

UNIVERSIDAD PRIVADA ANTENOR ORREGO
FACULTAD DE MEDICINA HUMANA
ESCUELA DE MEDICINA HUMANA



“CARGA PARASITARIA DE BARTONELLA BACILLIFORMIS EN ERITROCITOS Y SU EFECTO SOBRE LA SEVERIDAD DE LA ENFERMEDAD DE CARRIÓN DURANTE LA FASE AGUDA”

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE
MÉDICO CIRUJANO**

AUTOR:

CHRISTIAN RONALD, ESPINOZA DIAZ

ASESOR:

MARCO ANTONIO, ZÁRATE ARCE

TRUJILLO - PERU
2018

“CARGA PARASITARIA DE BARTONELLA BACILLIFORMIS EN ERITROCITOS
Y SU EFECTO SOBRE LA SEVERIDAD DE LA ENFERMEDAD DE CARRIÓN
DURANTE LA FASE AGUDA”

JURADO:

Dr. Alex Castañeda Sabogal
PRESIDENTE

Dr. Víctor Fernández Gómez
SECRETARIO

Dr. Niler Segura Plasencia
VOCAL

ASESOR:

Marco Antonio, Zárate Arce

Docente asociado de Microbiología Médica de la Facultad de Medicina Humana de la
Universidad Privada Antenor Orrego.

DEDICATORIA

A Carmen, mi Madre, cuyo amor es mi motor y motivo, quien impregnó en mí, el amor a la vida y a las cosas que amo hacer.

A Raúl, mi Padre, quien me enseñó el mundo, quien me enseñó la naturaleza y mi amor por ella.

A Susana, mi abuela, quien creyó en mi desde el primer día en que vi el mundo.

A mis Hermanas por su apoyo incondicional en todo momento de mi vida y mi carrera.

A Ivanna y Anthony, mis sobrinos.

A Daniel Alcides Carrión, quien me enseñó que amar y descubrir la verdad trasciende más allá de la vida misma.

A Albert Einstein, quien ya no está en este mundo, pero su luz ilumina todos los días, mi inquietud, mi rebeldía, mis ganas de cambiar el mundo, mi disensión, mi inconformismo, mi amor por la ciencia.

“La mente no debe considerarse una vasija para llenar sino una fogata para encender”

Plutarco

AGRADECIMIENTOS

A Dios por el Universo entero.

A mi familia por su incommensurable apoyo y amor.

Al Dr. Marco Zárate Arce, por su asesoramiento y paciencia para el desarrollo de mi investigación.

A la Licenciada Gloria Espinoza Zarsosa, quien con su paciencia, me permitió analizar los materiales de mi investigación.

Al Dr. Douglas López de Guimaraes, por el aprendizaje clínico valioso que imparte.

Al Dr. Ciro Maguiña Vargas, por sus valiosas sugerencias.

A mis pacientes, quienes son la razón de mi profesión.

SIGLAS Y ABREVIATURAS

HUVECs	:	Human Umbilical Vein Endothelial Cells.
ROC	:	Receiver Operating Characteristics.
IP	:	Índice parasitario.
IC	:	Índice de Confiabilidad.
NC	:	Nivel de Confianza.
OR	:	Odds Ratio.
HC	:	Historia clínica.
LP	:	Lámina periférica.
INS	:	Instituto Nacional de Salud.
FA	:	Fosfatasa Alcalina.
TGO	:	Transaminasa glutámica oxalacética.
TGP	:	Transaminasa glutámica pirúvica.
ICC	:	Insuficiencia Cardíaca Congestiva.
SDMO o DMO	:	Síndrome de Disfunción Multiorgánica.
SIRS	:	Systemic Inflammatory Response Syndrome.
DE	:	Desviación Estándar.
HVRG	:	Hospital Víctor Ramos Guardia - Huaraz.
TRALI	:	Transfusion-Related Acute Lung Injury.

ÍNDICE

	<i>Página</i>
DEDICATORIA	iv
AGRADECIMIENTO	vi
SIGLAS Y ABREVIATURAS	vii
ÍNDICE	viii
RESUMEN	ix
ABSTRACT	x
I. INTRODUCCIÓN	01
1. Antecedentes del problema	02
2. Justificación	04
3. Problema	05
4. Hipótesis	05
5. Objetivos	05
II. MARCO TEÓRICO	07
III. MATERIAL Y METODOS	14
1. MATERIAL	14
1.1. Población	14
1.1.1. Población diana o universo	14
1.1.2. Población de estudio	14
1.1.3. Muestra	16
2. MÉTODOS	17
2.1. Diseño de estudio	17
2.2.1. Tipo de estudio	17
2.2.2. Diseño específico	17
2.2.3. Variables	18
2.2.4. Definiciones operacionales	18
2.2. Procedimientos	22
2.3. Recolección y análisis de datos	23
2.3.1. Estadística descriptiva	23
2.3.2. Estadística inferencial	23
2.3.3. Estadígrafo de estudio	24
2.4. Consideraciones éticas	25
IV. RESULTADOS	26
V. DISCUSIÓN	45
VI. CONCLUSIONES	51
VII. RECOMENDACIONES	52
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	54
IX. ANEXOS	60

RESUMEN

Algunas líneas de evidencia sugieren que la carga parasitaria de *Bartonella bacilliformis* favorece la presentación de complicaciones severas en la enfermedad de Carrión durante la fase aguda, con el fin de dar nuevas luces a aquellas observaciones, se realizó un estudio retrospectivo que relaciona el comportamiento clínico con hallazgos microbiológicos.

OBJETIVOS: Determinar el efecto de la carga parasitaria de *Bartonella bacilliformis* en eritrocitos sobre el desarrollo de complicaciones severas en la enfermedad de Carrión durante la fase aguda.

MATERIAL Y MÉTODOS: Se llevó a cabo un estudio observacional, retrospectivo, analítico de casos y controles, la información se obtuvo a partir del registro de enfermedades metaxénicas del Hospital Víctor Ramos Guardia - Huaraz, se trabajó con un total de 159 muestras de lámina periférica tomados en el momento del ingreso del paciente, y que cumplieron con los requisitos para el análisis, repartidos en 53 para el grupo de casos y 106 para el grupo de controles, el análisis estadístico consistió en la validación de la asociación de ambas variables mediante el test chi-cuadrado (X^2) se empleó el estadígrafo odds ratio (OR) para medir la fuerza de asociación, complementariamente se ejecutó un análisis correlacional y análisis de detección de señal o de predictibilidad empleando la curva ROC.

RESULTADOS: La carga parasitaria total tuvo débil asociación para las complicaciones severas mejores observados para shock, neurobartonelosis y muerte se analizó con el estadístico chi-cuadrado (X^2). Por otra parte, el número de bacterias ≥ 10 si demostró estar asociada a complicaciones ($X^2 = 31,25$ OR: 10,84 $P < 0,05$) y cada una de las variables estudiadas (muerte: $X^2 = 58,181$; ICC: $X^2 = 39$; neurobartonelosis: $X^2 = 38,7$; shock: $X^2 = 43,2$; sepsis: $X^2 = 64,7$; DMO: $X^2 = 46,7$; trombocitopenia: $X^2 = 20,6$). Hubo correlación positiva más evidente en la carga parasitaria por cada eritrocito. El análisis de la curva ROC refleja el mismo patrón antes mencionado.

CONCLUSIONES: Se halló efecto de la carga parasitaria de *Bartonella bacilliformis* sobre la presentación de complicaciones severas, siendo controversial cuando se analizó la carga parasitaria total, de manera opuesta la carga parasitaria por cada eritrocito de *Bartonella bacilliformis* estuvo fuertemente asociada a las complicaciones medidas en este estudio.

PALABRAS CLAVE: *Bartonella bacilliformis*; Carga parasitaria; Enfermedad de Carrión; Bartonelosis. (Fuente: DeCS BIREME).

ABSTRACT

Some lines of evidence suggest that the parasitic load of *Bartonella bacilliformis* advantage the presentation of severe complications in Carrión's disease during the acute phase, in order to give new lights to the observations, a retrospective study was conducted that link the clinical behavior with findings microbiological.

OBJETIVES: To determine the effect of the parasitic load of *Bartonella bacilliformis* on erythrocytes about the development of severe complications in Carrión's disease during the acute phase.

MATERIAL AND METHODS: An observational, retrospective, analytical case-control study was carried out, information was obtained from the registry of metaxenics diseases of the Víctor Ramos Guardia Hospital - Huaraz, we worked with a total of 159 samples of peripheral sheet taken in the moment of the patient's admission, and accomplished with the requirements for the analysis, it was distributed in 53 for the group of cases and 106 for the group of controls, the analysis statistical consisted in the validation of the association of both variables through the chi-square test (X^2) was used by the odds ratio (OR) to measure the strength of association, in addition a correlational analysis was carried out and analysis of signal detection or predictability using the ROC curve.

RESULTS: The total parasitic load had weak association for the best severe complications observed for shock, neurobartonellosis and death was analyzed with the chi-square (X^2) For other side, the number of bacteria ≥ 10 was it proved to be associated with complications ($X^2 = 31.25$ OR: 10.84 P < 0.05) and each of the variables studied (death: $X^2 = 58,181$; ICC: $X^2 = 39$; neurobartonellosis: $X^2 = 38.7$, shock: $X^2 = 43.2$, sepsis: $X^2 = 64.7$, BMD: $X^2 = 46.7$, thrombocytopenia: $X^2 = 20.6$). There was a more evident positive correlation in the parasitic load for each erythrocyte. The analysis of the ROC curve reflects the same pattern mentioned above.

CONCLUSIONS: The effect of the parasitic load of *Bartonella bacilliformis* on the presentation of severe complications was found, being controversial when the load was analyzed parasitic total. In opposite way the parasitic load for each erythrocyte of *Bartonella bacilliformis* was strongly associated with the complications measured in this study.

KEYWORDS: Carrion's disease; Bartonellosis; Parasite load; *Bartonella bacilliformis*. (Source: MeSH PubMed).

I. INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Carrión es una enfermedad metaxénica de naturaleza bifásica causado por la bacteria *Bartonella bacilliformis*, cuyo vector de propagación es el mosquito de arena o *Phlebotomus* de la especie *Lutzomia verrucarum*,^[1] es típica de los valles interandinos de Ecuador, Perú y Bolivia, su presencia ha sido documentada desde la época pre Incaica. Esta enfermedad, catalogada como emergente, nunca ha sido erradicada, muy por el contrario, se presenta a manera de epidemias estacionales que coinciden con eventos climáticos globales^[2] y sigue diezmando periódicamente a la población que la padece, por su elevada mortalidad y por la deficiente cobertura del sistema de salud. En una publicación del 2014 realizada por el Instituto de Salud Global de Barcelona se califica a la enfermedad de Carrión como “olvidada” tan mortal como el Ébola y mucho más letal que la peste.^[3] En el prólogo del libro titulado “Bartonellosis o enfermedad de Carrión. Nuevos aspectos de una vieja enfermedad” el investigador Eduardo Gotuzzo subraya: “Bartonellosis es una enfermedad que el mundo médico conoce, que fue estudiada en el Perú y que representa un problema geográfico muy caracterizado... El reconocimiento reciente de que algunas bacterias deben ser reclasificadas como Bartonellas aumentando el género *Bartonella* spp. a otras especies como *Rochalimae henselae*, *Rochalimae Quintana* y otros, es un reconocimiento mundial a los estudios de *Bartonella bacilliformis*. Esta decisión tomada de los últimos 4 años por el mundo científico, permite fortalecer esta consideración sobre el reconocimiento a la medicina peruana”.^[4]

Es preciso aclarar que la denominación “enfermedad de Carrión” es una construcción epónima en honor al mártir de la medicina peruana: Daniel Alcides Carrión, muy usada por investigadores peruanos y por muchos autores en sendas publicaciones internacionales de prestigio, pero no es la única denominación correcta de la enfermedad, existiendo otros descriptores en ciencias de la salud aceptados como: Bartonelosis, Fiebre de la Oroya (Oroya fever), Carrión’s disease, Bartonelosis humana y Verruga Peruana.^[5] El avance vertiginoso de la ciencia nos permite explicar en detalle la etiología y la fisiopatología de las enfermedades con enfoque molecular, lo que ha llevado al cambio de paradigma de la práctica de

la medicina a una “medicina de precisión” por ello con fines de rigor científico para el presente trabajo de investigación el empleo del agente causal *Bartonella bacilliformis* es suficiente para delimitar el problema en cuestión y no llevar a sesgos de confusión debidos al uso de distintos términos. Otro aspecto a aclarar es el término “carga parasitaria” refiriéndose al comportamiento simbiótico de la bacteria *Bartonella bacilliformis* comportándose como parásito dentro del eritrocito.

El departamento de Ancash es históricamente el área endémica con más incidencia y prevalencia de enfermedad de Carrión, se han desarrollado en este departamento muchos trabajos de investigación que ya son clásicos en la literatura médica peruana y mundial.^[4, 6] La enfermedad de Carrión, sigue estando prevalente en Ecuador, Perú y Bolivia. En el departamento de Ancash durante la colonia se realizó históricamente la primera descripción científica de la existencia de esta enfermedad y desde entonces nunca se ha documentado erradicación alguna. Se sabe que muchos pacientes portadores de la bacteria no desarrollan la enfermedad, y en aquellos que si la desarrollan existe una amplia gama de manifestaciones que en casi la mitad de pacientes suele ser letal.

1. Antecedentes del problema

Alberto Hurtado y colaboradores, concluyeron que una de las características más importantes de la anemia de la enfermedad de Carrión es la rapidez de su evolución quizá solo igualada por la hemorragia de ruptura de vaso sanguíneo, ellos observaron que el diámetro de los hematíes parasitados fue menor que el de los glóbulos no portadores del germen, además notificaron la variación de gérmenes intraeritrocitarios presentan una variación de entre 1 a 10 gérmenes por cada eritrocito pudiendo ser este un indicador de rápida progresión.^[7]

Ricketts y colaboradores, en un estudio clínico de la enfermedad de Carrión observaron una parasitosis de hasta 20 gérmenes por cada eritrocito, plantearon la posibilidad de que la severidad y mortalidad en la fase aguda de la enfermedad estaría influenciada por la carga parasitaria, también en este mismo estudio observaron que la complicación más frecuente encontrada durante la fase aguda fue el compromiso neurológico o neurobartonellosis.^[8]

En un estudio prospectivo realizado por Montoya M. y Maguiña C. que se estudió a 26 pacientes durante un brote epidémico en el Valle Sagrado de los Incas (Cuzco) todos ellos con frotis positivo para *Bartonella bacilliformis*, se encontró que entre las complicaciones con más frecuencia halladas fueron: taquicardia 100 %, taquipnea 97 %, malestar general 85 %, fiebre 81 %, visceromegalia 75 %, cefalea 73 %, anemia severa 71 %, ictericia 62 %, artralgias 46 %, púrpura 40 %, linfadenomegalia 25 %, compromiso neurológico 31 %, shock al ingreso 15 %. El tiempo de enfermedad promedio fue de 8 días (rango 2-22 días). 77% tuvo evolución favorable y 33 % (6 pacientes) fallecieron. Además en este estudio se concluyó que los factores asociados a mortalidad fueron: Shock, edad menor a 1 año o edad mayor a 32 años, niveles de bilirrubina total mayores a 3.7 mg/dL, 12 000 leucocitos/mm³, índice parasitario mayor a 80 % en frotis sanguíneo.^[9]

López D. et al. plantearon la hipótesis en base a sus observaciones que para el pronóstico de la enfermedad de Carrión, pueda ser importante el número de bacterias que se observa en cada eritrocito durante la evolución,^[10, 11] además este mismo autor en un estudio hecho en el hospital de Huaraz realizado para describir neurobartonellosis, halló un promedio de índice parasitario (IP) de 78% en fallecidos y 72,5 % de IP en sobrevivientes con dicha complicación.^[11, 78]

Maguiña C. reportó 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 pericárdico. La letalidad en este grupo de pacientes fue 9.09 %. Así mismo 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 %.^[12]

Maguiña C., también, en un estudio evaluó los factores de riesgo para morir por enfermedad de Carrión en pacientes hospitalizados en el Hospital Nacional Cayetano Heredia de Lima y reportó 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 reportó además que la hipoalbuminemia (albúmina < 2.8g/L), leucocitos persistentes, hiponatremia y la alteración de las pruebas hepáticas (elevación de la TGO, TGP, FA) también están asociados a una mayor letalidad.^[12, 13]

López D. reportó disfunción orgánica multisistémica en un estudio realizado en el Hospital de Huaraz en 30 casos de Enfermedad de Carrión grave complicada (30 %) reunían los criterios para esta complicación. Las complicaciones más frecuentes fueron neurobartonellosis, taponamiento cardíaco, insuficiencia renal, síndrome de distrés respiratorio del adulto, púrpura trombocitopénica, insuficiencia respiratoria aguda. 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.^[11] Arias-Stella refirió que la forma aguda anemizante es la forma más grave con una mortalidad que puede llegar al 90 % sin tratamiento oportuno, además dentro del amplio espectro de síntomas resalta que se puede presentar a las pocas horas de iniciados los síntomas, terminando en shock, trastorno del sensorio y muerte.^[14] Reynafarge et al. demostró utilizando un radioisótopo del hierro, que el tiempo de vida de los eritrocitos parasitados durante la fase anémica de la enfermedad de Carrión está notablemente acortado, concluyendo de modo directo que la anemia de esta enfermedad es de tipo hemolítico.^[15] En este sentido Zahringer U. y colaboradores abordaron experimentalmente en células HUVECs la importancia y el rol hemotrófico que tiene *Bartonella bacilliformis* y la importancia de la flagelina como uno de los principales actores en la rápida parasitemia y anemia que se presenta durante la fase aguda.^[16]

2. Justificación

El presente trabajo de investigación tiene como fin cubrir el déficit en investigación sobre enfermedades emergentes como lo es la bartonellosis y que han afectado a diversas zonas del Perú entre ellas siendo la más predominante, el departamento de Ancash, para ello se evaluó la carga parasitaria de la bacteria *Bartonella bacilliformis* en eritrocitos sobre el desarrollo de complicaciones severas que padece el paciente a través de sencillos elementos diagnósticos que consisten en observación y cuantificación al microscopio de la carga bacteriana en eritrocitos, los resultados de la investigación pretenden hallar una relación de eventos adversos para el paciente que desarrolla la enfermedad como lo son las complicaciones severas, que en grado extremo terminaría llevando al paciente a un síndrome de disfunción multisistémica y muerte, de tal manera que se pueda mejorar el pronóstico del paciente y una adecuada línea de tratamiento. Además, los resultados de este trabajo deben ser punto de partida para posteriores investigaciones sobre el valor predictivo que la microbiología juega en esta enfermedad.

3. Problema

¿La carga parasitaria de *Bartonella bacilliformis* en eritrocitos favorece la presentación de formas severas en la enfermedad de Carrión durante la fase aguda?

4. Hipótesis

4.1. Hipótesis nula (H_0)

La carga parasitaria de *Bartonella Bacilliformis* en eritrocitos no favorece la presentación de formas severas en la enfermedad de Carrión durante la fase aguda.

