orellana P, Sandoval C, Olalla H, Valdes M, Calvopiña M, Guevara A, Griffin G. An outbreak of bartonellosis in Zamora Chinchipe province in Ecuador. Trans R Soc Trop Med Hyg 1997;91:544-546
- ¹⁰³ Pachas PE, Jaramillo K, Hoyos A, Del Aguila R. Minaya P. Enfermedad de Carrión y niveles de pobreza. Libro de resúmenes de trabajos libres. Abstract # 130. VI Congreso Peruano de Enfermedades Infecciosas y Tropicales. Lima 1999.
- ¹⁰⁴ Susuki L. Algunos aspectos epidemiológicos y ecológicos de la verruga peruana en el departamento de Ancash. I Congreso Regional de Medicina. Trujillo 1979.
- ¹⁰⁵ Gonzales F, Minaya P, Gomez L, Portugal W, Caceres A, Adrianzen A, Costa C, Chavez C, Nakamoto I, Salazar J, Suarez L, Ruiz J. Creencias y conocimientos sobre la bartonellosis en localidades rurales de las provincias de Carhuaz y Huaraz. Ancash. Junio 1993. Libro de resúmenes de trabajos libres. III Congreso Peruano de Enfermedades Infecciosas y Tropicales. Lima 1993.
- ¹⁰⁶ Hertig M. Cultivo de *Bartonella bacilliformis* de un caso de verruga en el Ecuador. Bol Of San Panam 1940;19:756-758.
- ¹⁰⁷ Servicio Nacional de Erradicación de la Malaria. Outbreak of Bartonellosis in Ecuador Epidemiological Bulletin 1980;1:9
- ¹⁰⁸ Key K. Atypical form of cutaneous verrucous disease spreads in Ecuador. Health letter on the CDC, 08/08/97 pag 2-3.
- ¹⁰⁹ Cooper P, Guderian R, Paredes W, Daniels R, Perera D, Espinel M, Valdez M, Griffin G. Bartonellosis in Zamorra Chinchipe province in Ecuador. Trans R Soc Trop Med Hyg 1996;90;241-243
- ¹¹⁰ Mera B. Present status of human bartonellosis. Bol Oficina Sanit Panam 1943;22:304-309.
- ¹¹¹ Patiño L, Cifuentes P, Sánchez H. El primer caso de bartonellosis (fiebre verrucosa del guáitara o verruga) en Bogotá Bol Of Sanit Panam 1940;19:1070-1077.
- ¹¹² Ellis BA, Rotz LD, Leake JAD, Samalvides F, Bernable J, Ventura G, Padilla C, Villaseca P, Beati L, Regnery R, Childs JE, Olson JG, Carrillo CP. An outbreak of acute bartonellosis (Oroya fever) in the Urubamba región of Perú 1998. Am J Trop Med Hyg 1999;61:344-349.
- ¹¹³ Montoya M, Maguiña C, Vigo B, Caparo R, Briceño E, Astorga L, Ventocilla P, Pérez E, Guerra H. Brote epidémico de enfermedad de Carrión en el valle sagrado de los incas (Cuzco). Bol Soc Per Med Int 1998;11:170-76
- ¹¹⁴ Matteelli A, Castelli F, Spinetti A, Bonetti F, Graifenberghi S, and Carosi G. Short report: verruga peruana in an italian traveler from Perú. Am J Trop Med Hyg 1994;50:143-44.
- ¹¹⁵ Rebagliati R. Verruga peruana (Enfermedad de Carrión). Imprenta Torres Aguirre. Lima 1940.
- ¹¹⁶ Maguiña C, Cobos M, Gómez L, Paz J, Huatuco G, Grados O, Falconí E, Guerra H, Guillen A, Leo E, Seminario L. Nueva zona endémica de bartonellosis en la selva peruana:

-
- San José de Lourdes, comunidad de los Naranjos, Cajamarca. Libro de resúmenes de trabajos libres. III Congreso Peruano de Enfermedades Infecciosas y Tropicales. Lima 1993.
- ¹¹⁷ Loja D, Ormea A, Ricse R, Vilca M. Bartonellosis: reporte de un caso procedente de zona no endémica y presentación inusual. *Bol Soc Peru Med Interna* 1994;7:24-27
- ¹¹⁸ Sánchez E, Maguiña C, Gotuzzo E, Chirinos J. Informe de nuevas áreas endémicas de bartonellosis humana en el Perú. Libro de resúmenes de trabajos libres. V Congreso Peruano de Enfermedades Infecciosas y Tropicales. Lima 1997
- ¹¹⁹ Sánchez E, Maguiña C, Gotuzzo E, Guerra H, Ventocilla P, Pérez E. Study of New endemic areas of human bartonellosis in Perú. Abstracts # PS020, 24th International Congress Internal Medicine, Lima 1998.
- ¹²⁰ Amano Y, Rumbela J, Knobloch J, Olson J, Kron M. Bartonellosis in Ecuador: serosurvey and current status of cutaneous verrucous disease. *Am J Trop Med Hyg* 1997;57:174-179
- ¹²¹ Ogusuku E, Canales JJ, Pérez JE. Descripción de *Lutzomyia gonzaloi n. sp.*, y de *L. monzonensis n. sp.* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) y dos nuevos registros de *Phlebotominae* para el Perú. *Rev Per Ent* 1997;40:71-78.
- ¹²² Hertig M. *Phlebotomus* and Carrión's diseases. *Am J Trop Med Hyg* 1942;22 (suppl): 1-80
- ¹²³ Herrer A, Christensen HA. Implication of *Phlebotomus* sand flies as vectors of bartonellosis and leishmaniasis as early as 1764. *Science* 1975;190:154-155.
- ¹²⁴ Noguchi H, Shannon RC, Tilden EB, Tyler JR. Etiology of Oroya fever XIV. The insect vectors of Carrión's diseases. *J Exp Med* 1929;49:993-1008.
- ¹²⁵ Shannon RC, Entomological investigations in connection with Carrión's diseases. *Am J Trop Med Hyg* 1929;10:78-111
- ¹²⁶ Cáceres AG. Distribución geográfica de *Lutzomyia verrucarum* vector de la bartonellosis humana en el Perú. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 1993;35(6)485-490.
- ¹²⁷ Wallbanks KR, Moore JS, Bennett LR, Soren R, Molineux DH, Carlin JM, Pérez JE. Aphid derived sugars in the neotropical sandfly-*Lutzomyia peruensis*. *Trop Med Parasitol* 1991;42:60-62.
- ¹²⁸ Cáceres AG, Quate L, Troyes L, Guevara Z, Revilla L, Quezada E, Torrejon M, Chuquimbalqui I, Huanqui L, Yañez C. Bartonellosis humana en Amazonas, Perú. Aspectos entomológicos. *Folia Dermatologica* 1998;9:33-35.
- ¹²⁹ Cáceres AG, Bianchi E, Le Pont F, Velásquez C. La fauna flebotómica de tres provincias de la Región Nor Oriental del Marañón, Perú. *Rev Soc Bras Med Trop* 1995;28:215-221.
- ¹³⁰ Cáceres A. *Lutzomyia* spp. (Diptera:Psychodidae) del valle de Marca-Recuay (Ancash, Perú) *Rev Per Ent* 1989;32:29-32.
- ¹³¹ Herrer A, Hertig M. Observaciones sobre *Phlebotomus* y *Anopheles* en el Callejón de Huaylas. *Rev Med Exp* 1943;2(1)37-46.
- ¹³² Cáceres A, Solano L, Vizcarra H. *Lutzomyia* spp. (Diptera:Psychodidae) en una zona verrucogena de la provincia de Castrovirreyna, Huancavelica, Perú. *Rev Per Med Trop UNMSM* 1991;5:100-104
- ¹³³ Pérez JE, Ogusuku E, Monje J, Paz L, Nieto E, Guerra H. Ocurrencia estacional de *Lutzomyia* spp. (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) en los andes peruanos. *Rev Per Ent* 1993;35:4-6.
- ¹³⁴ Andre R, Korves C, Fernandez R, Carbajal F, Laughlin L, Watts D. Host 'Feeding behavior of *Lutzomyia verrucarum* in and around the house of bartonellosis patients in Perú. Program and abstracts of the 47th annual meeting of American Society of Tropical Medicine and Hygiene. *Am J Trop Med Hyg* 1998;59:212.
- ¹³⁵ Gordon SW, Andre R, Roberts DR, Marston EL, Fernández R, Carbajal F, Lughlin L, Watts D, and Olson JG. Partial citrato synthase gene sequences of *Bartonella* species detected by PCR in peruvian sand flies. Program and abstracts of the 47th annual meeting of American Society of Tropical Medicine and Hygiene. *Am J Trop Med Hyg* 1998;59:212-213.
- ¹³⁶ Andre R, Gordon S, Masuoka P, Korves C, Fernandez R, Rejmankova E, Roberts D, Carbajal F, Laughlin L, Zyzak M, Gonzales H, Watts D. Preliminary determination of the vector of human bartonellosis in caraz, Peru through the use of ELISA, PCR, and remote sensing technologies. 1st International conference on 'Bartonella as emerging pathogens'. Tunbingen, Germany 1999.

