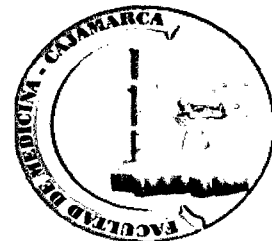


**UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA**  
**FACULTAD DE MEDICINA**



**ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE**  
**MEDICINA HUMANA**

**“IDENTIFICACION Y CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE**  
**BARTONELLA BACILLIFORMIS EN POSTULANTES**  
**ASINTOMÁTICOS A DONANTES DE SANGRE EN EL SERVICIO DE**  
**BANCO DE SANGRE Y HEMOTERAPIA DEL HOSPITAL REGIONAL**  
**DE CAJAMARCA DURANTE EL MES DE FEBRERO DEL AÑO 2014”.**

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

**Autor:**

**Bach. Velásquez Mass, Jeanpaul.**

**Asesor:**

**MC. PEDRO EDUARDO LOVATO RIOS**

**MEDICO HEMATÓLOGO**

**Cajamarca – Perú**

**2014**

## DEDICATORIA

*A mis padres, mis hermanos, mi familia,  
quienes me entregan la fortaleza, la energía  
y la luz necesaria para seguir adelante,  
recorriendo el camino que me he trazado.*

## AGRADECIMIENTO

*Agradezco en primer orden al Creador, por todas sus bendiciones, por la vida, la capacidad y la fortaleza necesaria para caminar paso a paso en el mundo, cumpliendo las metas y los sueños que su amor inspiran.*

*A mis Padres Marleny y David, por su apoyo, su amor, sus enseñanzas y su vida, consagrada al bienestar de la familia, edificándola cada día para forjar personas de bien.*

*A mis hermanos Walter, Fiorella y Daniel, por las aventuras y los recuerdos más bellos, por su confianza y su fe en mi.*

*A mi asesor de tesis, MC. Pedro Eduardo Lovato Ríos, por su valiosa guía y asesoramiento en la realización de la misma.*

*A la Doctora Juana del Valle Mendoza, Directora del Laboratorio de Biología Molecular de la Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas (UPC), por su apoyo y asesoramiento continuo.*

*A mis maestros sin cuya guía no podría caminar por la lóbrega senda hacia la luz, pues siempre iluminaron el camino con sabiduría y conocimiento.*

*A mis amigos y compañeros por hacer de mi etapa universitaria un trayecto de vivencias que nunca olvidaré.*

*Para todos ellos: Infinitas gracias y que Dios los bendiga.*

# ÍNDICE

<b>RESUMEN</b> .....	1
<b>ABSTRACT</b> .....	2
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	3
<b>CAPÍTULO I. EL PROBLEMA CIENTÍFICO Y LOS OBJETIVOS</b> .....	4
1.1    DEFINICIÓN Y DELIMITACIÓN DEL PROBLEMA.....	4
1.2    FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	4
1.3    JUSTIFICACIÓN.....	4
1.4    OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN.....	6
1.4.1    OBJETIVO GENERAL.....	6
1.4.2    OBJETIVOS ESPECIFICOS.....	6
<b>CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO</b> .....	7
2.1 ANTECEDENTES.....	7
2.2 MARCO TEÓRICO.....	9
<b>CAPÍTULO III. LA HIPÓTESIS Y DEFINICIÓN OPERACIONAL DE VARIABLES</b> .....	17
3.1. LA HIPÓTESIS: Tácita.....	17
3.2. DEFINICIÓN OPERACIONAL DE VARIABLES.....	17
<b>CAPÍTULO IV. METODOLOGÍA Y PLAN DE TRABAJO</b> .....	18
4.1 METODOLOGÍA.....	18
4.1.1    SELECCIÓN DE LA POBLACIÓN DE ESTUDIO – UNIVERSO.....	18
4.1.1.1    CRITERIOS DE INCLUSIÓN.....	19
4.1.1.2    CRITERIOS DE EXCLUSIÓN.....	19
4.1.2    MUESTRA:.....	20
4.2    PLAN DE TRABAJO.....	21
4.2.1    TOMA DE MUESTRA:.....	21
4.2.2    CONSERVACIÓN Y ALMACENAMIENTO:.....	21
4.2.3    TRANSPORTE DE LA MUESTRA:.....	22
4.2.4    PROCESAMIENTO DE MUESTRAS:.....	22
<b>CAPÍTULO V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	24
5.1. RESULTADOS.....	24
5.2. DISCUSIÓN.....	34

<b>CAPÍTULO VI. CONCLUSIONES</b> .....	39
<b>CAPÍTULO VII. RECOMENDACIONES</b> .....	39
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	40
<b>ANEXO (TABLAS, GRÁFICAS, ETC.)</b> .....	42
A) FICHA DE DATOS.....	42
B) CONSENTIMIENTO INFORMADO .....	43

## RESUMEN

**OBJETIVO:** Identificar y caracterizar mediante Reacción en Cadena de Polimerasa (PCR) la presencia de *Bartonella bacilliformis* en muestras de postulantes asintomáticos para donantes de sangre en el Servicio de Banco de Sangre y Hemoterapia del Hospital Regional de Cajamarca en el mes de febrero del año 2014.