4.2. Hipótesis alterna (H_1)

La carga parasitaria de *Bartonella Bacilliformis* en eritrocitos favorece la presentación de formas severas en la enfermedad de Carrión durante la fase aguda.

5. Objetivos

5.1. Objetivo General

Determinar si la carga parasitaria de *Bartonella bacilliformis* en eritrocitos favorece la presentación de formas severas en la enfermedad de Carrión durante la fase aguda.

5.2. Objetivos Específicos

- Determinar la asociación entre la carga parasitaria total de *Bartonella bacilliformis* en eritrocitos y la presentación de complicaciones severas de los pacientes.
- Determinar la asociación entre la carga parasitaria de *Bartonella bacilliformis* por cada eritrocito y la presentación de complicaciones severas que presentaron los pacientes.

- Determinar la asociación entre la carga parasitaria total de *Bartonella bacilliformis* y cada una de las complicaciones severas recolectadas para este estudio (Muerte, ICC, Neurobartonelosis, Shock, Sepsis, DMO, Trombocitopenia) de pacientes con la enfermedad de Carrión.
- Determinar la asociación entre la carga parasitaria de *Bartonella bacilliformis* por cada eritrocito cada una de las complicaciones severas recolectadas para este estudio (Muerte, ICC, Neurobartonelosis, Shock, Sepsis, DMO, Trombocitopenia) de pacientes con la enfermedad de Carrión.
- Hallar la correlación entre la carga parasitaria total de *Bartonella bacilliformis* y cada una de las complicaciones severas recolectadas para este estudio
- Hallar la correlación entre la carga parasitaria de *Bartonella bacilliformis* por cada eritrocito y cada una de las complicaciones severas recolectadas para este estudio
- Determinar la predictibilidad de la carga parasitaria total de *Bartonella bacilliformis* y sugerir nuevos puntos de corte.
- Determinar la predictibilidad de la carga parasitaria de *Bartonella bacilliformis* por cada eritrocito y sugerir nuevos puntos de corte.

II. MARCO TEÓRICO

La enfermedad de Carrión es una enfermedad metaxénica cuyo vector de propagación es el mosquito de arena o phlebotomus de la especie *Lutzomia verrucarum*,^[1,17] esta enfermedad tiene un comportamiento bifásico caracterizada por una fase aguda febril y otra fase verrucosa, ambas fases no se expresan necesariamente durante el transcurso de la enfermedad en un mismo individuo.^[1, 18, 19]

La Bartonelosis o enfermedad de Carrión en el Perú se ha podido rastrear hasta la época pre Inca, cuando estas culturas no conocían la escritura, pero eran capaces de plasmar sus actividades y conocimientos en cerámicas.^[20] Se han encontrado cerámicas antropomórficas de las culturas Mochica, Chimú y en monolitos de la cultura Huaylas con lesiones verrucosas.^[21, 22]

En la época de la colonización española se halló, en sus primeros manuscritos, que denominaron a la bartonelosis como “verruga de los andes”.^[23, 24] El primer reporte científico del cual se tiene conocimiento de esta enfermedad, fue hecha en el año 1632 por el cirujano Gago de Vadillo, quien describe a la localidad de Huaylas en el Departamento de Ancash como una zona verrucosa, este médico creía que las verrugas se producían al beber agua.^[25]

En la tesis de bachiller realizada por Tomas Salazar en el año 1858, describe por primera vez a la “Verruga Peruana” (Verruga Andícola) como una nueva enfermedad, luego en 1861 Armando Vélez presenta otra tesis describiendo las características histológicas de lo que denominó botón verrucoso y las mucosas relacionadas.^[23, 24]

Un hecho histórico que retrata a la Bartonelosis sucedió en 1870 cuando el ingeniero estadounidense Henry Meiggs, durante el gobierno de José Balta, inició la construcción de la vía férrea Lima-La Oroya; para ello se empleó cerca de 10 000 obreros trabajando a una altura de 4 000 m.s.n.m. fue cuando se desató la epidemia denominada “Fiebre de la Oroya” con una mortalidad de 7 000 obreros, se observó que la mayoría de sobrevivientes desarrollaban verrugas tiempo después de presentada la fiebre. Para aquel entonces los profesores y alumnos de la Escuela de Medicina de la Universidad de San Marcos llegaron a la conclusión errónea de que la fiebre de la Oroya se trataba de una “nueva enfermedad” o “enfermedad emergente” diferente a la “Verruga Peruana”.^[22, 23, 24]

Daniel A. Carrión protagonizó el hecho más notable en la historia de la Bartonelosis, y ocurrió mientras cursaba sus estudios en la Facultad de Medicina de la Universidad de San Marcos, durante el último año de sus estudios cuando se encontraba realizando el internado médico en la sede del Hospital Dos de Mayo, un 27 de agosto de 1885, Carrión con la ayuda del médico Evaristo Chávez se autoinocula en el brazo, una muestra de sangre proveniente de una verruga de la ceja de un paciente de 14 años hospitalizado en dicho hospital, veintiún días después el 17 de setiembre hasta el día de su fallecimiento; el 5 de octubre, presentó los signos y síntomas característicos de la “Fiebre de la Oroya” demostrando así que la “Verruga Peruana” y la “Fiebre de la Oroya” son fases de una misma enfermedad.^[18, 22, 23, 24]

El agente causal de la enfermedad de Carrión o Bartonelosis fue vista por primera vez en el microscopio por el médico Alberto Barton quien en el año 1905 informa su descubrimiento realizado mediante microscopía óptica donde observó cuerpos endoglobulares en forma de bacilo al interior de los glóbulos rojos que se iban tornando cocoides a medida que el paciente mejoraba, a este hallazgo Barton lo denominó cuerpos X. Barton publicó dicho descubrimiento en la revista peruana “La Crónica Médica” en el año 1909.^[21, 22, 25, 26, 27]

Fue en 1913 cuando Richard P. Strong y sus colaboradores durante su segunda expedición de Medicina Tropical de Harvard quienes reafirmaron las observaciones de Barton pero solo en la fase febril, concluyendo erróneamente que ambas fases se trataban de enfermedades diferentes, Fue Richard P. Strong y colaboradores quienes dieron el nombre de “*Bartonella bacilliformis*” al agente causal de la enfermedad en honor a Alberto Barton.^[22, 23]

Hideyo Noguchi demostró en monos la unidad etiológica entre “Fiebre de la Oroya” y “Verruga Peruana”.^[22, 28] En 1937 Máxime Kuczynski repite el experimento de Carrión, autoinoculándose cepas cultivadas de *Bartonella Bacilliformis* obtenidas de “Verruga Peruana” llegando a desarrollar la fase anémica de la enfermedad y sobreviviendo a esta.^[25, 29, 30]

La enfermedad de Carrión tiene como agente patogénico a la bacteria *Bartonella bacilliformis*, este es un microorganismo pleomórfico, Gram negativa, móvil, aerobio, e intracelular facultativa de las células endoteliales y eritrocitos, tiene forma de bacilo y presenta entre 2 a 6 flagelos unipolares, sus dimensiones

varían de 1 a 3 micrones de largo por 0.25 a 0.30 micrones de ancho.^[31, 32, 33, 38, 40] Además se tiñe con anilina, tiene gran afinidad para los colorantes derivados del Romanowski, y se tiñe de color rojo con Giemsa.^[33] También puede ser cultivada sobre medios sólidos a partir de muestras de sangre con una atmósfera del 5% de dióxido de carbono después de 5 o 15 días hasta 45 días,^[43] o también a partir de biopsias de lesiones eruptivas o nódulos subcutáneos, la temperatura óptima de crecimiento es 28°C.^[28, 33] Es una bacteria no reactiva en test bioquímicos, no utiliza los carbohidratos.^[34, 35, 43]

Bartonella bacilliformis es la primera especie descubierta del género *Bartonella spp.*^[26, 31, 36, 37, 39] a si mismo *Bartonella bacilliformis* fue la única especie conocida de dicho genero hasta el año 1993, al que posteriormente se le agregaron: *Bartonella quintana*, *Bartonella henselae*, entre otros. También se realizaron estudios de biología molecular basados en los datos de hibridación de ARN del ribosoma 16S, que demostraron la afinidad de estas especies y la inclusión de otras que se habían incluido en una taxonomía distinta.^[31, 39, 42] El género *Bartonella spp.* es miembro del grupo alfa proteobacteria, en el cual también contienen los géneros *Rickettsia*, *Ehrlichia*, *Brucella* y *Agrobacterium tumefaciens*.^[38] Se conocen más de 30 especies de “*Bartonella*” y alrededor de 5 subespecies, muchas de ellas son causantes de enfermedades emergentes en humanos.^[37, 43] Birtles, et al. en 1991 demostraron la estrecha relación filogénica entre *Bartonella bacilliformis* y *Rochalimaea quintana*.^[39, 40] Brenner et. al. realizaron la primera propuesta, de unir el género *Rochalimaea* al de *Bartonella* y se removió la familia *Bartonellaceae* del orden de las *Rickettsiales*.^[41]

El genoma de *Bartonella bacilliformis* es una molécula de DNA circular de 1600 kbp.^[42, 48] Mediante técnicas de inmunoprecipitación y Western Blot se ha determinado alrededor de 24 antígenos para *Bartonella bacilliformis*. 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. Una proteína probablemente de localización citoplasmática de 65 kDa llamada Bb65 ha sido identificada como uno de los principales antígenos específicos de *B. bacilliformis*.^[44, 45] La motilina es una proteína extracelular que se ha descrito como un factor de virulencia, pero por si sola esta no permite la entrada de la bacteria al espacio intracelular, necesita de la movilidad que le otorgan los flagelos. Los flagelos de *Bartonella bacilliformis* están formados por una proteína de 42 kDa llamada flagelina.^[46, 47, 48]

La comprensión de los mecanismos en la relación huésped-parásito de *Bartonella bacilliformis* aún se encuentran en sus inicios, apenas se han encontrado algunos datos fundamentales sobre los mecanismos patogénicos de las especies de *Bartonella* en los seres humanos.^[49]

Se sabe que los flagelos polares de *Bartonella bacilliformis* le confieren movilidad y pueden participar a la adherencia a los eritrocitos.^[42, 50, 51] Las fimbrias de agregación también pueden desempeñar un papel en esta adherencia.^[52] La invasión de los eritrocitos involucra una proteína deformina extracelular, el flagelo y proteínas codificadas por el locus asociado a la invasión (*ialAB*).^[53, 54, 55] Después de la entrada en los eritrocitos, *Bartonella bacilliformis* puede reproducirse en su interior y en ocasiones escapar de vacuolas endosómicas.^[56]

Huarcaya et al, demostraron la presencia de proteínas como iaIBb, deformina, RhoA, que han permitido entender los mecanismos moleculares para la invasión y la virulencia de la *Bartonella bacilliformis* a los eritrocitos,^[57] así mismo Huarcaya demostró que una elevación significativa de la IL-10 y del interferón gamma en la fase aguda, que explicaría el curso severo en algunos pacientes, en especial la respuesta inflamatoria sistémica.^[57]

Se ha observado que *Bartonella bacilliformis* estimula la proliferación celular endotelial tanto in vivo como in vitro, tal vez a través de la liberación de un factor estimulante.^[58, 59, 60] En el proceso de invasión de las células endoteliales por *Bartonella bacilliformis*, la célula del huésped parece ser un participante activo a través de la inducción por el patógeno de la reestructuración del citoesqueleto del huésped.^[61]

Una forma de complicación frecuente en la enfermedad de Carrión es la aparición de infecciones oportunistas, ello debido a alteraciones de la inmunidad, ya en 1980 Patrucco observó una depresión transitoria de la “inmunidad celular” con una disminución significativa en las cifras absoluta y relativa de los linfocitos T y cifras normales de linfocitos B. Muchos pacientes presentaban disminución del linfocito cooperador o CD4 y una elevación del CD8 (linfocito supresor) y por ello se explica la alta frecuencia de infecciones oportunistas. En cambio durante la fase eruptiva se observa valores normales de los leucocitos, escasa tendencia a la linfocitosis y valores absolutos y relativos casi normales de los linfocitos B y T.^[13, 62, 63]

Se considera complicación tanto a las derivadas por la misma enfermedad, como las producidas por infecciones agregadas. En el primer grupo se considera aquel evento que forma parte de la historia natural de la enfermedad y por lo tanto tiene la misma etiología. En el segundo grupo se considera aquella enfermedad que obedece a otra etiología que empieza aprovechando el estado de inmunosupresión que se desarrolla en la enfermedad de Carrión.^[64]

Weiss fue el primero en reportar la existencia de un período de depresión temporal del sistema inmune de los pacientes durante la fase hemática e intercalar, además notó una recuperación durante la fase eruptiva. A este período de depresión inmune se le atribuiría la causa de las frecuentes superinfecciones con virus, bacterias, parásitos y hongos durante la evolución clínica de la enfermedad de Carrión.^[23, 38, 43, 65]

Así mismo, Merino et. al en 1939 y Manrique et. al en 1956 describieron la presencia de hipergammaglobulinemia en fase aguda de la enfermedad de Carrión.^[62, 66] También se describe que durante la fase eruptiva se observa valores normales de leucocitos, tendencia a la linfocitosis y valores casi normales de linfocitos T y B.^[62]

Se ha descrito una media aritmética en el porcentaje de invasión intracelular eritrocitaria de 80% por parte de *Bartonella bacilliformis*,^[43] estudios sobre el mecanismo de invasión de *B. bacilliformis* a células epiteliales de laringe humana 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 fagocitosis.^[61] Luego se presenta inmunosupresión, hepatoesplenomegalia y linfadenopatía probablemente como resultado de una extensa sobrecarga del sistema retículo endotelial^{??}.^[23, 67]

Rocha Lima describió la presentación histológica de la enfermedad de Carrión encontrando a las bacterias libremente en el espacio intersticial o dentro de células endoteliales formando vacuolas citoplasmáticas (cuerpos de Rocha-Lima). Además señala que la interacción de las células endoteliales con la bacteria *Bartonella bacilliformis* es importante para el desarrollo de la verruga, también se ha descrito un factor angiogénico que explicaría la proliferación similar a los tumores.^[68, 69]

Arias-Stella, a través de una serie de estudios anatomopatológicos, describe claramente la presentación de formas cocoides y formas basilares de *Bartonella bacilliformis* al interior de células endoteliales, que son fundamentales para determinar su posterior comportamiento en la formación de verrugas, y del deterioro de la inmunidad del paciente.^[70]

Wigand et al. en 1953 realizan los primeros estudios en microscopía electrónica quienes reportan que las bacterias de *Bartonella bacilliformis* estaban aparentemente sobre la superficie de los eritrocitos y no llegaban al interior de estos. Esto fue aclarado posteriormente por Cuadra y Takano al estudiar por microscopio electrónico a eritrocitos de tres pacientes en los que predominaban las formas cocoides, observaron que las bacterias de *Bartonella bacilliformis* se encontraban dentro del eritrocito.^[63]

En el Perú, la enfermedad de Carrión es un proceso infeccioso reemergente y un serio problema de salud pública; se ha reportado alrededor de 60 % de departamentos que lo han notificado a nivel nacional, el departamento de Ancash aportó con más de 50% de casos anuales.^[23, 71] La fase hemática de la enfermedad de Carrión es la única que produce complicaciones y muerte, la fase latente así como también la fase eruptiva puede transformarse en hemática, los mecanismos de este evento no están del todo claros. La transfusión sanguínea, y sus complicaciones derivadas de ésta como el daño pulmonar agudo relacionado con la transfusión (TRALI), es un procedimiento frecuente debido a la grave anemia hemolítica producida por la bacteria *Bartonella bacilliformis*.^[18, 72, 73]

La enfermedad de Carrión a través de su evolución presenta dos fases muy características: una fase aguda anemizante que suele desarrollarse de 3 a 12 semanas después de la inoculación y que sin tratamiento antibiótico causa la muerte en hasta el 85 % de los casos, y una forma verrucosa que generalmente se presenta posterior a la presentación anémica; muchos autores definen otra fase llamada “intercalar” donde está presente la bacteriemia asintomática. El comienzo suele ser abrupto, con fiebre alta, escalofríos, cefalea y anorexia. Los pacientes tienen intensas mialgias y artralgias, dolor abdominal e ictericia. Las complicaciones son frecuentes, e incluyen meningoencefalitis, disnea, delirio y sobreinfección que lleva a la muerte. La bacteriemia asintomática persistente puede servir como reservorio del organismo.^[43]

La enfermedad de Carrión es endémica de los valles montañosos de Ecuador, Perú y Bolivia. En los últimos 50 años el departamento de Ancash ha reportado más del 80 % de los casos notificados en el ámbito nacional. Son áreas endémicas los callejones de Huaylas y Conchucos, siendo las provincias de Huaylas y Carhuaz las más afectadas y en mayor riesgo. Los departamentos considerados clásicamente endémicos son Ancash, Cajamarca y Lima.^[4, 65, 74] Tradicionalmente se reconoció que la enfermedad se presentaba entre los 500 y 3200 m.s.n.m.^[74, 75]

El diagnóstico a través de la lectura al microscopio óptico ya ha sido estandarizado por el Instituto Nacional de Salud (INS) y este tiene en cuenta: a) Índice de bacteriemia y la b) Forma de las bacterias. En función a estos parámetros se emite los resultados para el pronóstico médico. Es importante recordar que para la lectura se lee de 50 a 100 campos por lámina con la muestra de frotis sanguíneo a 1000 aumentos (objetivo de 100x) con aceite de inmersión, buscando la presencia de formas cocobacilares, bacilares o cocoides que se encuentran dentro de los hematíes.^[76]

III. MATERIAL Y MÉTODOS

1. MATERIAL

1.1. Población

1.1.1. Población diana o universo

Pacientes diagnosticados de enfermedad de Carrión durante la fase aguda que presentan complicaciones severas.

1.1.2. Población de estudio

Historia clínica y láminas periféricas pareadas de pacientes diagnosticados con enfermedad de Carrión durante la fase aguda que fueron atendidos en el Hospital Víctor Ramos Guardia - Huaraz durante el periodo enero 1997 - octubre 2016.

Criterios de inclusión:

Grupo casos: Historias clínicas y láminas periféricas pareadas de pacientes que desarrollan la enfermedad y desarrollan complicaciones.

Grupo control: Historias clínicas y láminas periféricas pareadas de pacientes que desarrollan la enfermedad y no desarrollan complicaciones.

Criterios de exclusión:

Grupo casos:

- Historias clínicas (HC) y láminas periféricas (LP) pareadas de pacientes con diagnóstico previo de cardiopatías que impliquen insuficiencia cardíaca.
- HC y LP de pacientes con trastornos de la inmunidad,

como inmunodeficiencias.

- HC y LP de pacientes con antecedentes de infección de enfermedades tropicales infecciosas distintas a la Bartonelosis.
- HC y LP de pacientes con comorbilidades recientes que hayan implicado shock séptico, shock cardiovascular, Disfunción multiorgánica.
- HC y LP de pacientes con comorbilidades crónicas o con exacerbación reciente de su enfermedad.
- Historias clínicas con acceso restringido y/o extraviadas.
- Láminas periféricas con mal procesadas, con datos erróneos y extraviadas.
- HC y LP de pacientes en la fase eruptiva de la enfermedad.