- ¹³⁷ Pérez JE, Ogusuku E, Inga R, López M, Monje J, Paz L, Nieto E, Arevalo J, Guerra H. Natural *Leishmania* infection of *Lutzomyia* spp. In Perú. Trans R Soc Trop Med Hyg 1994;88:161-164.
- ¹³⁸ Noguchi H. Etiology of Oroya Fever. V. The experimental transmission of *Bartonella bacilliformis* by ticks (*Dermacentor andersoni*). J Exp Med 1926;44:7129-734.
- ¹³⁹ Schouls LM, Van de Po I, Rijpma SGT, Schot CS. Detection and identification of *Ehrlichia*, *Borrelia burgdorferi* Sensu Lato, and *Bartonella* species in Dutch *Ixodes ricinus* ticks. J Clin Microbiol 1999;37:2215-2222.
- ¹⁴⁰ Lucey D, Dolan MJ, Moss CW, García M, Hollis DG, Wegner S, Morgan G, Almeida R, Leong D, Greisen KS, Welch DF, Slater LN. Relapsing illness due *Rochalimaea henselae* in immunocompetent host: implication for therapy and new epidemiological associations. Clin Infect Dis 1992;14:683-688.
- ¹⁴¹ Alexander JB, Takaoka H, Eshita Y, Gómez EA, Hashigushi Y. New records of phlebotomine sand flies (Diptera: *Psychodidae*) from Ecuador. Mem Inst Oswaldo Cruz 1992;87:123-130.
- ¹⁴² Lucero J, Pachas P, Jaramillo K, Del Aguila R, Minaya P. Susceptibilidad de *Lutzomyia verrucarum* a cyflutrin, deltamethrin y alfacipermethrin al 0.1% en el Callejón de Huaylas, departamento de Ancash. Libro de resúmenes de trabajos libres, abstract # 391. VI Congreso Peruano de Enfermedades Infecciosas y Tropicales. Lima 1999.
- ¹⁴³ Lucero J, Pachas P, Jaramillo K, Del Aguila R, Minaya P. Susceptibilidad de *Lutzomyia verrucarum* a cyflutrin, deltamethrin y alfacipermethrin al 0.1% en el Callejón de los Conchucos, departamento de Ancash. Libro de resúmenes de trabajos libres, abstract # 392. VI Congreso Peruano de Enfermedades Infecciosas y Tropicales. Lima 1999.
- ¹⁴⁴ Carney WP, Gordon SW, Hohenhaus GS, Gozalo A, Watts D, Gonzales A, Regnery RL, Olson JG, Rooney J, Marston EL. Epidemiology of bartonellosis in Peru: Animal reservoir studies. 1st International conference on 'Bartonella as emerging pathogens'. Tubingen, Germany 1999.
- ¹⁴⁵ Cooper P, Guderian R, Paredes W, Daniels R, Perera D, Espinel M, Valdez M, Griffin G. Bartonellosis in Zamorra Chinchipe province in Ecuador. Trans R Soc Trop Med Hyg 1996;90:241-243
- ¹⁴⁶ Kosoy MY, Regnery RL, Tzianabos T, Marston EL, Jones DC, Green D, Maupin GO, Olson JG, Childs JE. Distribution, diversity, and host specificity of *Bartonella* in rodents from the southeastern United States. Am J Trop Med Hyg 1997;57:578-588.
- ¹⁴⁷ Birtles RJ, Harrison TG. *Grahamella* in small woodland mammals in the U.K.: isolation, prevalence and host specificity. Ann Trop Med Parasitol 1994;88:317-327.
- ¹⁴⁸ Carney WP, Gordon SW, Hohenhaus GS, Gozalo A, Watts D, Ponce C, Regnery RL, Olson JG, Rooney J, Marston EL. Epidemiology of bartonellosis in Peru. Animal reservoir studies. Program and abstracts of the 47th annual meeting of American Society of Tropical Medicine and Hygiene. Am J Trop Med Hyg 1998;59:363.
- ¹⁴⁹ Birtles RJ, Canales J, Ventosilla P, Alvarez E, Guerra H, Llanos-Cuentas A, Raoult D, Doshi N, Harrison TG. Survey of *Bartonella* species infecting intradomicillary animals in the Huayllacayllan valley, Ancash, Perú a region endemic for human bartonellosis Am J Trop Med Hyg 1999;60:799-805
- ¹⁵⁰ Gurfield AN, Boulouis HJ, Chomel BB, Heller R, Kasten RW, Yamamoto K, Piemont Y. Coinfection with *Bartonella clarridgeiae* and *Bartonella henselae* and with different *Bartonella henselae* strains in domestic cats. J Clin Microbiol 1997;35:2120-2123.
- ¹⁵¹ Anderson BE and Neuman MA. *Bartonella* spp. As emerging human pathogens. Clin Microbiol Rev 1997;10:203-219.
- ¹⁵² Noguchi H. Etiology of Oroya Fever. II Viability of *Bartonella bacilliformis* in cultures and in the preserved blood and an excised nodule of *Macacus rhesus*. J Exp Med 1926;44:533-538.
- ¹⁵³ La Scola B, Raoult D. Culture of *Bartonella quintana* and *Bartonella henselae* from human samples: a 5-year experience (1993-1998) J Clin Microbiol 1999;37:1899-1905
- ¹⁵⁴ Clarridge III JE, Raich TJ, Pirwani D, Simon B, Tsai L, Rodríguez MC, Regnery R, Zollo A, Jones DC, Rambo C. Strategy to detect and identify *Bartonella* species in routine clinical laboratory yields *Bartonella henselae* from human immunodeficiency virus-positive patient and unique *Bartonella* strain from his cat. J Clin Microbiol 1995;33:2107-2113.