**MÉTODO:** Estudio prospectivo, transversal, descriptivo, realizado en el Banco de Sangre del Hospital Regional de Cajamarca, donde se entrevistó a los postulantes a donantes de sangre, para reconocer a aquellos que cumplan los criterios de inclusión, quienes ofrecieron voluntariamente una muestra de sangre para su posterior análisis mediante Reacción en Cadena de Polimerasa en el Instituto de Investigación de Enfermedades Infecciosas - Laboratorio de Biología Molecular de la Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas (UPC).

**RESULTADOS:** Durante el mes de febrero del 2014 se presentaron 278 postulantes a donantes de sangre en el servicio de Banco de sangre y Hemoterapia del Hospital Regional de Cajamarca, de ellos, el 5.39% cumplieron con los criterios de inclusión establecidos por el presente estudio, basados en esta población encontramos que el 80% pertenecían al sexo masculino; 20% al sexo femenino. Además el 13.3% tenía residencia Cajabamba, provincia identificada como zona endémica, el mismo 13.3% de los postulantes procedían de las provincias de Chota y Hualgayoc respectivamente. El 46.7% proceden de la provincia de Cajamarca. Las provincias de de Chota y Santa Cruz poseen el 6.7% del total de postulantes, cada una. Se evidenció que el 60% de los seleccionados procedía de zona rural, dedicándose a actividades agrícolas y ganaderas, además el 100% afirmó que realizaron viajes al campo o zonas de cultivo-forestales en los últimos 2 meses. Se tomó una muestra de sangre de cada postulante seleccionado para enviar al Instituto de Investigación de Enfermedades Infecciosas - Laboratorio de Biología Molecular de la Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas. Donde tras análisis de Reacción en Cadena de Polimerasa, se obtuvieron 100% de los resultados negativos para *Bartonella bacilliformis*.

## ABSTRACT

**OBJECTIVE:** Identify and characterize by Polymerase Chain Reaction (PCR ) for the presence of Bartonella bacilliformis in samples from asymptomatic blood donors at the Blood Bank Service and Hemoterapia Cajamarca Regional Hospital in February of 2014 applicants.

**METHODS:** A prospective, cross-sectional descriptive study conducted in the Blood Bank of the Regional Hospital of Cajamarca, where applicants are interviewed blood donors, to recognize those who meet the inclusion criteria, who volunteered a blood sample for further analysis by Polymerase Chain Reaction in the Research Institute of Infectious Diseases - Laboratory of Molecular Biology, University of Applied Sciences (UPC).

**RESULTS:** During the month of February 2014, 278 candidates to blood donors were presented at the Blood Bank Service and Hemoterapia Cajamarca Regional Hospital, of which 5.39 % met the inclusion criteria established by this study, based on this population found that 80 % were male, 20% female. In addition 13.3% had Cajabamba residence province identified as endemic area, the same 13.3 % of the applicants were from the provinces of Chota and Hualgayoc respectively. 46.7 % are from the province of Cajamarca. The provinces of Chota and Santa Cruz have 6.7 % of all applicants, each. It showed that 60 % of the selected came from rural area, engaging in farming activities, plus 100 % said they made trips to the countryside or forest - growing areas in the last 2 months. A blood sample from each selected applicant was taken to send to the Research Institute of Infectious Diseases - Laboratory of Molecular Biology, University of Applied Sciences. Where upon analysis of Polymerase Chain Reaction, 100% negative for Bartonella bacilliformis were obtained.

## INTRODUCCIÓN

*Bartonella bacilliformis* es el agente etiológico de la Bartonelosis humana, llamada también enfermedad de Carrión o Verruga Peruana. Esta es una enfermedad infecciosa, ligada íntimamente a la historia de la medicina peruana, se presenta en los valles interandinos ubicados entre los 500 a 3200 m.s.n.m, encontrando entre ellos a los departamentos de Cajamarca, Amazonas, Piura, La Libertad, Ancash, Lima, Huancavelica y Cusco. Por lo anteriormente mencionado encontramos oportuno desarrollar un estudio experimental en nuestra región, estudio basado en el diagnóstico molecular en sangre de postulantes asintomáticos a donantes de sangre en el servicio de Banco de Sangre y Hemoterapia del Hospital regional de Cajamarca.

La reciente ayuda diagnóstica parte de la biología molecular, cuyos avances han permitido la detección más rápida y eficiente de muchos agentes infecciosos a través de técnicas moleculares como la Reacción en Cadena de la polimerasa o PCR.