Grupo control:

- HC y LP pareadas de pacientes con diagnóstico previo de cardiopatías que impliquen insuficiencia cardíaca.
- HC y LP de pacientes con trastornos de la inmunidad, como inmunodeficiencias.
- HC y LP de pacientes con antecedentes de infección de enfermedades tropicales infecciosas distintas a la Bartonelosis.
- HC y LP de pacientes con comorbilidades recientes que hayan implicado shock séptico, shock cardiovascular, Disfunción multiorgánica.
- HC y LP de pacientes con comorbilidades crónicas o con exacerbación reciente de su enfermedad.
- Historias clínicas con acceso restringido y/o extraviadas.
- Láminas periféricas con mal procesadas, con datos erróneos y extraviadas.
- HC y LP de pacientes en la fase eruptiva de la enfermedad.

1.1.3. Muestra

1.1.3.1. Unidad de Análisis

Muestra de Sangre en lámina periférica de pacientes con Enfermedad de Carrión e historias clínicas pareadas con sus respectivas muestras de lámina periférica.

1.1.3.2. Unidad de Muestreo

Registro Epidemiológico en los archivos del Hospital Víctor Ramos Guardia - Huaraz. Láminas de frotis sanguíneo e historias clínicas respectivas.

1.1.3.3. Tamaño Muestral

Para el tamaño muestral se usó la información del total de pacientes que fueron atendidos en el periodo: enero 1997 a octubre 2016, de los que se atendió 1384 con diagnóstico presuntivo de Bartonelosis y 239 dieron positivo para *Bartonella bacilliformis*, luego de la búsqueda de la data y el procesamiento y depuración de la misma se obtuvo el tamaño muestral que consistió en un total de 159 pacientes con datos adecuados para el estudio, los cuales constan de 53 pacientes para el grupo de casos y 106 pacientes para el grupo de controles.

1.1.3.4. Tipo Muestral

Se utilizó el muestreo aleatorio simple, con el fin de determinar la elección de la muestra, mediante tabla de números aleatorios.

2. MÉTODOS

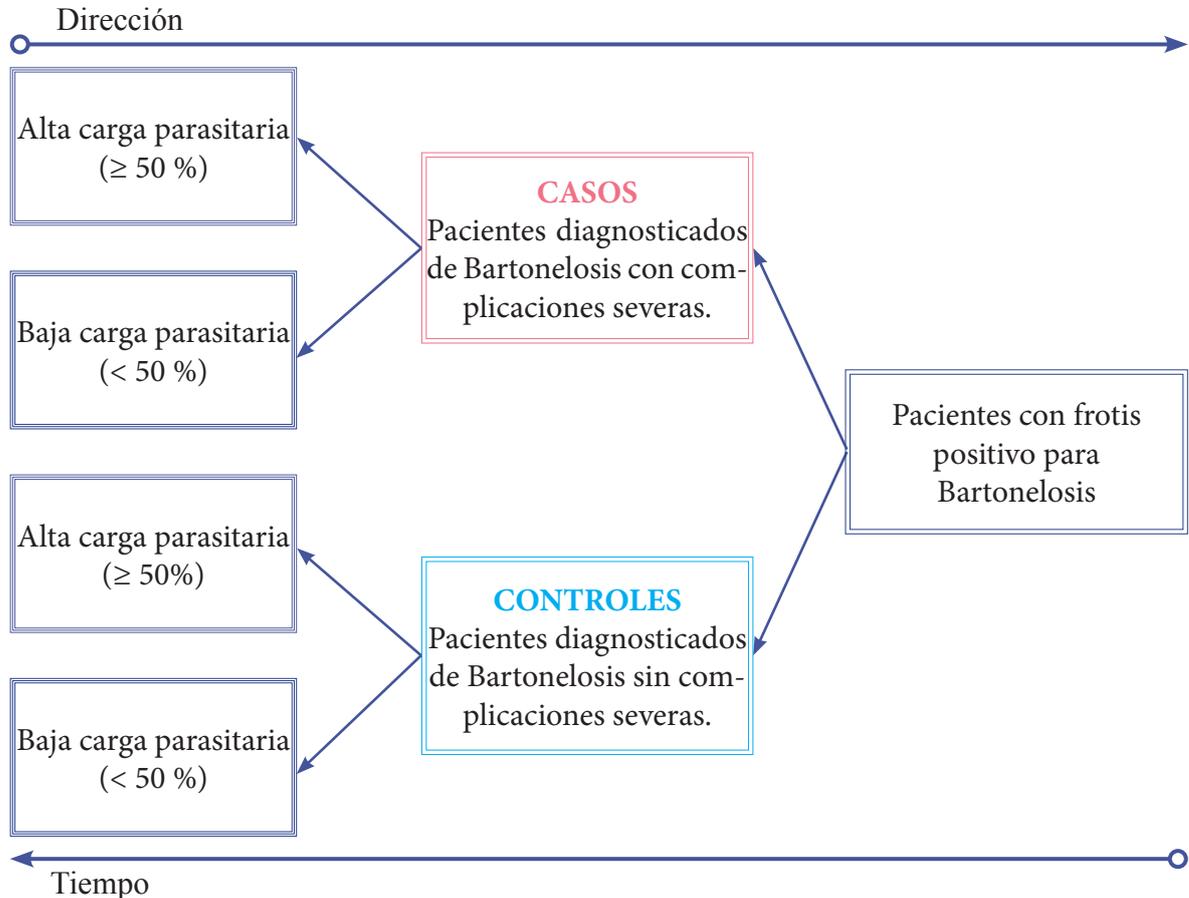
2.1. Diseño de estudio

2.2.1. Tipo de estudio

El presente estudio corresponde a un diseño de tipo: casos y controles.

- Según la intervención del investigador:
Observacional
- Según el número de ocasiones que se mide la variable:
Transversal
- Según la planificación de la toma de datos:
Retrospectivo
- Según el número de variables de interés:
Analítico

2.2.2. Diseño específico



2.2.3. Variables

Variable	Tipo	Escala	Indicadores	Índices
Dependiente				
• Complicaciones severas	Cualitativa	Nominal	Historia clínica	presenta/no presenta
Sepsis	Cualitativa	Nominal	Historia clínica	presenta/no presenta
Shock	Cualitativa	Nominal	Historia clínica	presenta/no presenta
Trombocitopenia	Cualitativa	Nominal	Historia clínica	presenta/no presenta
Insuficiencia cardíaca congestiva	Cualitativa	Nominal	Historia clínica	presenta/no presenta
Síndrome Disfunción Multiorgánica	Cualitativa	Nominal	Historia clínica	presenta/no presenta
Neurobartonellosis/Trastorno del sensorio	Cualitativa	Nominal	Historia clínica	presenta/no presenta
Muerte	Cualitativa	Nominal	Historia clínica	presenta/no presenta
Independiente				
Carga parasitaria total	Cuantitativa	De razón	Frotis sanguíneo	Porcentaje de eritrocitos
Carga parasitaria por cada eritrocito	Cuantitativa	De razón	Frotis sanguíneo	Cantidad de eritrocitos

2.2.4. Definiciones operacionales

* **Carga parasitaria de Bartonella:** se determina al hacer un recuento del número de bacterias por 1000 campos del frotis sanguíneo en el microscopio óptico. El resultado se expresa en porcentaje.^[76] Se considera parásito a la bacteria *Bartonella bacilliformis* por la relación simbiótica al estar dentro del eritrocito,^[7] por ello de aquí en adelante se referirá a esta bacteria como parásito con fines explicativos. Además, de las investigaciones de Reynafarje et al.^[15] y López et al.^[10, 11] se toma el punto de corte de 50 % de índice parasitario como punto de corte para estudiar complicaciones. También se cuantifica la cantidad de parásitos de *Bartonella bacilliformis* dentro del eritrocito, la cantidad predominante de bartonelas se informa como un hallazgo y se reporta en números absolutos, se toma como punto de corte a “10 bartonelas por eritrocito” para estudiar complicaciones durante la enfermedad.^[7] Las láminas fueron leídas por la Licenciada Gloria Espinoza Z. quien cuenta con entrenamiento óptimo en el INS sobre procesamiento de muestras de enfermedades tropicales.

- * **Complicaciones severas:** son aquellas condiciones descritas en la Bartonelosis aguda grave, que es un caso clínico probable o caso confirmado de Bartonelosis aguda, que presenta desde la primera consulta o en su evolución algún signo, síntoma o manifestación clínica asociados a disfunción de órganos y/o trastornos de la perfusión y que requieren intervención terapéutica para restablecer el equilibrio homeostático.^[11, 77]
- * **Sepsis:** Presencia de diversos microorganismos formadores de pus, o sus toxinas, en la sangre o los tejidos. La septicemia, enfermedad sistémica causada por la multiplicación de microorganismos en la sangre, es un tipo común de sepsis.^[78]
- * **Shock:** Necesidad de soporte vasopresor por al menos 4 horas en algún momento durante la hospitalización.^[78]
- * **Trombocitopenia:** Disminución anormal del número de plaquetas sanguíneas por debajo de 100 000 plaquetas/mm³.^[78]
- * **Insuficiencia cardíaca congestiva:** Incapacidad del corazón para bombear la cantidad de sangre que satisfaga las necesidades del organismo y presentan patrones hemodinámicos B y C con clara retención de líquidos.^[78]
- * **Síndrome Disfunción Multiorgánica:** insuficiencia de dos o más órganos que se demuestra mediante pruebas bioquímicas.^[78]
- * **Neurobartonelosis y/o trastorno del sensorio:** Se define a la neurobartonelosis (disfunción cerebral o encefalopatía bartonelósica) como un estado mental alterado con anormalidades conductuales o cognitivas, asociados o no con signos neurológicos focales y/o convulsiones, en un paciente con diagnóstico definido de bartonelosis aguda.^[79]
- * **Muerte:** Cese irreversible de las funciones metabólicas y ausencia de respiración espontánea, así como de funciones cerebrales y cardiovasculares del individuo.

Tabla de criterios diagnósticos para complicaciones severas de la enfermedad de Carrión

Variable	Criterios Diagnósticos Clínicos	Fuente
Insuficiencia cardíaca congestiva	<ul style="list-style-type: none"> • Criterios mayores y menores de Framingham: <ul style="list-style-type: none"> * Edema en MMII, * Distensión venosa yugular, * Tos nocturna, * Crepitantes, * Disnea de esfuerzo, * Edema agudo de pulmón, * Derrame pleural, * PVY > 16 cm H₂O, * Taquicardia (≥ 120lpm), * Reflujo hepatoyugular positivo, * Adelgazamiento ≥ 4.5 kg después de 5 días de tto. • Perfiles hemodinámicos: <ul style="list-style-type: none"> * Perfil B: “Caliente y con retención de líquidos” - sin disminución del gasto cardíaco ni aumento de la resistencia vascular sistémica y con aumento del llenado del ventrículo izquierdo. * Perfil C: “Frío y con retención de líquidos” - con disminución del gasto cardíaco y aumento de la resistencia vascular sistémica, así como del llenado del ventrículo izquierdo. 	Historia Clínica
Neurobartonelosis	<ul style="list-style-type: none"> • Somnolencia, • Excitación psicomotriz, • Desorientación, • Signos meníngeos, • Ataxia, • Babinski, • Hemiparesia, • Anisocoria, • Fondo de ojo anormal, • Movimientos involuntarios, • Convulsiones, • Coma. 	Historia Clínica
Sepsis	<ul style="list-style-type: none"> • Dos o más criterios de SIRS: <ul style="list-style-type: none"> * Temperatura > 38 °C o < 36 °C, * Pulso > 90 latidos/min, * Frecuencia respiratoria > 20 respiraciones/min o presión arterial parcial de dióxido carbónico (PaCO₂) < 32 mm Hg. * Conteo de glóbulos blancos >12,000 o <4000 cells/mm³ o >10% de formas en banda. • Y sospecha o prueba de una infección como causa de SIRS. 	Historia Clínica

Shock	<ul style="list-style-type: none"> • Síntomas: <ul style="list-style-type: none"> * Palidez, * Cianosis, * Frialdad cutánea, * Colapso de las venas subcutáneas, * Taquicardia, * Trastornos del sensorio, * Oliguria, * Hipotensión arterial, con descenso de la presión sistólica y conservación de la diastólica (disminución de la presión diferencial). • Signos Clínicos <ul style="list-style-type: none"> * PAM \leq de 60 mm Hg. o una PAS $<$ de 90 mm Hg, * En pacientes hipertensos una disminución de la PAS de 40 mm Hg. respecto a su basal. 	Historia Clínica
SDMO	<p>Disfunción:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Cardiovascular: Disminución de fracción de eyección, • Pulmonar: Hipoxia que requiere asistencia ventilatoria durante $>$ 3 días, • Renal: Oliguria 479 ml/24 h/adulto $<$ 0,5 ml/kg/hora en niños, • Creatinina $>$ 2 mg/dl, • SNC: Confusión, Desorientación leve, • Hematológico: T. protrombina o TTP elevado con $>$ 25 % o plaquetas $<$ 50.000-80.000 mm³, • Hepático: Bilirrubina sérica \geq 2-3 mg/dl o • test función hepática \geq 2 veces lo normal, • Intestinal: Íleo con intolerancia a la alimentación enteral $>$ 5 días. <p>Fracaso:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Cardiovascular: Respuesta hipodinámica, refractaria a drogas ionótropas, • Pulmonar: SDRA progresivo, • Necesidad de PEEP $>$ 10 cm H₂O y FiO₂ $>$ 0,5, • Renal: Necesidad de depuración extrarrenal, • SNC: Coma progresivo, • Hematológico: CID, • Hepático: Ictericia clínica con bilirrubina \geq 8-10 mg/dl, • Intestinal: Úlcera de estrés que requiere transfusión, • Colecistitis. 	Historia Clínica
Trombocitopenia	<ul style="list-style-type: none"> • Conteo de plaquetas menor a 150.000 por μL. 	Historia Clínica

2.2. Procedimientos

1. Se solicitó el permiso correspondiente para realizar el estudio en el Hospital Víctor Ramos Guardia - Huaraz mediante una solicitud, dirigida al director de dicho hospital, para el acceso a las historias clínicas y material microbiológico a estudiar (Anexo 01).
2. Con el permiso aceptado y el visto bueno del comité de ética del hospital Víctor Ramos Guardia - Huaraz (Anexo 02), se recopiló la información procedente del registro de enfermedades metaxénicas del hospital anteriormente citado, desde la fecha: enero 1997 - octubre 2016.
3. Se procedió a la recopilación de material microbiológico que consiste en láminas de frotis sanguíneo (Anexo 05, Imagen 15) y lectura compatible con Bartonelosis, se procedió a la recopilación de los datos asignados por cada lámina como el nombre y el número de historia clínica de cada uno de ellos, que corresponde también al registro de enfermedades metaxénicas descritas en el punto 2.
4. Se vinculó cada muestra de lámina periférica con su respectiva historia clínica para posterior recopilación de datos referidos a la investigación.
5. Aceptado el permiso de investigación por el comité de ética del Hospital, se realizó la coordinación necesaria con el personal encargado de archivo para la revisión de las historias clínicas, y muestras microbiológicas.
6. Se acudió a la Unidad de Estadística y a la oficina de archivo de historias clínicas del Hospital Víctor Ramos Guardia de la ciudad de Huaraz para evaluar y designar las historias clínicas a estudiar de acuerdo a los criterios de selección planteados.
7. Se procedió a obtener los datos requeridos de cada historia clínica, los cuales fueron registrados en las fichas de recolección de datos (Anexo 03).

Para la recolección de datos se empleó una ficha diseñada para tal fin (Anexo 03 y Anexo 04) que reunió la información acerca de las variables que se investigó, para este caso se obtuvo el porcentaje de la carga parasitaria total y por cada eritrocito de *Bartonella bacilliformis* que constituye una variable cuantitativa, así como también la notificación de las respectivas variables cualitativas que tendrán el valor de presente o ausente de los síntomas, signos y/o eventos favorables o adversos (incluida la muerte) que presentó el paciente desde el momento de su admisión hasta el día de su egreso hospitalario.

Posteriormente se procedió al traslado de la información en una base de datos para el cual se usó el programa Microsoft Excel 2016, luego se procedió al cruce y depuración de la información, así como también a la definición de las variables para que el software pueda procesarlos.

2.3. Recolección y análisis de datos

El registro de todos los datos obtenidos que están consignados en las correspondientes hojas de recolección, se almacenó como base de datos en hojas Excel como ya se comentó. Estas fueron luego procesadas de manera automatizada por el software estadístico IBM SPSS versión 24. Los resultados se presentan en tablas.

2.3.1. Estadística descriptiva

En la presente investigación se utilizó las medidas descriptivas de resumen: las medidas de tendencia central como la media y mediana. Además, se elaboraron tablas de contingencia y diagramas de barras.

2.3.2. Estadística inferencial

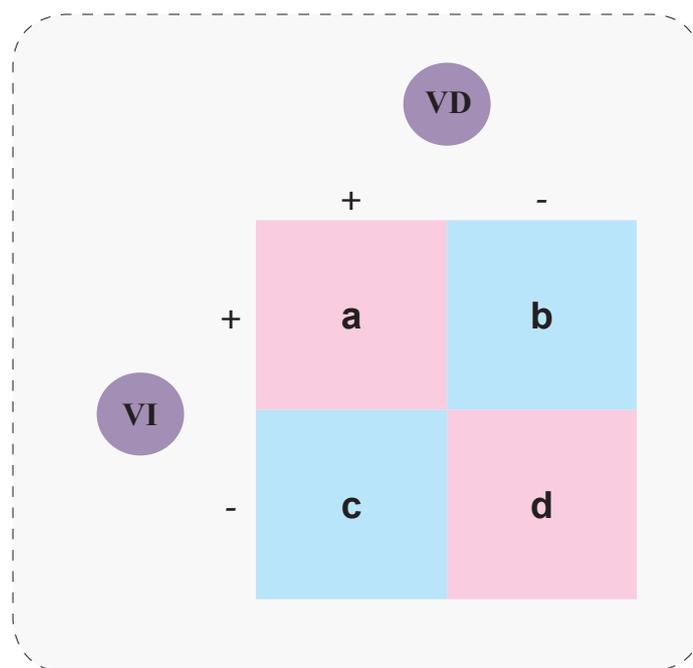
Para el análisis estadístico se realizó la prueba Chi cuadrado de independencia (X^2), para variables categóricas; las asociaciones fueron consideradas significativas si la posibilidad de equivocarse fue menor al 5 % ($p < 0,05$) se tomó en cuenta los grados de liber-

tad para lo cual el valor Chi-cuadrado debe ser mayor a 3,84 para rechazar la hipótesis nula (Nivel de confianza del 95 %). Para los casos en el que se obtuvo valores esperados menores de 5 se aplicó la prueba exacta de Fisher.

Para conocer el valor pronóstico de la carga parasitaria sobre la manifestación de complicaciones severas, se halló la sensibilidad, especificidad, curva de ROC y valores predictivos positivo y negativo con intervalos de confianza del 95 % (IC 95 %).