-
- ¹⁵⁵ Roux V, Raoult D. Inter- and intraspecies identification of *Bartonella (Rochalimaea)* species. J Clin Microbiol. 1995;33:1573-1579.
- ¹⁵⁶ Zbinden R, Hochli M, Nadal D. Intracellular location of *Bartonella henselae* cocultivated with Vero cells and used for an indirect fluorescent-antibody test. Clin Diagn Lab Immunol. 1995;2:693-695.
- ¹⁵⁷ Welch DF, Hensel DM, Pickett DA, San Joaquin VH, Robinson A, Slater LN. Bacteremia due to *Rochalimaea henselae* in a child: practical identification of isolates in the clinical laboratory. J Clin Microbiol. 1993;31:2381-2386.
- ¹⁵⁸ Joblet C, Roux V, Drancourt M, Gouvernet J, Raoult D. Identification of *Bartonella (Rochalimaea)* species among fastidious gram-negative bacteria on the basis of the partial sequence of the citrate-synthase gene. J Clin Microbiol. 1995;33:1879-1883.
- ¹⁵⁹ Norman AF, Regnery R, Jameson P, Greene C, Krause DC. Differentiation of *Bartonella*-like isolates at the species level by PCR-restriction fragment length polymorphism in the citrate synthase gene. J Clin Microbiol. 1995;33:1797-1803.
- ¹⁶⁰ Howe C. Carrión's disease: immunologic studies. Arch Intern Med 1943;72:147-67.
- ¹⁶¹ Knobloch J, Solano L, Alvarez O, Delgado E. Antibodies to *Bartonella bacilliformis* as determined by fluorescence antibody test, indirect haemagglutination and ELISA. Trop Med Parasit 1985;36:183-185
- ¹⁶² Mallqui V, Speelman EC, Verástegui M, Maguiña C, Pinell P, Lavarello R, Delgado J, Kosek M, Romero S, Arana Y, Gilamn RH. Sonicated diagnostic immunoblot for bartonellosis. Clin Diagn Lab Immunol 2000;7:1-5.
- ¹⁶³ Reese JD, Morrison ME, Fowler EM. Complement fixation and weil-Felix reaction in rabbits inoculated with *Bartonella bacilliformis*. J Immunol 1950;65:355-58
- ¹⁶⁴ Drancourt M, Mainardi J, Brouqui P, Vandenesch F, Carta A, Lehenert F, Etienne J, Goldstein F, Acar J, Raoult D. *Bartonella (Rochalimaea) quintana* endocarditis in three homeless men. N Engl J Med 1995;332:419-423.
- ¹⁶⁵ La Scola B and Raoult D. Serological cross reactions between *Bartonella quintana*, *Bartonella henselae*, and *Coxiella burnetii*. J Clin Microbiol 1996;34:2270-2274
- ¹⁶⁶ Maurin M, Eb F, Etienne J, Raoult D. Serological cross-reaction between *Bartonella* and *Chlamydia* species: implications for diagnosis. J Clin Microbiol 1997;35:2283-2287.
- ¹⁶⁷ La Scola B, Raoult D. Serological cross-reactions between *Bartonella quintana*, *Bartonella henselae*, and *Coxiella burnetii*. J Clin Microbiol 1996;34:2270-2274.
- ¹⁶⁸ Chamberlin J, Gordon S, Laughlin L, Regnery R, Olson J, Romero S, Gonzalo A. Serologic response to *Bartonella bacilliformis* antigen in suspected human bartonellosis. Program and abstracts of the 47th annual meeting of American Society of Tropical Medicine and Hygiene. Am J Trop Med Hyg 1998;59:228.
- ¹⁶⁹ Ministerio de Salud. Doctrinas, normas y procedimientos para el control de bartonellosis o Enfermedad de Carrión en el Perú. Lima 1998.
- ¹⁷⁰ Chamberlin J, Masuoka P, Andre R, Laughlin L, Romero S, Solorzano N, González H, Watts D. Geographic information systems and the selection of priority áreas for control of sand fly-transmitted bartonellosis in Peru. Abstracts of the 48th annual meeting of the American Society of Tropical Medicine and Hygiene. Am J Trop Med Hyg 1999;61:S432
- ¹⁷¹ Masuoka PM, Andre R, Rejmankova E, Montgomery BC, Chamberlin J, Carbajal F, Laughlin L, Gonzales H, Watts D. Remote Sensing and mapping of bartonellosis in Peru. Abstracts of the 47th annual meeting of American Society of Tropical Medicine and Hygiene. Am J Trop Med Hyg 1998;59:362.
- ¹⁷² Gotuzzo E, Maguiña C. Treatment of bartonellosis (letter). J Travel Med 1995;2:278
- ¹⁷³ Sobraqués M, Maurin M, Birtles R, Raoult D. In vitro susceptibilities of four *Bartonella bacilliformis* strain to 30 antibiotic compounds. Antimicrob Agents Chemother 1999;43:2090-2092.
- ¹⁷⁴ Ives T, Manzewitsch, Regnery RL, Butts JD, Kebede M, In vitro susceptibilities of *Bartonella henselae*, *B. quintana*, *B. elizabethae*, *Rickettsia rickettsii*, *R. conorii*, *R. acari*, and