Basados en estos datos y en los conceptos de los que hablaremos en los siguientes capítulos, definimos la presente investigación como un estudio experimental prospectivo que busca implementar nuevos y modernos exámenes en el tamizaje de muestras sanguíneas previas a la elección de un donador, en tal sentido busca encontrar una justificación para implementar un sistema que busque evitar riesgos al momento de transfundir cualquier hemoderivado.



## **CAPÍTULO I. EL PROBLEMA CIENTÍFICO Y LOS OBJETIVOS**

### **1.1 DEFINICIÓN Y DELIMITACIÓN DEL PROBLEMA**

Determinar la prevalencia de hallazgos moleculares de *Bartonella bacilliformis* en personas (asintomáticas) postulantes a donantes de sangre en el Servicio de Banco de Sangre y Hemoterapia del Hospital Regional de Cajamarca durante el mes de Febrero del año 2014.

### **1.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA**

¿Existen postulantes a donantes de sangre en el Servicio de Banco de Sangre y Hemoterapia del Hospital Regional de Cajamarca durante el mes de Febrero del año 2014, que pese a encontrarse asintomáticos, sean portadores de *Bartonella bacilliformis*?

### **1.3 JUSTIFICACIÓN**

La transfusión de derivados sanguíneos es una terapia que ha experimentado una tendencia creciente en la práctica clínica y quirúrgica diaria por lo que los establecimientos de salud se han visto motivados a tomar una serie de medidas orientadas a minimizar uno de los principales riesgos asociados a esta indicación como son las infecciones transmitidas por esta vía, en este sentido el Servicio de Hematología del Hospital Regional de Cajamarca cuenta con los reactivos mínimamente requeridos para realizar las pruebas serológicas que permitan la identificación de los agentes microbiológicos tradicionales y que con mayor frecuencia han sido implicados en la adquisición de este tipo de complicaciones infecciosas, sin embargo, existe evidencia por reportes de casos

clínicos recientes de la posibilidad de transmisión de otros agentes bacterianos por vía hemática pertenecientes a los géneros: *Leptospira*, *Rickettsia*, *Brusella*, *Salmonella* y *Bartonella*.

Considerando que nuestra región es una zona endémica para *Bartonella bacilliformis* y si bien es cierto que en el presente año las tendencias de las prevalencias tanto de la Bartonellosis agudas como de la Bartonellosis eruptiva han experimentado una notable disminución es muy probable la presencia de reservorios para este agente bacteriano en nuestra comunidad; realidad que aún no ha sido bien documentada en nuestro país y menos aún en nuestro contexto regional. Según la base de datos del Servicio de Banco de Sangre y Hemoterapia del Hospital Regional de Cajamarca, existen aproximadamente entre 100 a 200 donantes por mes, 70-80% de los cuales son de la ciudad de Cajamarca, siendo el resto (20% al 30%) de distintas provincias como: Celendín, Chota, Cajabamba, Hualgayoc, San Marcos, entre otras. Existiendo entonces la posibilidad de encontrar postulantes provenientes de zonas endémicas y que además sean reservorios de la bacteria en mención.

Es esta situación la que pretendemos poner en evidencia precisando además la frecuencia con la que podríamos encontrar este tipo de casos en nuestra comunidad, puesto que de confirmarse algún caso, resultaría conveniente definir posteriormente el impacto de estos hallazgos en relación a su contribución en la transmisión de esta enfermedad en nuestra región; más aún tomando en cuenta que no existe un tamizaje serológico ni molecular rutinario que sea aplicado a los posibles donantes respecto a la presencia o ausencia de infección por *Bartonella bacilliformis*; obtenemos razones que justifican la propuesta de realizar la presente investigación.

## 1.4 OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

### 1.4.1 OBJETIVO GENERAL.

- Identificar y caracterizar por métodos moleculares la presencia de *Bartonella bacilliformis* en muestras de postulantes asintomáticos para donantes de sangre en el Servicio de Banco de Sangre y Hemoterapia del Hospital Regional de Cajamarca en el mes de febrero del año 2014.

### 1.4.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS.

- Identificar las características demográficas de los postulantes a donantes de sangre (asintomáticos) del Servicio de Banco de Sangre y Hemoterapia del Hospital Regional de Cajamarca en el mes de febrero del año 2014.
- Determinar la prevalencia de la presencia de hallazgos moleculares de *Bartonella baciliformis* en postulantes asintomáticos a donantes de sangre en el Servicio de Banco de Sangre y Hemoterapia del Hospital Regional de Cajamarca en el mes de febrero del año 2014.
- Correlacionar la procedencia del postulante con la presencia de hallazgos moleculares de *Bartonella baciliformis* en el Servicio de Banco de Sangre y Hemoterapia del Hospital Regional de Cajamarca en el mes de febrero del año 2014.

## CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO

### 2.1 ANTECEDENTES

Joaquim Ruiz, Maria J. Pons, J. del Valle, Carmen R. Tinco, Jorge Bazan, Victor Zavaleta et al. En su estudio “Supervivencia de largo plazo de *Bartonella bacilliformis* en la sangre almacenada a 4 ° C. Un riesgo de las transfusiones de sangre” (2012) analizaron Cincuenta y cinco muestras de sangre periférica de pacientes con un diagnóstico clínico de enfermedad de Carrion y una confirmación frotis de sangre teñido con Giemsa positivo se almacenaron a 4 ° C por un mínimo de 24 meses. Las muestras se cultivaron en Agar Columbia la adición de 10 % de sangre de oveja y se incubaron a 28 ° C durante un período de 10 semanas. Cada 14 días, las placas fueron inspeccionadas visualmente para detectar cualquier crecimiento bacteriano. Los microorganismos recuperados fueron identificados por herramientas moleculares. Con extracción del ADN por medio de un kit comercial (High Kit Plantilla Peparation Pure , Roche Applied Science , Alemania) y un fragmento de 1503 pb del gen 16S ARN. Los productos amplificados fueron secuenciados (Macrogen, Seúl, Corea).

El cultivo inicial mostró el crecimiento de 11 de las 55 muestras (20 %) después de 2-5 semanas de incubación, mientras después de 24 a 30 meses de almacenamiento a 4 ° C , 6 de estos 55 ( 11 %) muestras, todas con previos cultivos positivos, mostraron crecimiento bacteriano que requiere entre 4 y 10 semanas de incubación. Estos resultados sugieren la posibilidad de que la tasa de crecimiento del cultivo se incrementa si la incubación el tiempo es más de 10

semanas.

Aunque se realizó una búsqueda intensiva literatura, sólo información clara de un informe del año 1972 sobre una se encontró adquisición transfusional de *B. bacilliformis*, en este informe se describe el caso de un recién nacido muerto por la fiebre de Oroya después de la recepción de la transfusión de sangre de un familiar proveniente de área endémica. Aunque la transmisión vertical se ha descrito en diferentes casos , la madre no tenía una infección anterior por *Bartonella* . En línea con esto, los resultados de este estudio mostraron claramente el riesgo de supervivencia a largo plazo de *B. bacilliformis* en sangre infectada, almacenada a 4 ° C , y por lo tanto el potencial riesgo de la transmisión de este microorganismo por transfusión.

**Carlos Padilla R y Gladys Ventura (2003) en su diseño y estandarización de una prueba de PCR, para el diagnóstico de la bartonelosis causada por *Bartonella bacilliformis*,** Usaron la secuencia del locus de invasión ialB, para diseñar los oligonucleótidos ialBF y ialBR, además del ADN genómico purificado de una cepa referencial de *B. bacilliformis* para estandarizar las condiciones de la prueba. Finalmente, la prueba fue preliminarmente evaluada con 12 cepas de *B. bacilliformis* aisladas en 2 áreas endémicas y 10 muestras de sangre total de pacientes con Bartonelosis confirmada, *detectando* el ADN de aislamientos de *B. bacilliformis* de 2 áreas bartonelósicas endémicas del Perú: Ancash y Cuzco.

Concluyendo en la utilidad del PCR para el diagnóstico de la bartonelosis causada por *Bartonella bacilliformis*.

## 2.2 MARCO TEÓRICO

Hasta 1993 *Bartonella bacilliformis* era la única especie de este género, miembro de la familia Bartonellaceae que junto con las familias Rickettsiaceae y Anaplasmataceae conformaban el orden de las Rickettsiales. La familia Bartonellaceae había sido localizada dentro de las Rickettsias sobre la base de características morfológicas, asociación parasítica con células eucarióticas y el modo de transmisión por artrópodos. Sin embargo estos criterios fenotípicos usados anteriormente para la clasificación fenotípica, tienen poca justificación filogenética. El primer estudio filogenético de *Bartonella bacilliformis* fue realizado por Birtles en 1991 quien demuestra la estrecha relación filogenética y fenotípica entre *B. bacilliformis* y *Rochalimaea quintana*<sup>1</sup>.

El género *Bartonella* ha sido reclasificado de acuerdo a las características filogenéticas basado en datos de hibridización DNA-DNA y secuencia genética del 16SrRNA; Brenner realiza la primera propuesta que fue aceptada por la comunidad científica, de unir el género *Rochalimaea* al de *Bartonella* y se removió la familia Bartonellaceae del orden de las Rickettsiales. Posteriormente Birtles realiza una segunda propuesta para unir el género *Grahamella* al de *Bartonella*, que también es aceptado. Actualmente el género *Bartonella* contiene 14 especies, de las cuales 7 han sido reportadas en los últimos 5 años, siete son patógenas para el humano y producen diversas enfermedades<sup>2</sup>.