2.3.3. Estadígrafo de estudio

Se determinó el OR (odds ratio) como estadígrafo para casos y controles con IC de 95%.



Donde :

$$\text{OR} = (a)(d)/(b)(c)$$

< 1 : Es un factor protector.

> 1 : Es un factor de riesgo.

= 1 : No es factor protector ni de riesgo.

2.4. Consideraciones éticas

El estudio fue realizado tomando en cuenta los principios de investigación con seres humanos de la Declaración de Helsinki II, que tiene como principio básico que la investigación con seres humanos no debe vulnerar su integridad física y psíquica así como también debe estar supervisada por un médico y realizada por personal científico calificado.^[80]

Asimismo, se obtuvo la aprobación del Director y el consentimiento del Comité de Investigación y Ética del Hospital de Apoyo Huaraz “Víctor Ramos Guardia”, teniendo en cuenta que toda la información proporcionada fue de carácter confidencial y sólo tuvo acceso a ella el personal investigador.

Dado que el estudio corresponde a un diseño analítico, para ello se empleará el uso de historias clínicas, y muestras microbiológicas; no requiere consentimiento informado; sin embargo, la información obtenida tendrá el carácter de confidencial.

La presente investigación también se basó en los principios de la bioética de beneficencia y no maleficencia, sin causar perjuicio en ningún paciente, preservando la veracidad y el anonimato de los pacientes y que los resultados de nuestro estudio sirvan como prevención en el campo de la medicina.^[81]

Se tuvo en cuenta la Ley General de Salud N° 26842, que refiere que la utilización de las historias clínicas o información médica es permitida cuando fuese utilizada con fines académicos o de investigación científica, y siempre que la información obtenida se consigne en forma anónima.^[82]

IV. RESULTADOS

Para este trabajo de investigación se contó con el total de frotis de láminas periféricas en óptimas condiciones (Figura 15) de todos los pacientes atendidos por sospecha diagnóstica de Bartonelosis, de las cuales se realizó la lectura, con supervisión de personal capacitado en INS, no se encontraron 45 historias clínicas debido a deficiencias en el almacenamiento de las mismas por lo que se considera a estas como material extraviado. Luego del procesamiento, depuración y elección aleatoria del material válido de las 194 historias restantes se obtuvo 159 historias clínicas de pacientes como material válido para el presente estudio, los cuales están conformados por 53 para el grupo de casos y 106 para el grupo de controles.

Características demográficas de la población:

Durante el periodo enero 1997 a octubre del 2016 se procesó a 1384 pacientes con el diagnóstico presuntivo de Bartonelosis o enfermedad de Carrión de los cuales 1373 pacientes (99,2 %) fueron admitidos en el servicio de emergencia del Hospital Víctor Ramos Guardia de la ciudad de Huaraz, todos ellos por vía del sistema de referencia de las provincias del departamento de Ancash. Además 11 pacientes (0,8 %) fueron admitidos por consultorio externo. Del total de pacientes 239/1384 (17,27 %) dieron positivo para *Bartonella bacilliformis* a través de diagnóstico por frotis de lámina periférica, de los cuales 145/239 fueron hombres (60,67 %), 94/239 fueron mujeres (39,33 %), 109 fueron menores de 18 años (45,61 %), 130 tuvieron 18 años o más (54,39 %). Estos resultados se resumen en las tablas 01 y 02.

Las distribuciones de las complicaciones severas descritas en este estudio con respecto al índice parasitario total o el hallado por cada eritrocito de *Bartonella bacilliformis* se recogen en las tablas 03 y 04. Cada complicación se separó según el punto de corte tomado para este trabajo: < 50 % y entre $\geq 50\%$ para índice parasitario total, y entre < 10 y ≥ 10 para índice por cada eritrocito.

La edad promedio de los pacientes con enfermedad de Carrión para este estudio fue de 22,25 años con una desviación estándar (DE) de 14,72. Así mismo la estancia hospitalaria en días fue de 12,09 con una DE de 5,96. Los días de

tratamiento con antibioticoterapia (cloranfenicol, ceftriaxona, ciprofloxacino o en combinación entre ellas) fueron de 13,07 días con una DE de 5,11 (tabla 05).

Del total de pacientes estudiados se observó que 75 pacientes presentaron parasitismo igual o mayor que 50 % y esto representa el 47,2 % de la muestra, mientras que la cantidad de pacientes en el cual se le halló más de 10 bartonelas parasitando a cada eritrocito fue de 30 casos que representa el 18,9 % del total de la muestra, los resultados se resumen en las tablas 06 y 07. Se planteó los puntos de corte 50 % y 10 como ya se mencionó por sugerencia de estudios anteriores.^[10, 11, 15]

Se representa comparativamente las proporciones en cantidades absolutas del total de pacientes procesados y diagnosticados de Bartonelosis o enfermedad de Carrión mediante frotis de lámina periférica, atendidos en el Hospital Víctor Ramos Guardia de la ciudad de Huaraz (Figura 01), donde se evidencia un incremento de la frecuencia en el año 2005, se observa también una alta incidencia desde el año 1998 al 2008 correspondiéndose también al total nacional de los registros epidemiológicos.^[6, 23]

Características clínicas al ingreso:

El 99,2 % de pacientes ingresó al servicio de emergencia del hospital de Huaraz Víctor Ramos Guardia por sistema de referencia del departamento de Ancash, en su mayoría dichos pacientes tuvieron la sospecha diagnóstica de enfermedad de Carrión, la mayoría presentó los síntomas clásicos de la enfermedad aguda: Astenia, fiebre, náuseas, vómitos, sudoración nocturna. En los mismos se evidenció: Ictericia en mucosas y palidez, petequias, taquipnea, alteración del sensorio. Algunos tuvieron una evolución más lenta, los mismos que recibieron antibioticoterapia empírica pero no respondieron adecuadamente a ésta y tuvieron una posterior evolución tórpida terminando aquellos pacientes por ser referidos. Los pacientes que fueron referidos, generalmente fueron derivados por el deterioro rápido de su estado general entre los que destacan anemia severa y alteración del sensorio. El inicio de las complicaciones severas se observó desde antes del ingreso hospitalario, así como también en las primeras 48 horas del ingreso, las que se recogieron para este estudio fueron: Insuficiencia cardíaca congestiva (23,27 %), neurobartonelosis (21,38 %), shock (18,24 %), sepsis (16,98 %), síndrome disfunción multiorgánica (15,72 %), trombocitopenia (8,8 %) y muerte (15,09 %).

TABLA 01: PARÁMETROS DEMOGRÁFICOS EN PACIENTES CON DIAGNÓSTICO PRESUNTIVO DE ENFERMEDAD DE CARRIÓN. HVRG - HUARAZ PERÍODO ENERO 1997 - OCTUBRE 2016.

Características	Casos Presuntivos	Número de casos confirmados por microscopía óptica	Porcentaje relativo
Género			
Femenino	583	94 (16,12 %)	6,79 %
Masculino	801	145 (18,10 %)	10,48 %
Edad			
< 1	6	4 (66,67 %)	0,29 %
≥ 1 y < 18	669	105 (15,70 %)	7,59 %
≥ 18	709	130 (18,34 %)	9,39 %
Procedencia			
Ancash	1384	239 (17,27 %)	17,27 %
Fase			
Eruptiva	7	0 (0,0 %)	0,0 %
Hemática	1377	239 (17,36 %)	17,27 %

TABLA 02: PARÁMETROS DEMOGRÁFICOS EN LAS COMPLICACIONES PRESENTADAS EN PACIENTES CON DIAGNÓSTICO DE ENFERMEDAD DE CARRIÓN. HVRG - HUARAZ ENERO 1997 - OCTUBRE 2016.

Parámetros	Complicaciones				Total
	NO		SI		
	< 50 %	≥ 50 %	< 50 %	≥ 50 %	
Género					
Femenino	21	25	9	10	65
Masculino	29	31	12	22	94
Edad					
< 1	0	0	1	3	04
≥ 1 y < 18	19	30	09	13	71
≥ 18	31	26	11	16	84
Procedencia					
Ancash	50	56	21	32	159
Fase					
Eruptiva	0	0	0	0	0
Hemática	50	56	21	32	159

FIGURA 01

DISTRIBUCIÓN DE FRECUENCIAS CON DIAGNÓSTICO PRESUNTIVO Y CONFIRMACIÓN DIAGNÓSTICA MEDIANTE FROTIS DE LÁMINA PERIFÉRICA DE LA ENFERMEDAD DE CARRIÓN. HVRG - HUARAZ ENERO 1997 - OCTUBRE 2016.

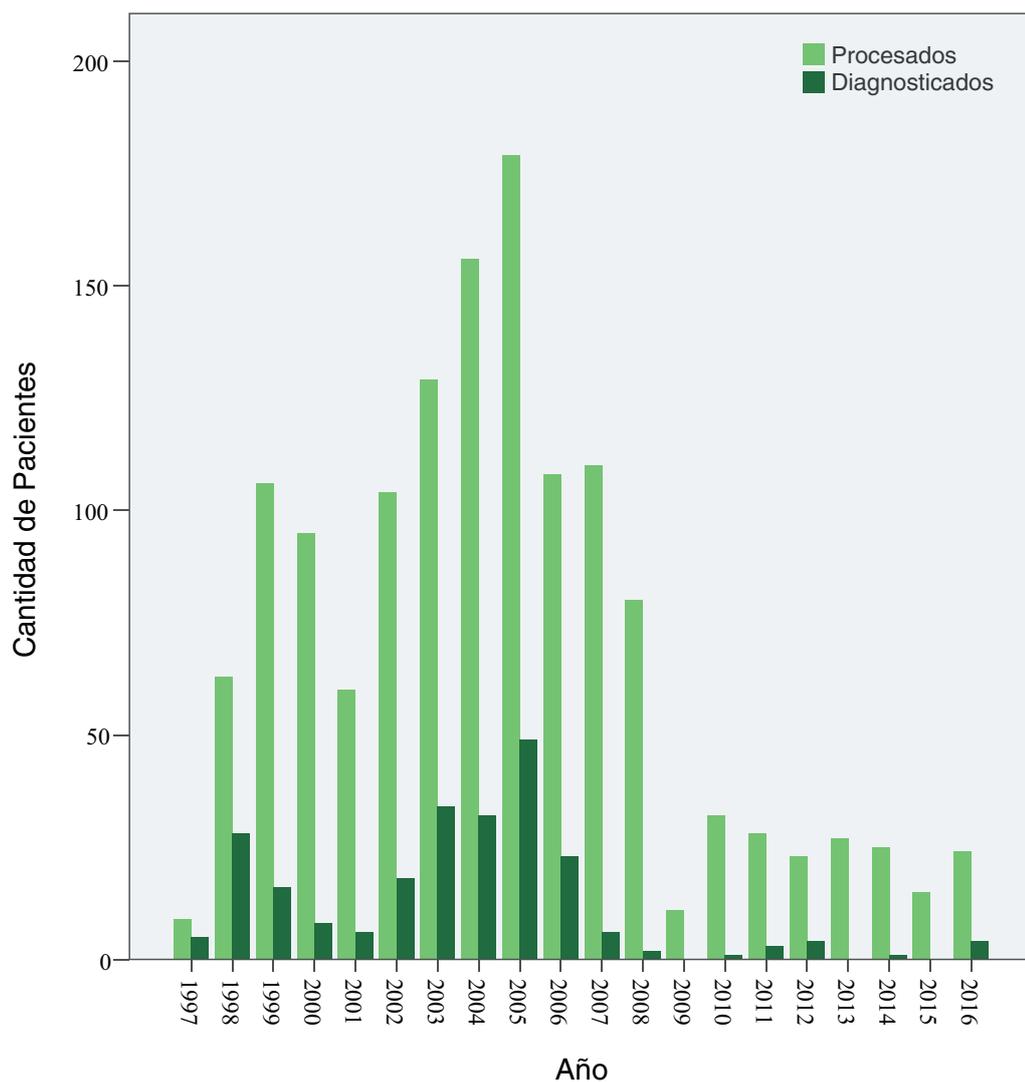


Figura 01. Se muestra la distribución de frecuencias absolutas de pacientes por cada año en el registro epidemiológico, se compara pacientes procesados con sospecha de enfermedad (barra verde claro) y pacientes con confirmación mediante frotis de lámina periférica (barra verde oscuro) recogidas del Hospital Víctor Ramos Guardia (HVRG).

TABLA 03: ÍNDICE PARASITARIO TOTAL EN COMPLICACIONES SEVERAS DE PACIENTES CON DIAGNÓSTICO DE ENFERMEDAD DE CARRIÓN. HVRG HUARAZ ENERO 1997 - OCTUBRE 2016.

Parámetros	Índice parasitario total		Total
	< 50 %	≥ 50 %	
• Complicaciones severas:			
Muerte	7	17	24
Insuficiencia cardíaca congestiva	15	22	37
Neurobartonelosis/Trastorno del sensorio	12	22	34
Shock	8	21	29
Sepsis	10	17	27
Disfunción multiorgánica	7	18	25
Trombocitopenia	6	8	14

TABLA 04: ÍNDICE PARASITARIO POR CADA ERITROCITO EN COMPLICACIONES SEVERAS DE PACIENTES CON DIAGNÓSTICO DE ENFERMEDAD DE CARRIÓN. HVRG HUARAZ ENERO 1997 - OCTUBRE 2016.

Parámetros	Índice parasitario por cada eritrocito		Total
	< 10	≥ 10	
• Complicaciones severas:			
Muerte	6	18	24
Insuficiencia cardíaca congestiva	17	20	37
Neurobartonelosis/Trastorno del sensorio	15	19	34
Shock	11	18	29
Sepsis	7	20	27
Disfunción multiorgánica	8	17	25
Trombocitopenia	5	9	14

TABLA 05: EDAD, ESTANCIA HOSPITALARIA Y DÍAS DE ANTIBIOTICOTERAPIA EN PACIENTES CON DIAGNÓSTICO DE ENFERMEDAD DE CARRIÓN HUARAZ ENERO 1997 - OCTUBRE 2016.

Parámetros	Media DE	Mínimo	Máximo
Edad	22,25 ± 14,72	1	73
Estancia hospitalaria (días)	12,09 ± 5,96	1	29
Días de antibioticoterapia	13,07 ± 5,11	2	29

TABLA 06: NÚMERO DE PACIENTES CON NIVELES PARASITARIOS $\geq 50\%$ EN ERITROCITOS.

Parasitosis $\geq 50\%$	N°	%
Si	75	47,2 %
No	84	52,8 %
Total	159	100 %

TABLA 07: NÚMERO DE PACIENTES CON NIVELES PARASITARIOS ≥ 10 PARÁSITOS POR CADA ERITROCITO.

Parasitosis por cada eritrocito ≥ 10	N°	%
Si	30	18,9 %
No	129	81,1 %
Total	159	100 %

EFEECTO DE LA CARGA PARASITARIA TOTAL EN LAS COMPLICACIONES SEVERAS DE LA ENFERMEDAD DE CARRIÓN.

Se presenta a continuación las tablas de contingencia entre las variables “complicaciones severas” y la “carga parasitaria total”. La primera variable referida a las distintas complicaciones se expresó en escala nominal siendo la respuesta afirmativa (SI) cuando se presenta la complicación, o negativa (NO) cuando hay ausencia de esta. La segunda variable referida a la carga parasitaria total es medida en porcentajes luego fue convertida a variable nominal dicotómica, siendo afirmativa (SI) cuando el porcentaje es igual o mayor de 50 % y negativa (NO) cuando el porcentaje es menor de 50 %. Así mismo se presenta el análisis de independencia de variables por el test Chi-cuadrado de Pearson, prueba exacta de Fisher cuando se requiera y el cálculo del Odds Ratio.

TABLA 08: COMPLICACIONES ASOCIADAS A CARGA PARASITARIA TOTAL DE BARTONELLA BACILLIFORMIS EN ERITROCITOS.

Parasitosis \geq 50 %	Complicaciones Severas		Total
	Si	No	
Si	30	45	75
No	23	61	84
Total	53	106	159

Chi-cuadrado de Pearson: 2,839 p = 0,092 OR : 1,768

TABLA 09: MUERTE ASOCIADA A CARGA PARASITARIA TOTAL DE BARTONELLA BACILLIFORMIS EN ERITROCITOS.

Parasitosis \geq 50 %	Muerte		Total
	Si	No	
Si	17	58	75
No	7	77	84
Total	24	135	159

Chi-cuadrado de Pearson: 6,352 p = 0,012 OR : 3,224

TABLA 10: INSUFICIENCIA CARDÍACA CONGESTIVA ASOCIADA A CARGA PARASITARIA TOTAL DE BARTONELLA BACILLIFORMIS EN ERITROCITOS.

Parasitosis \geq 50 %	Insuficiencia Cardíaca C.		Total
	Si	No	
Si	22	53	75
No	15	69	84
Total	37	122	159

Chi-cuadrado de Pearson: 2,923 p = 0,087 OR : 1,909

TABLA 11: NEUROBARTONELOSIS ASOCIADA A CARGA PARASITARIA TOTAL DE BARTONELLA BACILLIFORMIS EN ERITROCITOS.

Parasitosis \geq 50 %	Neurobartonelosis		Total
	Si	No	
Si	22	53	75
No	12	72	84
Total	34	125	159

Chi-cuadrado de Pearson: 5,337 p = 0,021 OR : 3,224

TABLA 12: SHOCK ASOCIADO A CARGA PARASITARIA TOTAL DE BARTONELLA BACILLIFORMIS EN ERITROCITOS.

Parasitosis \geq 50 %	Shock		Total
	Si	No	
Si	21	54	75
No	8	76	84
Total	29	130	159

Chi-cuadrado de Pearson: 9,070 p = 0,003 OR : 3,694

TABLA 13: SEPSIS ASOCIADO A CARGA PARASITARIA TOTAL DE BARTONELLA BACILLIFORMIS EN ERITROCITOS.

Parasitosis \geq 50 %	Sepsis		Total
	Si	No	
Si	17	58	75
No	10	74	84
Total	27	132	159

Chi-cuadrado de Pearson: 3,255 p = 0,071 OR : 2,169

TABLA 14: DISFUNCIÓN MULTIORGÁNICA ASOCIADO A CARGA PARASITARIA TOTAL DE BARTONELLA BACILLIFORMIS EN ERITROCITOS.

Parasitosis \geq 50 %	DMO		Total
	Si	No	
Si	18	57	75
No	7	77	84
Total	25	134	159

Chi-cuadrado de Pearson: 7,339 p = 0,007 OR : 3,474

TABLA 15: TROMBOCITOPENIA ASOCIADA A CARGA PARASITARIA TOTAL DE BARTONELLA BACILLIFORMIS EN ERITROCITOS.

Parasitosis \geq 50 %	Trombocitopenia		Total
	Si	No	
Si	8	67	75
No	6	78	84
Total	14	145	159

Chi-cuadrado de Pearson: 0,613 p = 0,434 OR : 1,552

ANÁLISIS CORRELACIONAL.

Sobre los datos procesados anteriormente se realizó un análisis correlacional de la carga parasitaria total expresada en porcentaje como variable de razón y cada una de las complicaciones expresada en variable nominal dicotómica, los resultados se muestran en la tabla 16.