R. prowasekii to macrolide antibiotics as determined by immunofluorescent-antibody of infected vero cell monolayers. *Antimicrob Agents Chemother* 1997;41:578-582.

¹⁷⁵ Maurin M, Gasquet S, Ducoo C, Raoult D. MICs of 28 antibiotic compounds for 14 *Bartonella* (formerly *Rochalimaea*) isolates. *Antimicrob Agents Chemother* 1995;39:2387-2391.

¹⁷⁶ Urtega O, Payne EH. Treatment of the acute febrile phase of Carrión's disease with chloramphenicol. *Am J Trop Med Hyg* 1955;4:507-511.

¹⁷⁷ Guzmán HF, Erazo PE, Esteves LE, Dedios MI, Guillen RM, Huamán G, Hernández AV. Clínica y tratamiento de la bartonelosis en el Hospital de Apoyo de Huari, Ancash: Estudio de 44 casos. Libro de resúmenes de trabajos libres. Abstract # 139. VI Congreso Peruano de Enfermedades Infecciosas y Tropicales. Lima 1999.

¹⁷⁸ Maguiña C, Lavarello R. Ciprofloxacino (oral) en el tratamiento de la fase eruptiva de la Enfermedad de Carrión. Libro de resúmenes de trabajos libres. V Congreso Peruano de Enfermedades Infecciosas y Tropicales. Lima 1997.

¹⁷⁹ Bautista R, Maguiña C. Tratamiento de verruga peruana con azitromicina: primer reporte. Libro de resúmenes de trabajos libres. Abstract # 109. VI Congreso Peruano de Enfermedades Infecciosas y Tropicales. Lima 1999.