*Bartonella bacilliformis* fue descrita en 1909 por Alberto Barton, es un bacilo gram negativo, pleomórfico, intracelular, de 0.2-0.5 por 1-2µm, aeróbico, no fermentativo, unipolar con 2 a 16 flagelos que le confiere alta movilidad se tiñe de color rojo con Giemsa, puede ser cultivada sobre medios sólidos a partir de

muestras de sangre, biopsias de lesiones eruptivas o nódulos subcutáneos, crece lentamente en medios enriquecidos con sangre y aminoácidos esenciales, como el de Seneckii o agar Columbia, la temperatura óptima de crecimiento es 28°C. Es una bacteria no reactiva en test bioquímicos usados para identificación de bacterias. No utiliza los carbohidratos. Es una bacteria intracelular de las células endoteliales y eritrocitos<sup>3</sup>.

Se han determinado 24 antígenos de *Bartonella bacilliformis* por inmunoprecipitación y western blot usando sueros de conejos y de pacientes con anticuerpos antibartonella. Los antígenos han sido designados de acuerdo a su peso molecular que varía de 16 a 160 kDa. De estos, al menos seis (antígenos 18, 26, 36, 48, 65 y 75) son capaces de detectar anticuerpos específico en sueros de pacientes bartonellosicos. Los antígenos 50, 65 y 75 pueden detectar anticuerpos persistentes. Se han identificado seis probables antígenos de la pared celular, de los cuales los antígenos 65 y 75 son considerados como los principales antígenos, debido a que siempre presentan fuerte reactividad demostrado por inmunoensayo<sup>4</sup>.

El genoma de *Bartonella bacilliformis* es una molécula de DNA circular de 1600 kbp (39-40% GC) contiene 6 sitios NotI, 4 SfiI dos Ceullos cuales han sido ordenados por electroforesis para formar un mapa físico. La localización de dos operones RNA ha sido determinada exactamente por mapeo de sitios de 2 Ceul, los cuales se saben están dentro de 23S rRNA. La correlación de la secuencia completa del DNA de *Bartonella bacilliformis* con el banco de datos de DNA probablemente nos lleve a un conocimiento detallado de esta especie bacteriana<sup>5</sup>.

La Bartonellosis ha sido descrita en las zonas de la costa y sierra de Ecuador, sierra de Colombia (departamento de Nariño) y en el Perú entre los 500 a 3400 msnm. El vector implicado en la transmisión de *Bartonella bacilliformis* es la hembra del mosquito del género *Lutzomyia* spp., siendo el principal vector en el Perú la *Lutzomyia verrucarum*, encontrado entre la 5° y 13° 13' de latitud sur. En relación al reservorio, no se ha identificado ningún reservorio animal doméstico o silvestre; encontrándose que los pacientes con lesiones eruptivas eran el principal reservorio de la enfermedad: 23% de los pacientes tuvieron cultivos positivos y reacción en cadena de polimerasa para la *Bartonella bacilliformis* en la sangre y solo 0,7% en personas asintomáticas<sup>5,6</sup>.

Se han realizado múltiples estudios para determinar la prevalencia de bacteremia en población sintomática y asintomática, sin embargo la mayoría de los estudios no son comparables. La prevalencia de aislamiento de *Bartonella* depende de muchos factores, entre los principales están el volumen de sangre utilizado para el cultivo, el tiempo entre la toma de muestra y el sembrado en los medios, el anticoagulante utilizado, el medio de cultivo, el tiempo de observación de los cultivos, la realización de subcultivos sistemáticos a partir de los cultivos primarios, el antecedente de haber sufrido la enfermedad anémica o eruptiva, entre otros. En otros estudios reportan la presencia de 9- 29% de individuos asintomáticos infectados con *Bartonella bacilliformis* en áreas endémicas con historia de enfermedad<sup>7,8</sup>.



Entre 2001 y 2004 se ha verificado que la enfermedad se ha ido expandiendo o reactivando en diversas regiones del Perú como Piura, Huanuco, La Libertad, Cajamarca, Amazonas, Ayacucho y Puno. Según la Oficina General de Epidemiología del Perú en el periodo 2004-2006, se han notificado 26189 casos de Bartonellosis procedentes de 16 departamentos, encontrándose que el 85,8% de los casos fueron reportados por los departamentos de Ancash, Cajamarca y La Libertad. En los años 2010, 2011 y 2012 en Cajamarca los casos de Bartonellosis aguda y eruptiva fueron de 87/49; 133/63 y 97/47 respectivamente. En el año 2013 hasta la semana epidemiológica 44 se han registrado en Cajamarca 31 casos de Bartonellosis aguda y 21 casos de Bartonellosis eruptiva siendo las provincias principalmente comprometidas las de Cajabamba, Cutervo, Jaén y San Ignacio<sup>10</sup>.