TABLA 16: CORRELACIÓN ENTRE LA CARGA PARASITARIA TOTAL Y LAS COMPLICACIONES SEVERAS DE LA ENFERMEDAD DE CARRIÓN DURANTE LA FASE AGUDA.

Complicaciones	Carga Parasitaria Total	
	Correlación de Pearson	p
Complicaciones severas	0,159*	0,046
Muerte	0,227**	0,004
Insuficiencia cardíaca congestiva	0,190*	0,016
Neurobartonellosis	0,202*	0,010
Shock	0,257**	0,001
Sepsis	0,172*	0,030
Disfunción multiorgánica	0,217**	0,006
Trombocitopenia	0,030	0,711

** La correlación es significativa en el nivel 0,01 (bilateral).

* La correlación es significativa en el nivel 0,05 (bilateral).

EFEECTO DE LA CARGA PARASITARIA POR CADA ERITROCITO EN LAS COMPLICACIONES SEVERAS DE LA ENFERMEDAD DE CARRIÓN.

Se presenta a continuación las tablas de contingencia (del 17 al 24) entre las variables “complicaciones severas” y la “carga parasitaria por cada eritrocito”. De igual manera que se vio para la “carga parasitaria total” se definió a la primera variable del mismo modo. La segunda variable referida a la carga parasitaria por cada eritrocito se midió en números absolutos luego fue convertida a variable nominal dicotómica, siendo afirmativa (SI) cuando el conteo es mayor o igual a 10 y negativa (NO) cuando el conteo es menor de 10. También se presenta el análisis de independencia de variables por el test Chi-cuadrado de Pearson, prueba exacta de Fisher cuando fue requerida y el cálculo del Odds Ratio.

TABLA 17: COMPLICACIONES ASOCIADAS A CARGA PARASITARIA DE BARTONELLA BACILLIFORMIS POR CADA ERITROCITO.

Parasitosis por cada eritrocito ≥ 10	Complicaciones Severas		Total
	Si	No	
Si	23	7	30
No	30	99	129
Total	53	106	159

Chi-cuadrado de Pearson: 31,245 p = 0,000 OR : 10,843

TABLA 18: MUERTE ASOCIADA A CARGA PARASITARIA DE BARTONELLA BACILLIFORMIS POR CADA ERITROCITO.

Parasitosis por cada eritrocito ≥ 10	Muerte		Total
	Si	No	
Si	18	12	30
No	6	123	129
Total	24	135	159

Chi-cuadrado de Pearson: 58,181 Prueba exacta de Fisher = 0,000 OR : 30,750

TABLA 19: INSUFICIENCIA CARDÍACA CONGESTIVA ASOCIADA A CARGA PARASITARIA DE BARTONELLA BACILLIFORMIS POR CADA ERITROCITO.

Parasitosis por cada eritrocito ≥ 10	Insuficiencia Cardíaca C.		Total
	Si	No	
Si	20	10	30
No	17	112	129
Total	37	122	159

Chi-cuadrado de Pearson: 39,000 p = 0,000 OR : 13,176

TABLA 20: NEUROBARTONELOSIS ASOCIADA A CARGA PARASITARIA DE BARTONELLA BACILLIFORMIS POR CADA ERITROCITO.

Parasitosis por cada eritrocito ≥ 10	Neurobartonelosis		Total
	Si	No	
Si	19	11	30
No	15	114	129
Total	34	125	159

Chi-cuadrado de Pearson: 38,707 p = 0,000 OR : 13,127

TABLA 21: SHOCK ASOCIADO A CARGA PARASITARIA DE BARTONELLA BACILLIFORMIS POR CADA ERITROCITO.

Parasitosis por cada eritrocito ≥ 10	Shock		Total
	Si	No	
Si	18	12	30
No	11	118	129
Total	29	130	159

Chi-cuadrado de Pearson: 43,244 p = 0,000 OR : 16,091

TABLA 22: SEPSIS ASOCIADA A CARGA PARASITARIA DE BARTONELLA BACILLIFORMIS POR CADA ERITROCITO.

Parasitosis por cada eritrocito ≥ 10	Sepsis		Total
	Si	No	
Si	20	10	30
No	7	122	129
Total	27	132	159

Chi-cuadrado de Pearson: 64,751 p = 0,000 OR : 34,857

TABLA 23: DISFUNCIÓN MULTIORGÁNICA ASOCIADO A CARGA PARASITARIA DE BARTONELLA BACILLIFORMIS POR CADA ERITROCITO.

Parasitosis por cada eritrocito ≥ 10	Daño Multiorgánico		Total
	Si	No	
Si	17	13	30
No	8	121	129
Total	25	134	159

Chi-cuadrado de Pearson: 46,778 Prueba exacta de Fisher = 0,000 OR : 19,779

TABLA 24: TROMBOCITOPENIA ASOCIADA A CARGA PARASITARIA DE BARTONELLA BACILLIFORMIS POR CADA ERITROCITO.

Parasitosis por cada eritrocito ≥ 10	Trombocitopenia		Total
	Si	No	
Si	9	21	30
No	5	124	129
Total	14	145	159

Chi-cuadrado de Pearson: 20,687 Prueba exacta de Fisher = 0,000 OR : 10,629

ANÁLISIS CORRELACIONAL

De los datos anteriormente procesados relacionados a carga parasitaria por cada eritrocito, se realizó un análisis correlacional de la carga parasitaria por cada eritrocito expresada en números absolutos como variable de razón y cada una de las complicaciones expresada en variable nominal dicotómica, los resultados se muestran en la tabla 25.

TABLA 25: CORRELACIÓN ENTRE LA CARGA PARASITARIA POR CADA ERITROCITO Y LAS COMPLICACIONES SEVERAS DE LA ENFERMEDAD DE CARRIÓN DURANTE LA FASE AGUDA.

Complicaciones	Carga parasitaria por cada eritrocito	
	Correlación de Pearson	p
Complicaciones severas	0,581**	0,000
Muerte	0,727**	0,000
Insuficiencia cardíaca congestiva	0,564**	0,000
Neurobartonellosis	0,532**	0,000
Shock	0,586**	0,000
Sepsis	0,682**	0,000
Disfunción multiorgánica	0,672**	0,000
Trombocitopenia	0,456**	0,000

** La correlación es significativa en el nivel 0,01 (bilateral).

* La correlación es significativa en el nivel 0,05 (bilateral).

ASOCIACIÓN DE VARIABLES: LA PRUEBA DE INDEPENDENCIA.

Con el fin de determinar el efecto que tiene el parasitismo de *Bartonella bacilliformis* dentro de los eritrocitos, sobre la presentación de las complicaciones severas seleccionadas para este estudio (Muerte, Sepsis, Shock, Trombocitopenia, Neurobartonelosis, ICC, DMO), como primera prueba, se practicó un test de independencia de variables (tablas 8-15 y 17-24). El valor teórico de Chi-cuadrado (X_t^2) para 1 grado de libertad es 3,84 (NC = 95 %).

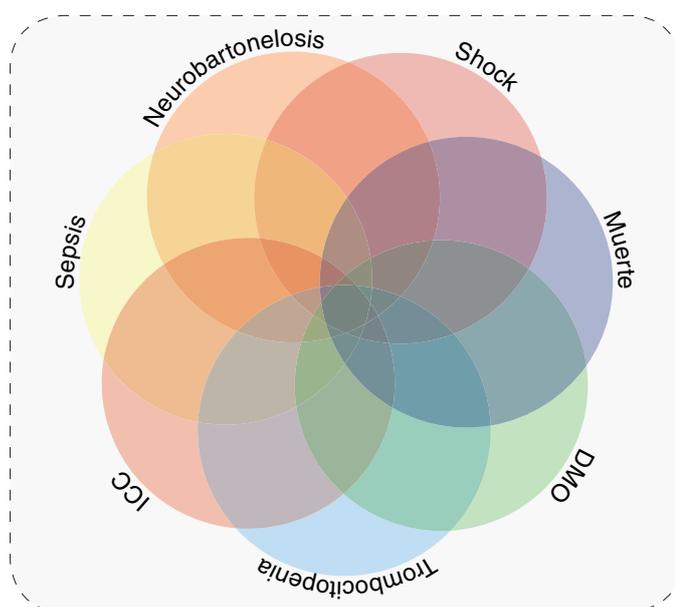


Figura 02. Esquema de las complicaciones severas tabuladas del estudio y su superposición clínica y patológica.

Se evaluó la asociación entre la carga parasitaria total de *Bartonella bacilliformis* y la presentación de complicaciones totales (tabla 08) no hallándose relación entre ambas variables ($X^2 = 2,839$ $P = 0,092$) debido a que Chi-cuadrado calculado (X_c^2) fue menor que el teórico (X_t^2) mediante el test X^2 demostramos que ambas variables son independientes una de otra, validando así la hipótesis nula (NC = 95 %).

De la misma forma se halló en el presente estudio la asociación entre carga parasitaria por cada eritrocito y la presentación de complicaciones totales (tabla 17) donde el riesgo de presentar complicaciones en un paciente diagnosticado de Bartonelosis o enfermedad de Carrión es de 10 veces mayor en el caso de conteo parasitario mayor o igual a 10 parásitos en eritrocitos frente a los que tienen niveles por debajo de 10 ($X^2 = 31,245$ $P = 0,000$ OR: 10,843).

Para el caso de muerte de pacientes se encontró asociación con la parasitosis total de *Bartonella bacilliformis* $\geq 50\%$ (tabla 09) donde el riesgo de morir por presentar parasitosis $\geq 50\%$ es de 3 veces mayor a tener nivel de parasitosis $< 50\%$ ($X^2 = 6,352$ OR = 3,224 P = 0,012). También se encontró una fuerte asociación entre la parasitosis contada por cada eritrocito ≥ 10 y la muerte de pacientes, se aplicó la prueba exacta de Fisher debido a que se presentó un resultado esperado menor a 5 ($X^2 = 58,181$ prueba exacta Fisher = 0,000 OR = 30,75) donde el riesgo de morir al presentar más de 10 bacterias por eritrocito es de 30 veces mayor al grupo de pacientes con eritrocitos que presentan menos de 10 bacterias por cada uno de ellos.

No se halló en ICC dependencia de variables con respecto a parasitosis $\geq 50\%$ ($X^2 = 2,923$ p = 0,087) debido a que X_c^2 fue menor X_t^2 validando así la hipótesis nula (tabla 10) en cambio sí hubo asociación con la carga por cada eritrocito ≥ 10 ($X^2 = 39,000$ p = 0,000 OR = 13,176) de este resultado se desprende que el riesgo de presentar ICC con un conteo parasitario por eritrocito ≥ 10 fue de 13 veces mayor que los que tuvieron valores menores a 10 (tabla 19).

Neurobartonelosis mostró dependencia de variables tanto para la parasitosis total $\geq 50\%$ (tabla 11) como a la carga por cada eritrocito (tabla 20) en ambos casos se cuenta con $X_c^2 > X_t^2$, de ello se desprende que el riesgo de desarrollar neurobartonelosis para IP $\geq 50\%$ fue de 3 veces más frente a aquellos que presentaron IP $< 50\%$ (NC = 95 %) en el caso de IP por cada eritrocito el riesgo fue de 13 veces más en pacientes con IP por cada eritrocito ≥ 10 (NC = 95 %).

Los resultados para Shock muestran dependencia de variables al ser analizadas tanto para parasitosis $\geq 50\%$ (tabla 12) como para carga parasitaria por cada eritrocito (tabla 21). En el primer caso se muestra un riesgo 3 veces mayor de presentar shock cuando se tiene IP $\geq 50\%$ (NC = 95 %), mientras que en el segundo caso el riesgo se elevó a 16 veces cuando se tiene IP ≥ 10 por cada eritrocito (NC = 95 %).

Cuando se analizó Sepsis no se mostró dependencia de variables en parasitosis $\geq 50\%$ (tabla 13) ya que $X_c^2 < X_t^2$, mientras que en la carga parasitaria por cada eritrocito (tabla 22) se evidenció asociación ($X^2 = 64,751$ p = 0,000) donde el riesgo de desarrollar sepsis fue 34 veces mayor en los pacientes que tuvieron IP mayor a 10 por cada eritrocito (NC = 95 %).

El análisis de DMO mostró dependencia de variables tanto para $IP \geq 50\%$ (tabla 14) como para $IP \geq 10$ por cada eritrocito (tabla 23) en ambos se observó $X_c^2 > X_t^2$, en el primer caso el riesgo de presentar DMO fue 3 veces más en quienes tuvieron $IP \geq 50\%$ (NC = 95 %), en el segundo caso el riesgo fue de 19 veces más en quienes $IP \geq 10$ por cada eritrocito (NC = 95 %).

La trombocitopenia que se presentó en los pacientes con enfermedad de Carrión no presentó asociación para el índice parasitario $\geq 50\%$ (tabla 15) ya que $X_c^2 < X_t^2$ ($X^2 = 0,613$ $p = 0,434$) mientras que para la presentación de trombocitopenia en pacientes con parasitosis ≥ 10 por cada eritrocito se evidenció asociación ($X^2 = 20,687$ Prueba exacta de Fisher = 0,000 OR = 10,629) se aplicó la P. exacta de Fisher debido a que se presentó un valor esperado menor a 5 (tabla 24). El riesgo de presentar trombocitopenia es 10 veces mayor en pacientes con $IP \geq 10$ (NC = 95 %).

CORRELACIÓN DE VARIABLES

Se realizó el análisis de correlación (tablas 16 y 25) con los datos obtenidos para el análisis anterior, tanto las variables de índice parasitario en porcentaje como el índice parasitario por cada eritrocito fueron tabulados como variables de razón. Se considera los valores de correlación entre -1 y +1 los valores cercanos a 1 se refieren como de “correlación intensa” mientras que el valor de cero (0) indica no relación entre variables. Los resultados de este estudio mostraron similitudes de asociación con respecto al análisis del test de independencia, esto será discutido más adelante.

EMPLEO DE LA CURVA ROC PARA PREDICTIBILIDAD DE UN EVENTO

Además, con el fin de abordar el efecto de la carga parasitaria sobre las complicaciones severas de la enfermedad de Carrión en la fase aguda, se aplicó el análisis de la curva ROC con el fin de hallar un grado de asociación más precisa que los descritos con los test anteriores, los resultados que comprenden área bajo la curva, error estándar e índice de confiabilidad (IC) se exhiben en las figuras 03 al 10.

RESULTADOS DE CURVAS ROC

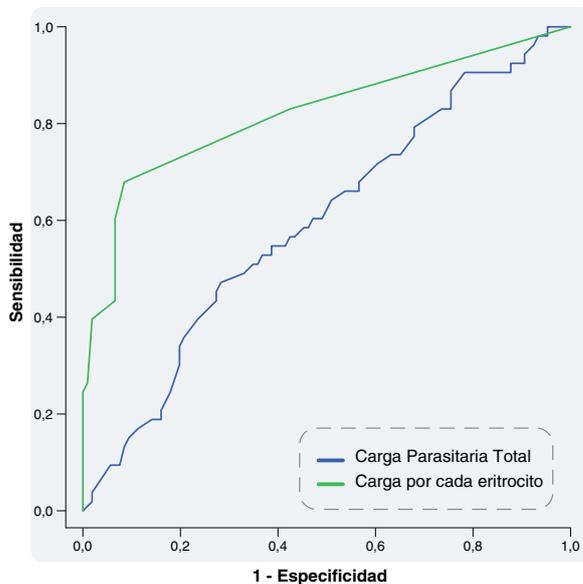


Figura 03

Complicaciones	—	—
Área bajo la curva	0,599	0,820
Error estándar	0,048	0,039
IC	0,502 - 0,689	0,743 - 0,898

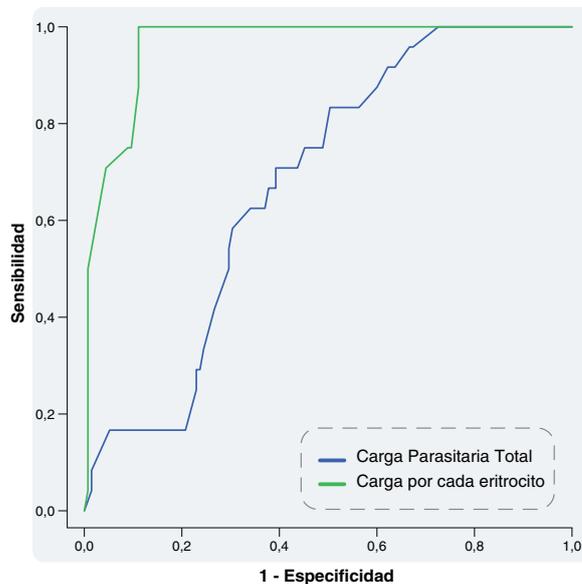


Figura 04

Muerte	—	—
Área bajo la curva	0,678	0,961
Error estándar	0,049	0,014
IC	0,582 - 0,774	0,934 - 0,989

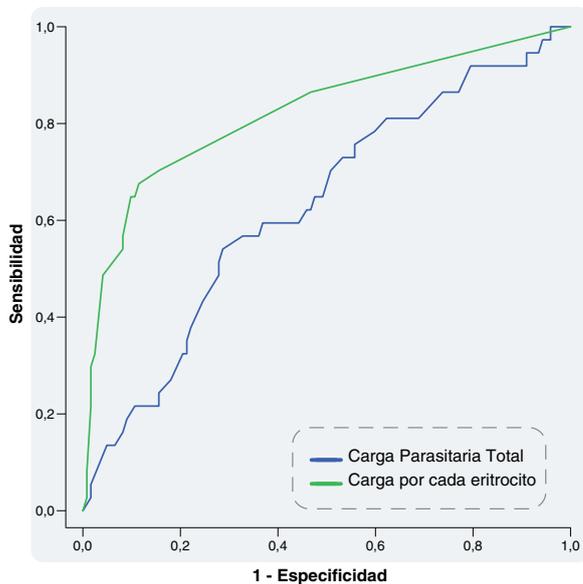


Figura 05

ICC	—	—
Área bajo la curva	0,629	0,821
Error estándar	0,052	0,044
IC	0,526 - 0,731	0,735 - 0,908

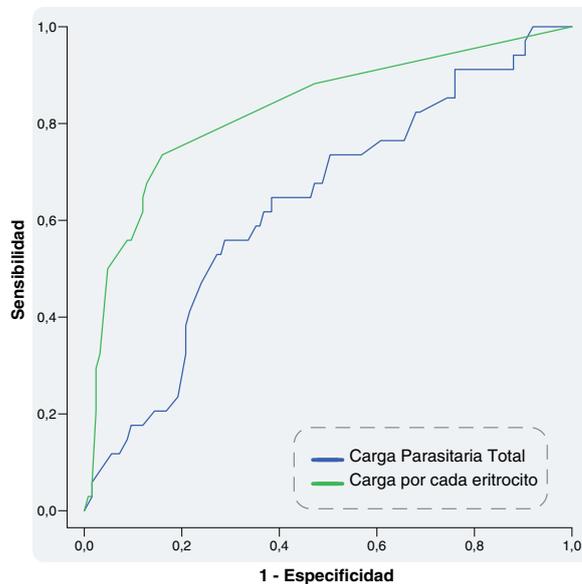


Figura 06

Neurobartonelosis	—	—
Área bajo la curva	0,633	0,827
Error estándar	0,053	0,044
IC	0,529 - 0,738	0,741 - 0,914

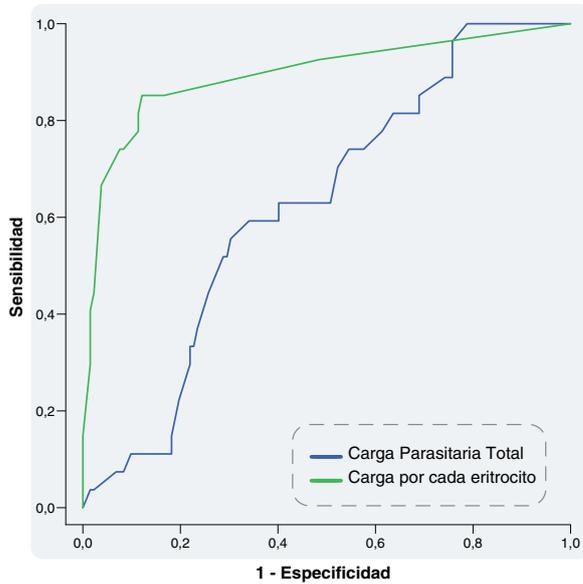


Figura 07

Sepsis	—	—
Área bajo la curva	0,626	0,894
Error estándar	0,053	0,041
IC	0,522 - 0,729	0,814 - 0,974

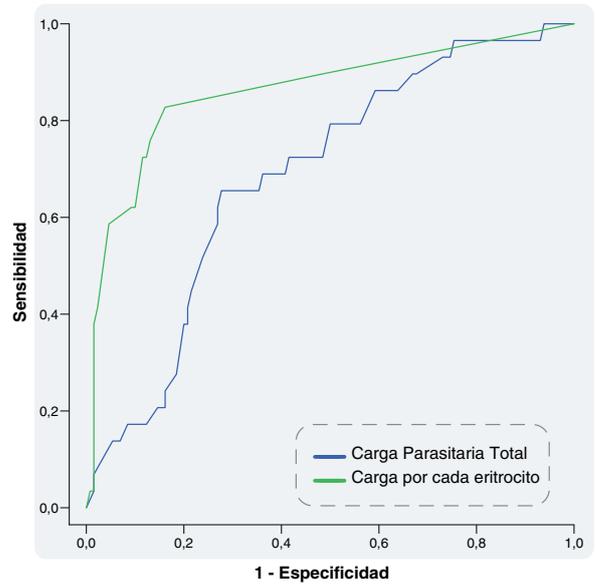


Figura 08

Shock	—	—
Área bajo la curva	0,687	0,861
Error estándar	0,051	0,044
IC	0,586 - 0,787	0,774 - 0,948

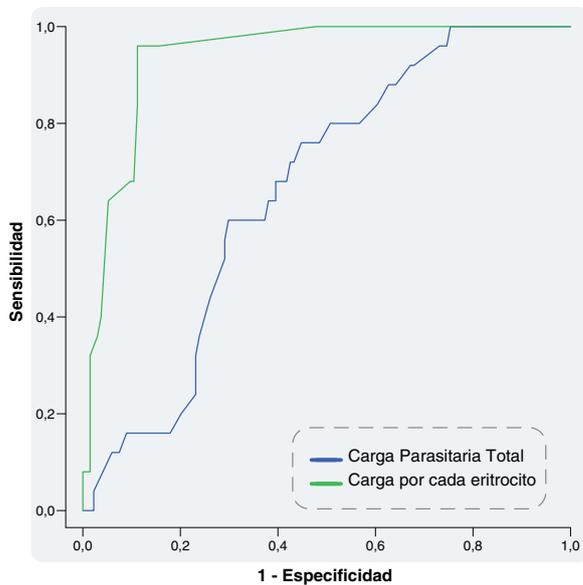


Figura 09

DMO	—	—
Área bajo la curva	0,665	0,937
Error estándar	0,050	0,020
IC	0,567 - 0,763	0,898 - 0,976

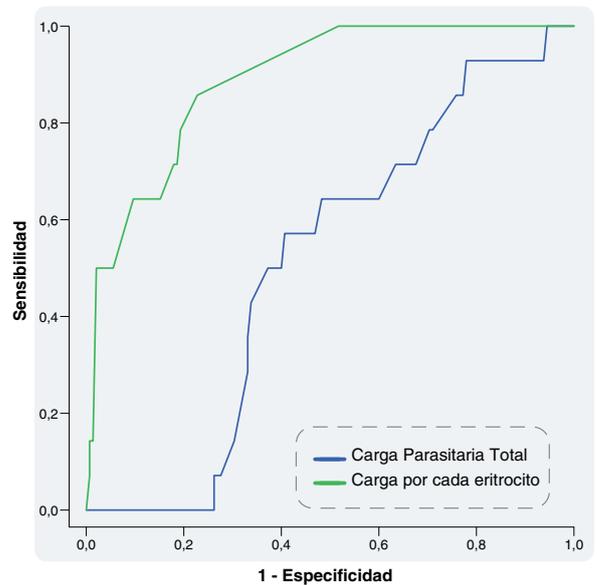


Figura 10

Trombocitopenia	—	—
Área bajo la curva	0,511	0,889
Error estándar	0,065	0,038
IC	0,384 - 0,638	0,814 - 0,964

V. DISCUSIÓN

Clásicamente se ha descrito a la enfermedad de Carrión o Bartonelosis como una enfermedad prevalente y de alta mortalidad en poblaciones altoandinas de Ecuador, Perú y Bolivia, registros históricos y actualizados muestran al departamento de Ancash como la región geográfica con más prevalencia de la enfermedad, el objetivo de este estudio consistió en determinar el efecto de la carga parasitaria de *Bartonella bacilliformis* sobre la severidad de la enfermedad de Carrión o Bartonelosis que está representada por la aparición de complicaciones que en último término puede llegar a la muerte del individuo.

Se realizó una búsqueda exhaustiva en las principales tecnologías informáticas: PubMed, LILACS, Cochrane, SciELO así como también en los repositorios de tesis de distintas universidades sobre la relación de la parasitosis y las complicaciones, no encontrándose resultado más que la sugerencia hecha por López et al.^[10, 11] y Reynafarje et al.^[15] Además los resultados obtenidos por Maguiña et al.^[9] y por López et al.^[11] encontraron promedios de carga parasitaria de 80% y 78% respectivamente en pacientes con enfermedad de Carrión durante la fase aguda pero no en el contexto de una búsqueda de asociación, sino mas bien un hallazgo o informe descriptivo. Por cuanto, el análisis cuantitativo de esta investigación es el primero conocido descrito sobre *Bartonella bacilliformis* cuyo rol patogénico de la parasitosis dentro del eritrocitos, así como también dentro del endotelio juega un rol importante sobre el grado del compromiso clínico.

Los datos explorados para este estudio no muestran asociación entre la carga parasitaria total cuando se tomó como punto de corte 50% y el desarrollo de complicaciones severas totales, lo contrario se observó en el análisis hecho por cada una de las complicaciones, mostrando asociación significativa en neurobartonelosis, shock, daño multiorgánico y muerte; no ocurrió así para insuficiencia cardíaca congestiva, sepsis y trombocitopenia. Sin embargo, es necesario recordar que por la naturaleza y el diseño del estudio de tipo retrospectivo que no fue concebido para contar con un tamaño muestral para cada complicación, no se estaría reflejando el resultado obtenido estadísticamente mas cercano a la realidad, más adelante comentaremos el papel de otros actores que estarían regulando la relación huésped-parásito en la patogenia de la enfermedad.

A primera vista, que la exploración estadística no encuentre asociación entre la carga parasitaria total, y la presencia de complicaciones severas totales de la enfermedad (tabla 08), no necesariamente implica que la carga parasitaria total, no esté relacionada con el efecto sobre la severidad de la enfermedad, esto considerando el diseño del estudio, pues hay muchas otras variables de naturaleza molecular que permanecen ocultas a la vista en el microscopio, y que tienen un papel importante en la patogenia. Sin embargo al encontrar asociación significativa en neurobartonellosis, shock, disfunción multiorgánica y muerte nos replanteamos el rol de la alta carga parasitaria, en este caso considerado a los valores superiores a 50% estaría protagonizando un papel fundamental en la patogenia y las manifestaciones clínicas, en este contexto López et al., resaltaron la idea de que la intensa parasitosis tendría un rol fundamental en la patogenia de la neurobartonellosis,^[79] esta como consecuencia del fenómeno de septicemia cuyos criterios los cumple *Bartonella bacilliformis*,^[83] así mismo Maguiña et al.^[04] relacionaron el riesgo elevado de muerte, cuando el paciente presentó estado mental alterado, anasarca y petequias.

Cuando se realizó el análisis correlacional de las variables se encontró un patrón similar que el hallado por análisis de dependencia de la variable. Si bien es cierto que en casi todos los casos se mostró cierto grado de intensidad en la asociación entre variables, para la mayoría fue débil, y nula para el caso de trombocitopenia. Lo interesante de este análisis, a diferencia de la prueba de independencia, es que se ha encontrado una correlación lineal positiva entre ambos eventos, que podría orientarnos a hallar cierta asociación alrededor de un punto de corte determinado y este, ser útil para diagnóstico, predicción y seguimiento de las complicaciones severas. Esto requieren pruebas experimentales que lo corroboren y diseños observacionales prospectivos más precisos para el abordaje de cada variable en particular.

Una variable no evaluada en esta investigación fue la invasión bacteriana del endotelio, como se ha mencionado anteriormente, el endotelio vascular también es parasitado por *Bartonella bacilliformis*, queda por aclarar su rol como reserva de la bacteria, que puede activar la enfermedad en etapas posteriores del hospedero, su efecto en la inmunología y epigenómica y el rol en la fisiopatogénesis así como en el desarrollo de complicaciones severas y mortalidad, que puede ser mucho más importante que el observado en la invasión de eritrocitos tal como lo advirtió Arias-Stella (Figura 11).^[70]

Hasta este punto, es importante traer al presente análisis los mecanismos moleculares que subyacen la patogenia de la enfermedad de Carrión. Si bien es cierto los detalles precisos aún se desconocen, se sabe que los factores de virulencia de la bacteria son fundamentales para la colonización en eritrocitos y en el endotelio. Este hecho es fundamental, pues teniendo en cuenta el conocimiento del secuenciamiento del ADN de *Bartonella bacilliformis* ha permitido, entre otros aspectos, la identificación de cepas y especies nuevas cada una con posibles variaciones moleculares que intervienen en la invasión celular. Cabe la posibilidad entonces de plantear la diversidad en la patogenia que se desarrolla entre cada cepa de la bacteria y los distintos grupos de humanos con distintas derivas genéticas y sus propias particularidades moleculares que intervienen en la relación huésped-parásito. Si bien es cierto que el abordaje epidemiológico no es tema de la presente investigación, es legítimo plantearse la posibilidad de la severidad de las manifestaciones de la enfermedad de Carrión en cada uno de los lugares que típicamente han ido reportando brotes a lo largo de décadas, es típico de la zona, así por ejemplo se ha reportado más mortalidad en algunos lugares que en otros, lo mismo sucede para las demás complicaciones. No es menos importante también, saber que, en estas zonas geográficas habituales, se estaría desarrollando adaptación genética y epigenética de sus pobladores, así como también de la bacteria a lo largo de décadas en sucesivas generaciones.

Entonces el rol fundamental que presentan los mecanismos moleculares de las proteínas de la bacteria en su mediación de invasión al endotelio y al eritrocito estaría determinando la intensidad de la patogenia que se ve parcialmente reflejado cuando se hizo el análisis a través del conteo en lámina periférica en porcentaje de la parasitosis de *Bartonella bacilliformis* obtenido de frotis sanguíneo (figura 12). La intensidad de la parasitosis nos estaría orientando hipotéticamente entonces a una mayor afinidad molecular en la relación huésped-parásito, datos que han sido corroborados parcialmente por Scherer et al.^[47] quienes inhibieron la invasión casi completamente (98%) al usar un anticuerpo monoclonal contra flagelina que evidencia su fundamental importancia en la invasión de la bacteria, también McGinnis-Hill et al.^[61] demostraron en HUVECs el mayor tiempo que requiere *Bartonella bacilliformis* para la invasión en este tipo celular así como también la modificación del citoesqueleto de la célula hospedera para la invasión.

Además, se sabe sobre la mayor afinidad de *Bartonella bacilliformis* de invadir eritrocitos humanos frente a la poca afinidad al hacerlo en eritrocitos de oveja y conejo.^[23] Estos datos sugieren que la hipotética afinidad del ligando-receptor de *Bartonella bacilliformis* en eritrocitos y endotelio humanos sería muy específica y determinaría, junto a la caracterización genética propia de una población y de un individuo, el amplio espectro clínico de la enfermedad.

Resultados más claros se obtuvo al analizar el conteo de *Bartonella bacilliformis* por cada eritrocito (figura 13), mayor a 10 bacterias, los resultados nos muestran su impacto en el desarrollo de complicaciones y la mortalidad siendo estas estadísticamente evidentes (tablas del 17 al 24).

Ya desde el trabajo de Alberto Hurtado sobre la anemia, producida en la enfermedad de Carrión, se había sugerido el aumento de las complicaciones en pacientes con parasitismo intenso.^[07] Ricketts en un estudio clínico sobre la enfermedad de Carrión sugiere el mismo hecho al describir hasta 20 bartonelas por eritrocitos en complicaciones severas.^[08] El presente trabajo mostró una inequívoca asociación con el punto de corte ya explicado anteriormente, cuando se hizo el análisis correlacional se evidenció la fuerte asociación de la carga parasitaria y cada una de las complicaciones.

Como se vio en los resultados, existe cierta asociación entre la carga parasitaria total y el desarrollo de diversas complicaciones esta asociación es fortalecida cuando se añade al análisis el hallazgo de *Bartonella bacilliformis* por cada eritrocito y este es contabilizado. La hipótesis de la afinidad receptor-ligando que está fuertemente influenciada por la caracterización genética tanto de la bacteria *Bartonella bacilliformis* como del huésped, permitiría la existencia de polimorfismos que explican por qué algunos individuos presentan mayor invasión celular, mayor inmunopatogenicidad y mayor severidad de las complicaciones, frente a otros individuos que conviven con la bacteria sin desarrollar mayor gravedad.

Sobre la misma muestra se realizó también un análisis de detección de la señal en un análisis de curva ROC para la presencia o no de cada complicación frente a la carga parasitaria en escala de numérica o de razón, los resultados que se exhiben en las figuras 03 al 10, para la carga parasitaria total muestra una predictibilidad débil (mayor a 96 % de área bajo

la curva) en los casos de muerte, disfunción multiorgánica y shock todos ellos con índice de confianza bajos que en promedio van de 55 a 75 % sin embargo al analizar con más detenimiento las curvas para estos casos podemos sugerir un punto de corte de 70 % de carga parasitaria tanto para los casos de muerte, DMO y shock. Estos valores coinciden con los valores hallados por López et al. y Maguiña et al. Puesto que en la literatura revisada hasta la fecha no se han encontrado estudios similares, se requiere nuevos estudios prospectivos que puedan ajustarse el estudio independientemente por cada variable y así demostrar la utilidad última del análisis de detección de la señal por curva ROC.

Cuando se analizó la carga parasitaria por cada eritrocito contada individualmente, se evidenció alta predictibilidad con áreas por debajo de la curva mayores a 85 % en su mayoría e índices de confiabilidad también altos. Al respecto el análisis de curva ROC de este estudio sugiere un punto de corte promedio de 4,5 bacterias por eritrocito para detectar el desarrollo de complicaciones severas. Como sucede con el caso de carga parasitaria total, se requiere nuevos estudios para fortalecer este hallazgo.

Se han realizado estudios moleculares, como el llevado a cabo por Van Overtvelt et al. con otros parásitos como *Trypanosoma cruzi* demostrándose que la carga parasitaria en células dendríticas medida en ratios (1:1, 5:1, 10:1 y 20:1) determina inequívocamente la inhibición y activación de diversas vías inmunológicas y esta a su vez se correlaciona con la severidad de la enfermedad.^[84] Hallazgos como este, nos invitan a suponer que también hay mediadores moleculares de *Bartonella bacilliformis* que determinan su nivel de parasitismo y que estos están estrechamente relacionados con la inmunosupresión característica de la enfermedad de Carrión que explica la variedad de sus complicaciones leves y severas que presentan los pacientes en la fase aguda.

Minnick M. y Battisti J. hicieron una revisión sistemática sobre los mecanismos de invasión celular de varias especies de *Bartonella* en ella destacan la habilidad única de *Bartonella bacilliformis* con respecto a las demás especies, de invadir agresivamente los eritrocitos (hematofismo) que en la fase aguda de la enfermedad se acompaña de rápida anemia y deterioro del paciente, así como también los mecanismos inmunológicos que ya se comprende cada vez mejor ^[85] y es responsable de las complicaciones severas que abordamos en este estudio.

Nos encontramos entonces ante un espectro amplio (figura 14) que involucra receptores y ligandos celulares con especificidad diversa, influenciada por la genética, así como también el espectro clínico que varía del portador asintomático hasta el paciente que desarrolla complicaciones severas en pocos días para luego fallecer, paralelamente observamos la lenta evolución de las especies de bartonella que mutan con grados impredecibles de patogenicidad, y la adaptación genética y epigenética de los pobladores de las zonas habituales o nichos epidemiológicos que han permanecido aislados sin mucho intercambio genético con otros seres humanos. Es evidente que todos estos factores deben ser estudiados a profundidad con las técnicas de biología molecular para determinar la naturaleza última de la enfermedad que tanto inquietó a Carrión, así como también dar con blancos farmacéuticos y una inmunización efectiva que evite la muerte en poblaciones habituales a los brotes de esta enfermedad.

Los hallazgos de esta investigación, por tanto, en el que se utilizó el diagnóstico a través de microscopía óptica, que como vimos es una pequeña parte del amplio espectro de la enfermedad, ha demostrado ser útil con sus respectivas limitaciones y nos dibuja un nuevo panorama sobre la bartonelosis que no estaba contemplada sino después del desarrollo de las técnicas científicas que han llevado a la manipulación del átomo y al entendimiento de la mensajería molecular que explicarían en último término el mecanismo final de la enfermedad de Carrión. Se espera en el futuro abordar con mayor precisión la prevención el diagnóstico y el tratamiento de esta enfermedad y entender la magnitud de su complejidad que hasta ahora la hemos estado contemplando cual punta de un Iceberg.