En el Perú, las zonas endémicas tradicionalmente reconocidas son los departamentos de Ancash, Lima, Cajamarca, Piura, Amazonas, La Libertad, Junín y Huancavelica, siendo Ancash el departamento con el más alto índice de bartonelosis. Desde 1997, se ha informado sobre nuevas zonas endémicas en algunos lugares de la selva alta de Cajamarca (San Ignacio), Amazonas (Provincias Luya, Utcubamba y Rodríguez de Mendoza), Huánuco (Valle del Monzón) y Cusco (Valle Sagrado de los Incas). Entre 2001 y 2004, la bartonelosis se ha ido expandiendo o reactivando en diversas regiones del Perú, como Piura, Huánuco, La Libertad, Cajamarca, Amazonas, Ayacucho y Puno. Según la Oficina General de Epidemiología del Perú, en el periodo 2004-2006 se ha notificado 26 189 casos de bartonelosis en 16 departamentos; 85,8% de los casos fueron registrados por los departamentos de Ancash, Cajamarca y La Libertad<sup>10,11</sup>.

El espectro clínico de la infección por *Bartonella bacilliformis* varía desde una infección oliogiasintomática o subclínica hasta una enfermedad aguda febril leve a una forma febril severa de gran palidez que puede ser fulminante. La enfermedad clásicamente tiene dos fases bien definidas: La primera, la fase aguda hemática (Fiebre de la Oroya) y la segunda, la fase crónica eruptiva (Verruga Peruana). Después de un período de incubación de 61 días (rango de 10 a 210 días), aparecen síntomas y signos generales tales como fiebre, hiporexia, cefalea, decaimiento, dolores osteomioarticulares (mialgias, lumbalgia), somnolencia, apatía, palidez, ictericia y malestar general. Cuando la enfermedad progresa aparecen una serie de complicaciones (superinfecciones) o presentan falla multiorgánica, luciendo el paciente séptico, con gran palidez, icterico, disneico, presentando pericarditis, derrame pericárdico, miocarditis, endocarditis, edema agudo del pulmón, anasarca, convulsiones, coma y delirio<sup>12</sup>.

La fase aguda hemática dura entre 2 a 4 semanas y la gran mayoría de los que reciben tratamiento se recuperan, algunos fallecen y menos del 5% desarrollan luego de varias semanas o meses lesiones eruptivas sangrantes que constituyen la fase eruptiva; sin embargo, últimamente se ha reportado recidivas de la fase aguda hemática. La fase eruptiva conocida clásicamente como Verruga Peruana se presenta generalmente en las zonas endémicas afectando principalmente a los niños y adolescentes, sin que estos hayan tenido un cuadro clínico típico de la fase aguda hemática; las lesiones eruptivas habitualmente se localizan en los miembros superiores, inferiores y en la cara, duran sin tratamiento entre 3 a 6 meses y no dejan cicatriz alguna<sup>13</sup>.

En el paciente en fase aguda hemática, la técnica más útil para el diagnóstico es la obtención del frotis sanguíneo, de preferencia en la etapa temprana de la

enfermedad, observándose los glóbulos rojos parasitados con formas bacilares y en las etapas más tardías se observan formas cocoides. El frotis se colorea mejor con las pruebas a base de los reactivos Giemsa - Wright. La prueba de inmunofluorescencia indirecta (IFA) se ha utilizado por muchos años y proporciona un método relativamente simple para detectar anticuerpos para una variedad amplia de patógenos, ya que solamente se requiere una cantidad pequeña de antígeno para cada prueba. De los métodos serológicos, el Western Blot tiene alta sensibilidad y especificidad en la fase verrucosa. La biopsia cutánea de la lesión sigue siendo el mejor método para confirmar la sospecha clínica, en la Verruga Peruana<sup>14</sup>.

La infección transmitida por transfusión (ITT) es producida por la transmisión directa de un agente infeccioso específico o sus productos tóxicos desde la unidad de sangre al huésped susceptible. Puede ser endógena, por portarla el donante; o exógena, por contaminación en el procesamiento. Estas enfermedades son causadas por diferentes agentes biológicos y pueden cursar a lo largo de diversas etapas, desde la infección inaparente a la enfermedad grave o muerte. Hay que tener en cuenta que los términos de infección y enfermedad no son equivalentes. El primero se refiere a la entrada y el desarrollo o multiplicación de un agente infeccioso en el huésped. El desarrollo de la enfermedad depende de diversos factores que afectan a todos los estadios de la cadena de infección<sup>15</sup>.

Para que un agente infeccioso transmisible por transfusión represente un peligro para la salud pública ha de reunir ciertas características biológicas: Debe estar presente en la sangre y transmitirse por vía parenteral de un modo eficaz; debe poseer otros mecanismos de transmisión diferentes de la transfusión, que le permitan alcanzar una proporción epidémica en la población de donantes. Éstos

no deben coincidir, en cuanto a los factores de riesgo epidemiológico, con los de las enfermedades infecciosas para los que se escruta a los donantes; existencia de un periodo de infección asintomático; el agente biológico debe ser estable en las condiciones de conservación de los componentes sanguíneos; el agente biológico debe causar una enfermedad definida<sup>16</sup>.