VI. CONCLUSIONES

1. La carga parasitaria tiene efecto sobre el desarrollo de complicaciones severas, favoreciéndolas.
2. La carga parasitaria total presentó baja asociación para el desarrollo de complicaciones severas en quienes padecieron enfermedad de Carrión.
3. La carga parasitaria contada por cada eritrocito está asociada a la presentación de complicaciones.
4. Se observó asociación estadísticamente significativa entre la carga parasitaria total y para las siguientes complicaciones severas: shock, neurobartonelosis, disfunción multiorgánica y muerte.
5. Se observó asociación estadísticamente significativa entre la carga parasitaria contada por cada eritrocito y entre todas las complicaciones severas.
6. La carga parasitaria total y las complicaciones severas estudiadas presentaron correlación débil.
7. La carga parasitaria contada por cada eritrocito y todas las complicaciones severas estudiadas presentaron entre si una correlación positiva fuerte.
8. El análisis de detección de la señal por curva ROC mostró baja predictibilidad entre la carga parasitaria total y la presentación de cada una de las complicaciones estudiadas.
9. La alta predictibilidad de la carga parasitaria contada por cada eritrocito sobre la presentación de cada una de las complicaciones estudiadas, fue evidenciada mediante el empleo de curvas ROC.

VII. RECOMENDACIONES

Diversos autores han circunscrito el rol de los mediadores inmunológicos que ejerce *Bartonella bacilliformis*, se aconseja realizar estudios experimentales que avalen las observaciones recogidas en el presente estudio. Por tanto, se recomienda utilizar los modelos celulares para el hallazgo de vías moleculares y así determinar el comportamiento biológico de las interacciones inmunológicas que predicen finalmente la entidad clínica de la enfermedad de Carrión.

Debido a que no se han registrado estudios de este tipo se recomienda ampliar las observaciones en muestras mayores a las conseguidas en el presente estudio en diseños prospectivos, así como también el abordaje de nuevas técnicas diagnósticas de biología celular y molecular.

No está claro aún el rol que cumple el parasitismo endotelial en la rápida progresión de la enfermedad que a menudo se observa en la fase aguda, por tanto, se recomienda ampliar estudios sobre el parasitismo de *Bartonella bacilliformis* dentro del endotelio, como ya se ha demostrado la importancia del endotelio en la fisiopatogénesis de la enfermedad, con la finalidad de obtener abordajes diagnósticos y terapéuticos más precisos.

Se aconseja también plantear la variación en la fisiopatología de la enfermedad de Carrión en la altura con diferencia a la presentada en valles costeros con el fin de establecer las bases moleculares de la adaptación a la altura en la enfermedad de Carrión.

“La imaginación es mas importante que el conocimiento”

Albert Einstein

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

01. Maguiña C., Ordaya E. Bartonellosis: Carrion's Disease and Other Bartonella Infections. En: Magill AJ, Ryan ET, Solomon T, Hill DR. Hunter's Tropical Medicine and Emerging Infectious Disease, 9th Edition, El Sevier, 2012, p. 564-567.
02. Ministerio de Salud. Doctrinas, normas y procedimientos para el control de bartonelosis o Enfermedad de Carrión en el Perú. Lima 1998.
03. ISGlobal: instituto de salud global Barcelona [internet], Barcelona noviembre 2014 [citado diciembre 2016] 7 datos sobre la enfermedad de Carrión: http://www.isglobal.org/es/web/guest/publication/-/asset_publisher/ljGAMK-Twu9m4/content/7-datos-sobre-la-enfermedad-de-carrion
04. Maguiña C. Bartonellosis o enfermedad de Carrión. Nuevos aspectos de una vieja enfermedad. Lima: Editores Importadores; 1998.
05. Castillo R; Terrones C; Yaba D; Ventosilla P. Enfermedad de Carrión: denominación correcta, pero no la única. Acta méd. peruana [online]. 2009, vol.26, n.1, pp. 7-8.
06. Huarcaya EF. Propuesta de un modelo matemático de la tasa de bartonelosis en el departamento de Cusco en relación con factores climáticos y el fenómeno del niño 1997-1998. Tes maestría, UPCH. Lima 2003.
07. Hurtado A. La anemia de la Enfermedad de Carrión (Verruga Peruana), Anales de la Facultad de Medicina folio XXXI, N° 2, 1938:124-125.
08. Ricketts W. Clinical manifestations of Carrion's disease. Arch Intern Med 1949; 84: 751 - 781.
09. Montoya M, Maguiña, et al. Brote epidémico de Enfermedad de Carrión en el Valle Sagradode los Incas(Cuzco). Boletín SocPer Med Interna 1998; 11: 170 - 176.
10. Lopez D. et al. Púrpura trombocitopénica y bartonelosis aguda (enfermedad de Carrión) en Huaraz, Perú. Acta Med Per 2006; 23(1):6-11.
11. López 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.
12. Maguiña C, Gotuzzo E, Carcelén A, Salinas C, Cok J, Recavarren S, Busalleu A. Compromiso gastrointestinal en bartonelosis o enfermedad de Carrión. Rev Gastroent Perú 1997;17:31-43.

13. Maguiña C. Estudio clínico de 145 casos de bartonelosis en el Hospital Nacional Cayetano Heredia: 1969-1992. Tes Dr UPCH, 1993.
14. Arias-Stella, Perez-Tamayo, Carbonelli L. "Bartonelosis, Verruga Peruana, Enfermedad de Carrión, Fiebre de la Oroya, Verruga de los Andes". Texto de patología. Segunda edición. pp 175-181. La prensa médica Mexicana 1971.
15. Reynafarge C, Ramos J. The hemolytic anemia of human bartonellosis. *Blood*. 1961;17:568-78.
16. Zahringer U, Lindner B, Knirel YA, et al. Structure and biological activity of the short-chain lipopolysaccharide from *Bartonella henselae* ATCC 49882T. *J Biol Chem* 2004;279:21046–21054.
17. Rondani C.. Sopra una Specie di Insetto Dittero. Memoria Prima per Servire alla Ditterologia Italiana n°1. 1840. Donati. Parma. 16 pp.
18. Maguiña C., Garcia P., Gotuzo E., Et al. Bartonellosis (Carrión's Disease) in the Modern Era, *Clin Infect Dis*. (2001) 33 (6): 772-779.
19. Giladi M., Ephros M., *Bartonella Infections, Including Cat-Scratch Disease*. En: Dennis Kasper, Anthony Fauci, Stephen Hauser, Dan Longo, J. Larry Jameson, Joseph Loscalzo, Harrison Principios de Medicina Interna 19th edición en español, McGraw Hill; 2016, p. 1083.
20. García-Cáceres U. Historiografía de la enfermedad de carrión. Ideas e imágenes de la enfermedad de carrión. Análisis historiográfico de la iconografía de la bartonelosis humana. I parte. *Folia Dermatol Peru* 1998; 9:47-54.
21. Lanfranco C. Notas biográficas de Daniel A. Carrión 1885-1985, Centenario de su inmolación. *Diagnóstico* 1985; 16:88-96.
22. Maguiña C. Maguiña T. Nuevos aportes sobre la historia de la verruga peruana o Enfermedad de Carrión. *Diagnóstico* 1984:13:47-51.
23. Pachas P. Enfermedad de Carrión (Bartonellosis) en el Peru. Lima. Ministerio de Salud, OGE, INS.2001.
24. Schultz M. A history of bartonellosis (Carrión's disease) *Am J Trop Med Hyg* 1968;17:503-515.
25. Pérez J., Ogusuku E. Historical aspects of the vectors of bartonellosis and leishmaniasis in Peru. *Bol Dir Malariol San Amb* 1995;35:Supl 1:277-294
26. Cueto M. Tropical medicine an bacteriology in Boston and Peru: Studies of Carrión Disease in the early twentieth century. *Medical History* 1996; 40:344-364
27. Oficina sanitaria panamericana. Verruga peruana. *bol of sanit panam* 1939;18:879-882.
28. Noguchi H, Battistini T. Etiology of Oroya Fever. I. Cultivation of *Bartonella*

- bacilliformis. *J Exp Med* 1926;43:851-864.
29. Kuczinsky M. La autoexperiencia del profesor M. Kuczinsky Godard. *Ref Med* 1937; 23: 758.
 30. Kuczinsky M. Un caso de verruga humana por autoinoculación experimental. (Comunicación leída en la Academia de Medicina por el Dr. D. Mackeheim).
 31. Murray P., Rosenthal K., Pfaller M., *Microbiología Médica*, 7ª Ed, ElSevier, 2013. p 397.
 32. Segura F. Infecciones causadas por Bartonella. En: Rozman C., Cardellach F. *Farreras-Rozman Medicina Interna*. vol 2, 17a Ed . El Sevier; 2012. p. 2114-2115
 33. Solano M., Solano V. La Enfermedad de Carrion y la biología de bartonella bacilliformis. *Rev. Per . med . Trop . UNMSM*. 5: 13-18, 1991.
 34. 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.
 35. Bass J., Vincent J., Person D. The expanding spectrum of Bartonella infections: I. Bartonellosis and trench fever. *Pediatr Infect Dis J* 1997;16:2-10
 36. Anderson B., Neuman M. Bartonella spp. As emerging human pathogens. *Clin Microbiol Rev*. 1997;10:203–19.
 37. Regier Y., O'Rourke F., Kempf V. Bartonella spp. a chance to establish One Health concepts in veterinary and human medicine. *Parasites & Vectors* (2016) 9:261.
 38. Maguiña C., Ugarte C., Breña P., Ordaya E., Ventosilla P., Huarcaya E., Henriquez C. Actualización de la enfermedad de Carrión. *Revista Médica Herediana*. Lima 2008.
 39. Birtles R., Harrison N. et al. Taxonomic consideration of Bartonella bacilliformis based on phylogenetic and phenotypic characteristics. *FEMS Microbiol Letter* 1991;83:187-192.
 40. Birtles R, Fry N, Ventosilla P, et al. Identification of B. bacilliformis genotypes and their relevance to epidemiological investigation of human Bartonellosis. *J Clin Microbiol* 2002; 40(10): 3606-3612.
 41. Brenner J., McWorter P., Winkler H., Steigerwalt A. 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 com. nov., and to remove the family Bartonellaceae from de order Rickettsiales. *Int J Syst Bacteriol* 1993;43:777-86W.

42. Dehio C. Molecular and cellular basis of *Bartonella* pathogenesis. *Annu Rev Microbiol.* 2004 ;58:365-390.
43. Rolain J., Raoult D. Bartonella Infections. En: Lee Goldman, Andrew Schaffer, Goldman's Cecil Medicine. Vol 2, 24th edition, El Sevier, 2012. p. 1910-1914.
44. Knobloch J. Analisis and preparation of Bartonella bacilliformis antigens. *Am J Trop Med Hyg* 1988;39:173-178
45. Knobloch J., Schreiber M. Bb65 a major immunoreactive protein of Bartonella bacilliformis. *Am J Trop Med Hyg* 1990;43:373-379
46. Mernaugh G, Ihler G. Deformation factor: an extracellular protein synthesized by Bartonella bacilliformis that deforms erythrocyte membranes. *Infect Immun* 1992;60:937-943.
47. Scherer D., DeBuron-Connors I, Minnick M. Characterization of Bartonella bacilliformis flagella and effect of anti-flagellin antibodies on invasion of human erythrocytes. *Infect Immun* 1993;61:4962-4971.
48. Ihler G. Bartonella bacilliformis: dangerous pathogen slowly emerging from deep background. *FEMS Microbiol Lett* 1996;144:1-11
49. Slater LN., Welch DF. *Bartonella*, Including Cat-Scratch Disease in: Mandell GL., Bennett JE., Dolin R. Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and practice of Infectious Diseases, 7 edition, Vol 2, El Sevier, 2009. Pag 2995-3009
50. Walker TS, Winkler HH. *Bartonella bacilliformis*: colonial types and erythrocyte adherence. *Infect Immun.* 1981; 31:480-486.
51. 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.
52. Minnick MF. Virulence determinants of *Bartonella bacilliformis*. In: Anderson B, Friedman H, Bendinelli M, eds. *Rickettsial Infection and Immunity*. New York: Plenum Press; 1997:197-211.
53. Mernaugh G, Ihler GM. deformation factor: an extracellular protein synthesized by Bartonella bacilliformis that deforms erythrocyte membranes. *Infect Immun.* 1992;60:937-943.
54. Xu Y-H, Lu Z-Y, Ihler GM. Purification of deformin, an extracellular protein synthesized by Bartonella bacilliformis which causes deformation of erythrocyte membranes. *Biochem Biophys Acta.* 1995;1234:173-183.
55. Mitchell SJ, Minnick MF. Characterization of a two-gene locus from Bartonella bacilliformis associated with the ability to invade human erythrocytes.

- Infect Immun. 1995;63:1552-1562.
56. Benson LA, Kar S, McLaughlin G, et al. Entry of Bartonella bacilliformis into erythrocytes. Infect Immun. 1986;54:347-353.
 57. Huarcaya E, Maguiña C, Best I, et al. Immunological pattern of patients with acute and chronic phase of Bartonella bacilliformis infection in a endemic area in Peru. Abstracto 1066 presentado en el ASTHM 55th Annual Meeting. Atlanta. 12-16 de noviembre del 2006.
 58. Garcia FU, Wojta J, Broadley KN, et al. Bartonella bacilliformis stimulates endothelial cells in vitro and is angiogenic in vivo. Am J Pathol. 1990;136:1125-1135.
 59. Garcia FU, Wojta J, Hoover RL. Interactions between live Bartonella bacilliformis and endothelial cells. J Infect Dis. 1992;165:1138-1141.
 60. Conley T, Slater L, Hamilton K. Rochalimaea spp. Stimulate endothelial cell proliferation and migration in vitro. J Lab Clin Med. 1994;124:521-528.
 61. McGinnis-Hill E, Raji A, Valenzuela MS, et al. Adhesion to and invasion of cultured human cells by Bartonella bacilliformis. Infect Immun. 1992;60:4051-4058.
 62. Patrucco R. Estudio de los parámetros inmunológicos en pacientes portadores de la Enfermedad de Carrión. Diagnóstico 1983;12:138-144.
 63. Cuadra M, Takano J. The relationship of Bartonella bacilliformis to the blood cell as revealed by electron microscopy. Blood 1969;33:708-716.
 64. Orrego JL, Leon AC. Enfermedad de Carrión en el Departamento de Ancash: morbimortalidad, tratamiento y complicaciones, 1973-1983. Tesis Bachiller Medicina. Trujillo, U.N.T., 1984.
 65. Pachas P. Epidemiología de la bartonelosis en la Región Chavín. Libro de resúmenes de trabajos libres. IX Congreso Nacional de Medicina Interna. Lima 1996.
 66. Maguiña C. Estudio electroforético en suero de 16 pacientes portadores de bartonelosis humana en fase eruptiva. Diagnóstico 1986;17: 88-90.
 67. Minnick M., Strange J., Willians K. Characterization of the 16S-23S rRNA intergenic spacer of Bartonella bacilliformis. Gene 1994;143:149-150
 68. Arias-Stella J, Arias-Stella J Jr. Las inclusiones de Rocha-Lima en la verruga peruana. Folia Dermatológica 1996;7:37-42.
 69. 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.
 70. Arias-Stella J. "Bartonellosis. De Endemia Regional a Infeccion emergente mundial" Acta Medica Peruana Vol. XVII No. 1 Julio de 1999.

71. Gotuzzo EH. Enfermedades emergentes y re-emergentes en el Perú. *Rev Med Hered* 2002; 13(2): 37-39.
72. Montoya ML, Maguiña CV. Bases teóricas de la microbiología y fisiopatología en la infección por *Bartonella bacilliformis*. *Rev Peru Enf Inf Trop* 2005; 3(1): 26-36.
73. López de Guimaraes D, Ávila Polo F, Villanueva Palacios J. Enfermedad de Carrión en Huaraz: 131 casos en fase aguda. En: Libro de Resúmenes del VI Congreso de Enfermedades Infecciosas y Tropicales. Lima: Sociedad Peruana de Enfermedades Infecciosas y Tropicales;1999. p. 115.
74. Herrer A. Epidemiología de la Verruga Peruana. Editado por Gonzales - Muga-buru, 1990. 120 pp.
75. Maguiña C. Estudio de 23 casos de Bartonelosis humana en San Marcos, Ancash. *Diagnóstico*, 1981; 7(6): 257-266.
76. Ventura G.; Padilla C. Diagnóstico bacteriológico de la Bartonelosis humana o enfermedad de Carrión. Lima: Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud, 2006. 52 p.
77. Perú. Ministerio de Salud. Atención de la Bartonelosis o Enfermedad de Carrión en el Perú: Norma Técnica N° 048-MINSA/DGSP-V.01. Lima. Instituto Nacional de Salud. Ministerio de Salud. 2007.
78. Kasper D., Fauci A., Hauser S., Longo D., Jameson J., Loscalzo J, Harrison Principios de Medicina Interna 19th edicion en español, McGraw Hill; 2016
79. López D, Vera J, Menacho J, Ávila F, Loarte C. Neurobartonelosis: 17 casos observados en Huaraz, *Acta Med Peru* 2005; 21(1): 8-15.
80. Declaración de Helsinki de la asociación Médica Mundial. Principios Éticos para la investigación médica en seres humanos. 59° Asamblea General. Corea. Octubre 2008.
81. Siurana J. Los principios de la bioética y el surgimiento de una bioética intercultural. *Rev Veritas* 2010; 22: 121-157.
82. Ministerio de Salud. Reglamento de ensayos clínicos. Lima, Minsa; 2010.
83. Hotchkiss RS, Karl IE. The pathophysiology and treatment of sepsis. *N Engl J Med* 2003; 348:138-150.
84. Van Overtvelt L., Vanderheyde N., Verhasselt V., Ismaili J., De Vos L., Goldman M., Willems F., Vray B. Trypanosoma Cruzi infects human dendritic cells and prevents their maturation: inhibition of cytokines, HLA-DR, and costimulatory molecules. *Infect Immun*. 1999 Aug; 67(8): 4033-40.
85. Minnick M., Battisti J. Pestilence, persistence and pathogenicity: infection strategies of Bartonella. *Future Microbiol*. 2009. 4: 743–75.

ANEXOS

IX. ANEXOS

ANEXO 01

SOLICITO: Autorización para la realización de trabajos observacionales de investigación clínica.

SR. DIRECTOR DEL HOSPITAL VICTOR RAMOS GUARDIA-HZ

De mi mayor consideración, me dirijo a usted para saludarle cordialmente y solicitarle la autorización para la ejecución del Proyecto de Investigación: “Carga parasitaria de *Bartonella bacilliformis* y su efecto sobre la severidad de la enfermedad de Carrión durante la fase aguda” de mi autoría, en las instalaciones del Hospital. Solicito a Ud. ordene a quien corresponda, se me otorgue permiso para poder realizar dicha investigación.

Agradeciendo su gentil atención, quedo a espera de su respuesta.

Atentamente

Christian Ronald Espinoza Diaz

DNI: 44941857

ID: 000054563

Huaraz, 20 de Setiembre del 2016

Adjunto: Copia de Proyecto de Investigación.

ANEXO 02



MEMORANDUM Nro. **02348** -2016-RA-DIRES-A-H"VRG"-HZ/UADI.

Asunto : Autorización de Proyecto de Investigación

A : Lic. Edwin Asnate Salazar.
Jefe de la Unidad de Estadística e Informática.

REF. : Proveído Nro.24-2016-RA-DIRES-AH"VRG"-HZ/CIEP.