Dentro de los agentes biológicos relacionados con las infecciones transmitidas por transfusión y que poseen al menos alguna de las características anteriormente expuesta, se encuentran: Virus: Virus de la hepatitis B (VHB), virus de la hepatitis C (VHC), virus de la hepatitis A (VHA), virus de la hepatitis D (VHD), virus de la hepatitis E (VHE), virus de inmunodeficiencia humana (VIH 1 y 2), HTLV I/II, Citomegalovirus, Epstein-Barr (VEB), parvovirus B 19, SARS, TTV, virus de oeste del Nilo. Parásitos: Plasmodium, Tripanosoma cruzi, Babesiamicrofti, Leishmania, Toxoplasma gondii. Bacterias: Staphylococcus aureus, B. difteroides, micrococos, Pseudomonas aeruginosa, acromobacterias, coliformes, salmonella, Yersinia enterocolitica, Serrati amarsenses, Treponema pallidum, Brucella, Borrelia burgdorferi.<sup>17,18</sup>

La seguridad de los productos de la sangre depende primordialmente de la calidad en la selección de los donantes de sangre y de la realización confiable de ensayos de laboratorio en busca de enfermedades. Los métodos universalmente utilizados en la pesquisa de las infecciones en la sangre donada se basan en la detección de anticuerpos y antígenos de los microorganismos que deben investigarse a través de los ensayos inmunoenzimáticos (ELISA); adicionalmente se han incorporado los métodos de amplificación de ácidos nucleicos (NAT, PCR)<sup>19</sup>.

En el servicio de banco de sangre del Hospital Regional de Cajamarca se realizan pruebas establecidas y normadas por el PRONAHEBAS para detección de infecciones con pruebas como HTLV-1, HTLV-2, Sífilis, Chagas, Core total, Antígeno de Superficie, VHC o VIH. Sin embargo existen trabajos reportando que donantes asintomáticos pueden tener otras infecciones bacterianas no detectadas con las pruebas anteriormente descritas, y siendo Cajamarca un departamento endémico para *Bartonella spp*, *Leptospira*, *Rickettsia*, *Brusella*, *Salmonella* entre otras; hemos creído necesario identificar el agente *Bartonella* y su procedencia para evitar riesgos en el momento de transfundir cualquier hemoderivado.

## CAPÍTULO III. LA HIPÓTESIS Y DEFINICIÓN OPERACIONAL DE VARIABLES.

### 3.1. LA HIPÓTESIS: Tácita.

### 3.2. DEFINICIÓN OPERACIONAL DE VARIABLES.

VARIABLE	DEFINICIÓN	DIMENSIONES	TIPO	INDICADORES	INSTRUMENTO
Infección asintomática	Toda persona sin síntomas, residente o procedente de zonas endémicas o de nuevas áreas de transmisión de Bartonellosis, o colateral a un caso clínico o confirmado, o que haya tenido Bartonellosis aguda o verrucosa con anterioridad; a quien se le encuentra resultados de laboratorio frotis o cultivo o PCR positivos.	Sintomatología en los últimos 14 días.	Cualitativo	Fiebre >38°C Cefalea Mialgias Artralgias Palidez Ictericia Malestar general	Ficha de recolección de Datos.
		Edad	Cuantitativo	Sin rango	
		Sexo	Cualitativo	Masculino Femenino	
		Procedencia	Cualitativo	Urbano Rural	
		Viajes a Campo o zona agrícola - forestal	Cualitativo	Si No	

## **CAPÍTULO IV. METODOLOGÍA Y PLAN DE TRABAJO**

### **4.1 METODOLOGÍA**

La investigación sigue la metodología para el desarrollo de un Estudio Prospectivo Transversal Descriptivo.

Se debe obtener previamente la población de estudio, tomando en cuenta que no todos los postulantes a donantes serán parte de ella, debiendo para ello cumplir con criterios de inclusión y exclusión. Luego establecer cuántos de estos seleccionados constituirán nuestra muestra mediante método estadístico.

#### **4.1.1 SELECCIÓN DE LA POBLACIÓN DE ESTUDIO – UNIVERSO.**

Postulantes asintomáticos a donación de sangre de la región, a quienes se brinde información sobre el proyecto y decidan participar voluntariamente, con la firma del consentimiento informado y que además cumplan los criterios de inclusión y exclusión establecidos a continuación.