Fecha : Huaraz, **04 OCT 2016**

Por el presente se le comunica a Ud., que, en coordinación con el Comité de Ética e Investigación del Hospital "Victor Ramos Guardia"-Huaraz, se realizará la ejecución del Proyecto de Investigación denominado "Carga Parasitaria de Bartonella Baciliformes en eritrocitos como predictor de severidad en la enfermedad de Carrión durante la fase aguda" en el Hospital "Victor Ramos Guardia"-Huaraz-2016, por lo que se solicita brindar el apoyo que el caso amerita, a don Christian Ronald Espinoza Díaz, asimismo el responsable dejará una copia de dicho estudio a la Unidad de Capacitación. Proceder en consecuencia.

Atentamente,



RE: C.M.C.P. (pre.)
cc. Sec. Dirección
U.P.I.
U. Estadística
U. Medicina
U. Capacitación
Hz. 05.10.2016.



GOBIERNO REGIONAL DE ANCASH
Dirección Regional de Salud - Ancash
Hospital "Victor Ramos Guardia" Nivel II-2 - Huaraz
Edwin Asnate Salazar
Edwin Asnate Salazar
DIRECTOR EJECUTIVO
C.M.P. 30454 R.N.E. 21764

ANEXO 03

HOJA DE RECOLECCION DE DATOS 01
Para la oficina de registro de enfermedades metaxénicas

N° ORDEN	FECHA	EDAD		H . CL.	RESULTADO PORCENTAJE DE PARASITOSIS	CONTROL DE TRATAMIENTO				OBSERVACIÓN	
		M	F			SHOCK	ICC	DMO	MUERTE		

ANEXO 05:

FIGURAS COMPLEMENTARIAS

FIGURA 11

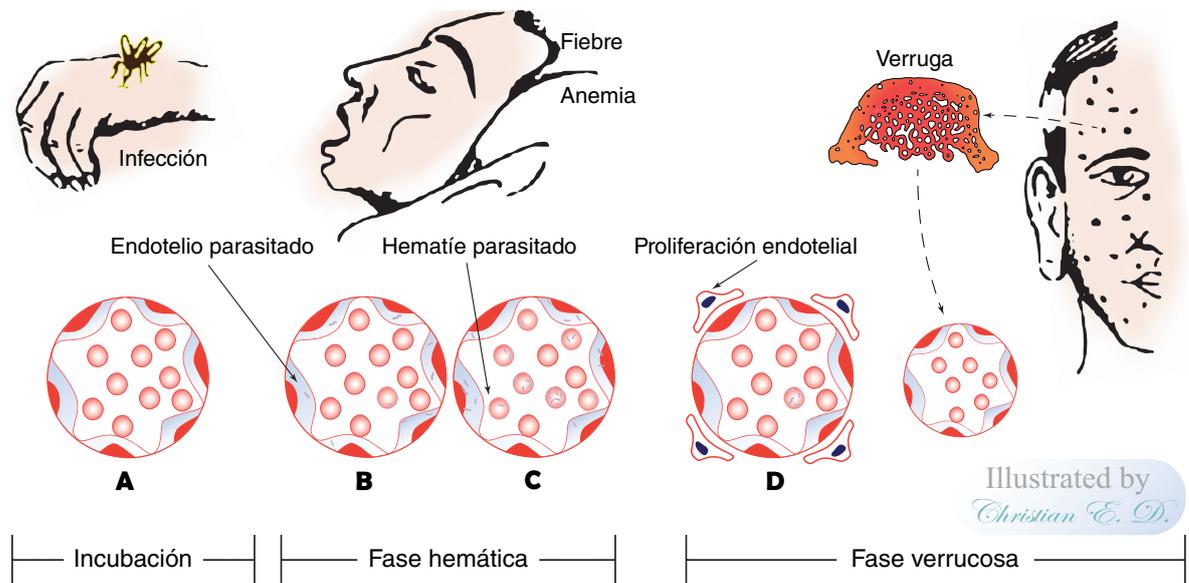


Figura 11. Representación esquemática de las fases de la enfermedad de Carrion. (A) Incubación suele durar entre 30 a 120 días en promedio. (B) y (C) La bacteria *Bartonella bacilliformis* parasita endotelio y eritrocitos. (D) en la fase verrucosa se observa proliferación del endotelio. Adaptado de: Javier Arias-Stella "Bartonellosis. De Endemia Regional a Infección emergente mundial" Acta Medica Peruana Vol. XVII No. 1 Julio-Setiembre de 1999.

FIGURA 12

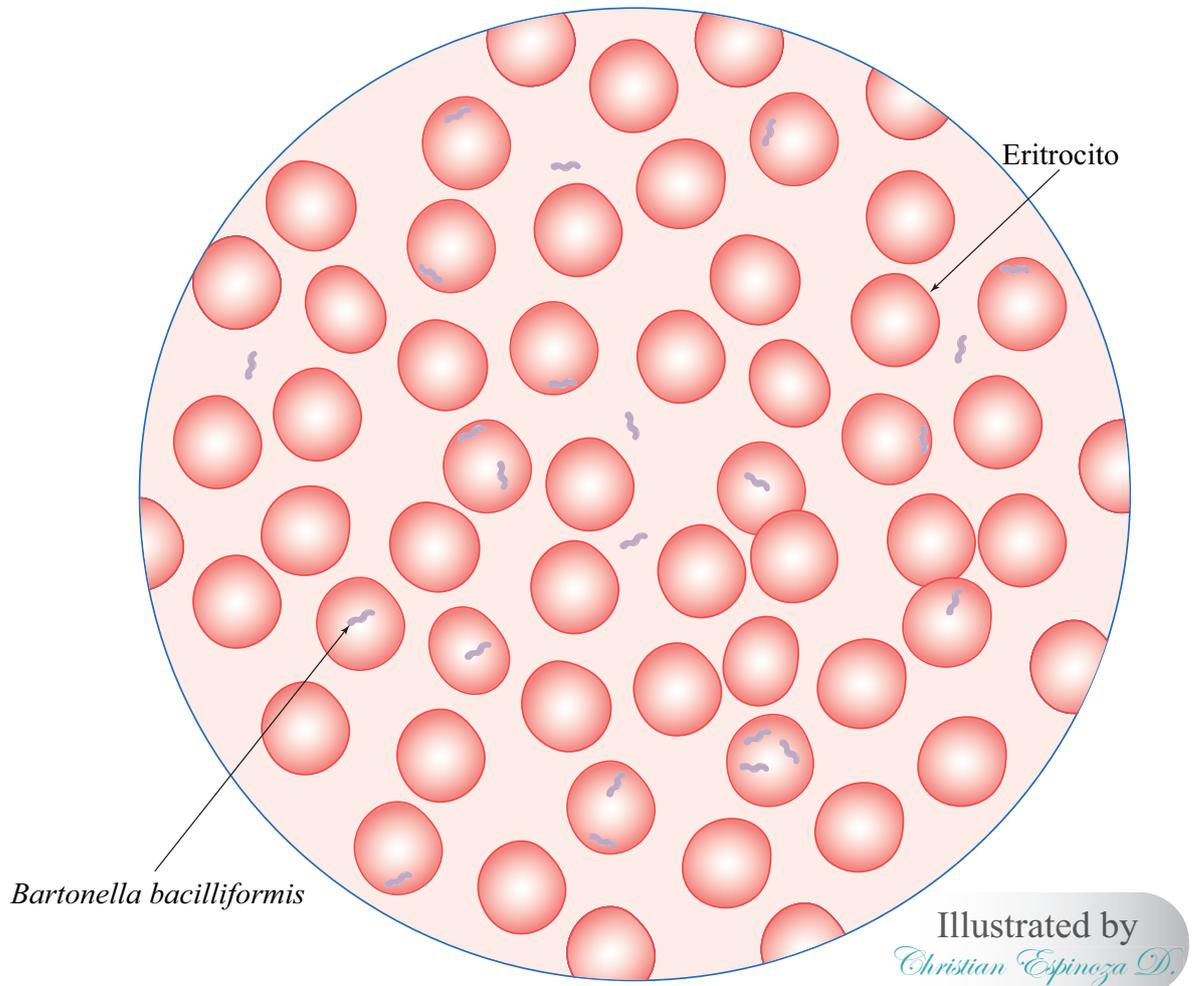


Figura 12. Representación esquemática de la observación de un campo microscópico en el que se puede observar eritrocitos parasitados por *Bartonella bacilliformis*.

FIGURA 13

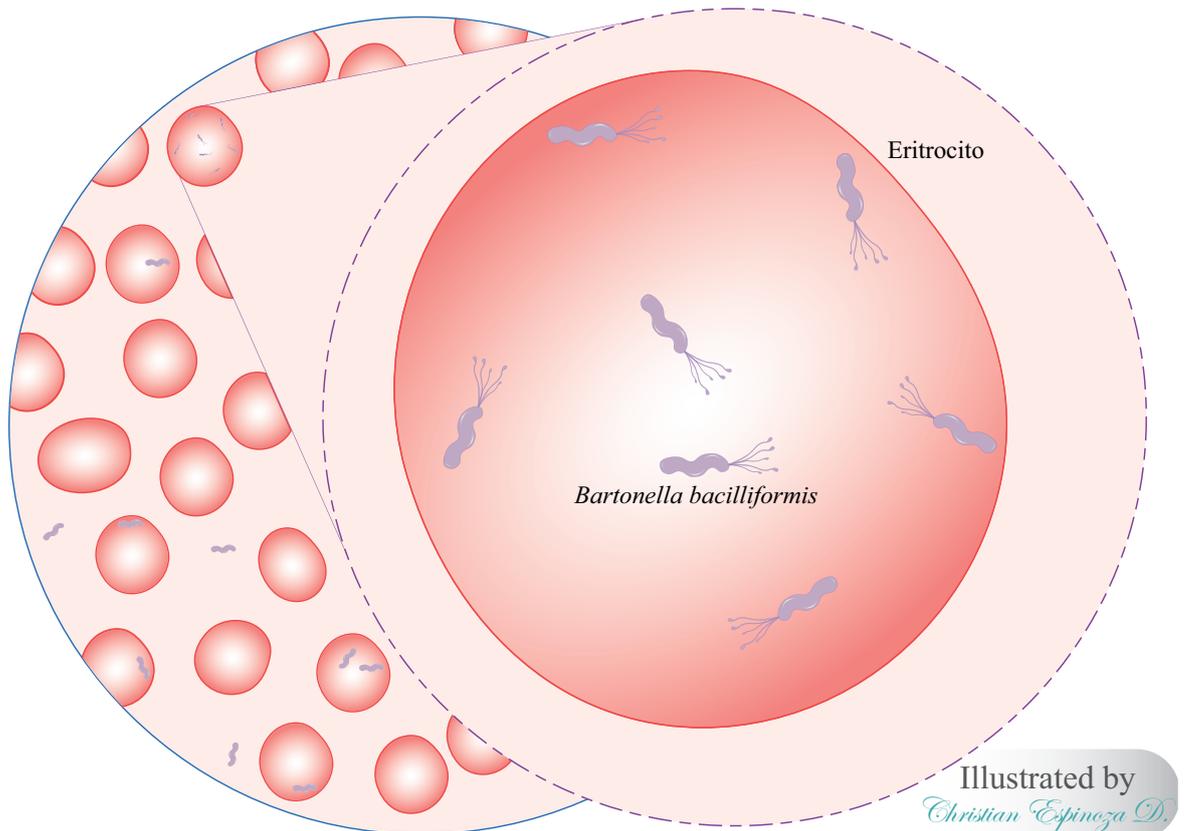
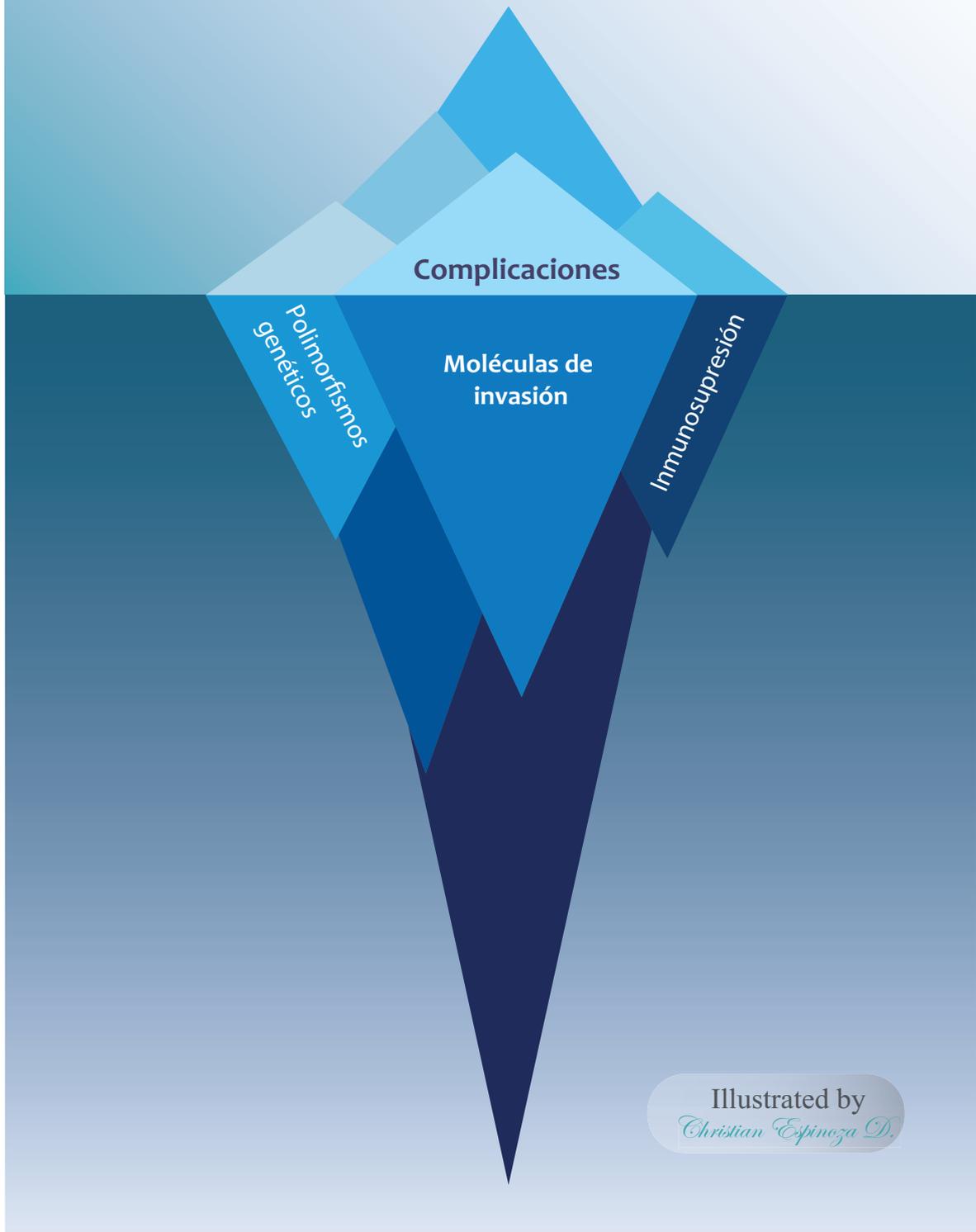


Figura 13. Representación esquemática de la invasión de *Bartonella bacilliformis* al interior de un eritrocito, nótese la representación de los flagelos polares.

Enfermedad de Carrión Espectro de la patogenicidad



Illustrated by
Christian Espinoza D.

Figura 14. La enfermedad de Carrión, espectro de la patogenicidad. Se representan algunos de los fenómenos ocultos y visibles en la patogenicidad de la enfermedad.

FIGURA 15



Figura 15. Distintas láminas de frotis sanguíneo obtenidos de pacientes que resultaron positivos para enfermedad de Carrion o Bartonelosis. Registro microbiológico del HVRG-Huaraz.

FIGURA 16

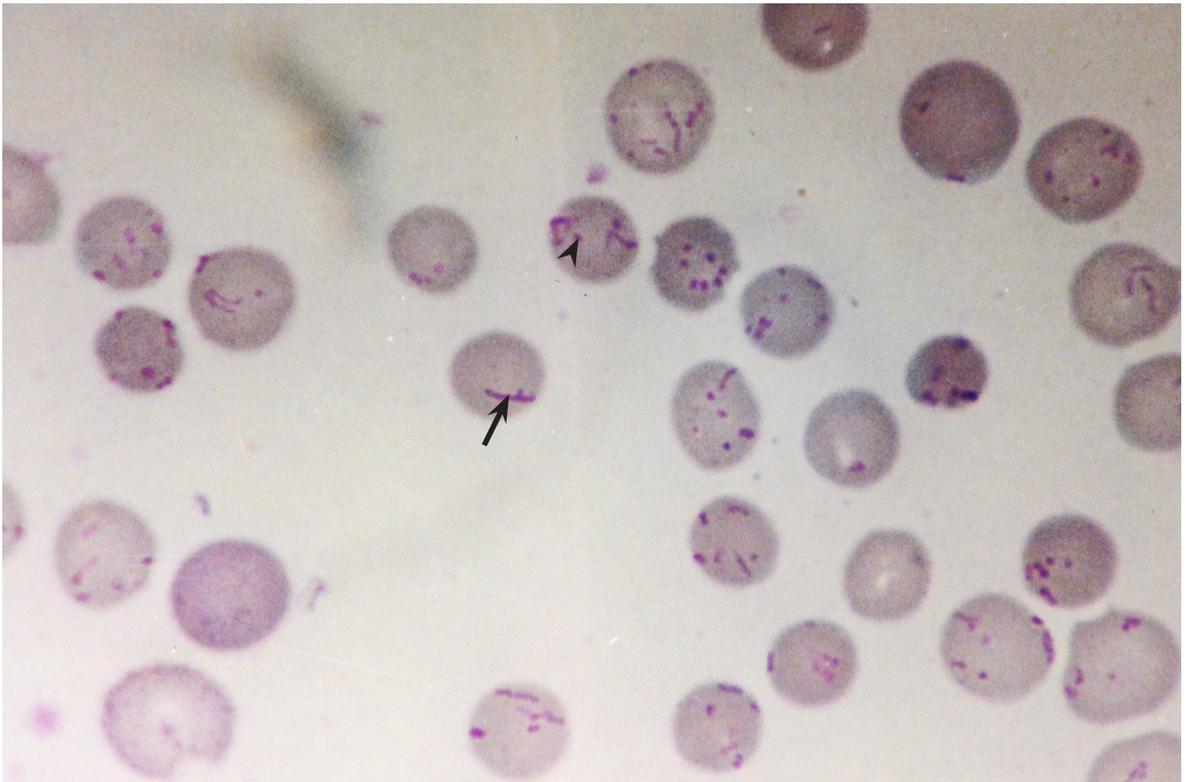


Figura 16. Observación al microscopio óptico con aumento 1000x, de una lámina de sangre periférica en un paciente con enfermedad de Carrion, diagnosticado en HVRG-Huaraz. Nótese formas cocoides (cabeza de flecha) y formas bacilares (Flecha)