#### **4.1.1.1 CRITERIOS DE INCLUSIÓN.**

- a) Postulantes asintomáticos a donante de sangre comprendidos entre 18 a 55 años.
- b) Postulantes voluntarios que firmen de manera libre, sin coacción el consentimiento informado.
- c) Postulantes que manifiesten exposición a ambientes colindantes a zonas forestales o cultivos., así como zonas con acumulación de materiales orgánicos en descomposición.

#### **4.1.1.2 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN**

- a) Autoexclusión.
- b) Postulante que presente algún malestar físico como:
  - Sensación de alza térmica o presencia de uno o más episodios febriles dentro de los últimos 14 días.
  - Decaimiento o pérdida de fuerza en los últimos 14 días.
  - Artralgias o mialgias en los últimos 14 días.
  - Hiporexia en los últimos 14 días.



#### 4.1.2 MUESTRA:

Para la determinación del tamaño de muestra se utilizó la siguiente fórmula<sup>20</sup>:

$$n_0 = \frac{Z^2 \alpha pe qe}{E^2}$$

Dónde:

$n_0$ : Tamaño inicial de muestra.

$Z\alpha$ : Coeficiente de confiabilidad; el cual es de 1.96 para un nivel de confianza de 95% para la estimación.

$pe$ : Prevalencia de Bartonellosis asintomática según el estudio de Maguiña: 0.29

$qe=1-pe$

$peqe$ : Variabilidad estimada.

$E$ : Error absoluto o precisión. En este caso se expresará en fracción de uno y será de 0.05 (5%).

El valor de  $p$  corresponde a la Prevalencia de Bartonellosis asintomática según el estudio de Maguiña: 29%

OBTENEMOS:  $n_0 = 316$

## **4.2 PLAN DE TRABAJO**

### **4.2.1 TOMA DE MUESTRA:**

Luego de haber hecho efectiva la firma del consentimiento informado correspondiente; se procedió a analizar 15 muestras de sangre venosa de postulantes a donantes de sangre cuya edad oscila entre 18 a 55 años, provenientes del Hospital Regional de Cajamarca-Dirección Regional de Cajamarca (DIRESA).

Todos los pacientes llenaron una ficha de datos que incluye datos personales pertinentes así como los antecedentes, enfermedades anteriores, síntomas, signos, tratamiento e información médica relevante. Además del consentimiento Informado debidamente firmado por cada participante y por el médico responsable de la toma de muestra.

El servicio de Banco de Sangre del Hospital de Cajamarca fue el encargado de la obtención de muestras de sangre venosa de los postulantes a donantes. Se colectó 6 ml de sangre venosa en tubos al vacío con EDTA por cada muestra.

### **4.2.2 CONSERVACIÓN Y ALMACENAMIENTO:**

Las muestras fueron almacenadas a 4° C por un periodo de aproximadamente 24 horas; hasta su traslado por vía aérea; al Laboratorio de Biología Molecular del Instituto de Investigación de Enfermedades Infecciosas (IIEI) dependencia del Instituto Nacional de Salud; para su procesamiento.

#### **4.2.3 TRANSPORTE DE LA MUESTRA:**

En el transcurso de las 24 horas de la obtención de la muestra, ésta fue trasladada desde el Hospital Regional de Cajamarca hacia el Laboratorio de Biología Molecular del Instituto de Investigación de Enfermedades Infecciosas (IIEI).

#### **4.2.4 PROCESAMIENTO DE MUESTRAS:**

El procesamiento de las muestras se realizó mediante la técnica de reacción en cadena de polimerasa (PCR).

##### **A) Extracción de ADN bacteriano**

Se utilizaron 1000 ul de sangre para realizar el proceso de extracción del material genético mediante el kit de extracción comercial (*kit High PurePreparation, Roche AppliedScience, Alemania*) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. El ADN bacteriano obtenido fue diluido en 100 ul de agua libre de ARNasa/ADNasa y almacenado a menos 20°C hasta su procesamiento.

##### **B) Amplificación mediante Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR).**

Se analizaron 15 muestras para determinar la presencia de *Bartonella spp.* Se realizaron PCR específicas para amplificar el gen 16S de *Bartonella spp.* (del ValleLJ; 2010). Además se utilizaron cebadores específicos que amplifican una región conservada del gen 16S universal para determinar la presencia o ausencia de cualquier bacteria en sangre. El volumen final de la reacción para cada PCR es de 50ul, distribuido de la siguiente forma: 25ul de enzima de ReadyMix(Taq polimerasa, 2,5mM deMgCl<sub>2</sub>; 15mMTris/HCl pH8,3, 50mMKCl,

200uM de cada desoxinucleótido) (Kappa Biosystem), 20 picomoles de cada cebador específico, 5ul de ADN y agua libre de ARNasa/ADNasa hasta completar el volumen a 50 ul. Las condiciones ciclo - temperatura fueron adaptadas para cada amplicon, pre-desnaturalización 95°C durante 5 min, seguido por 45 ciclos: desnaturalización 94°C durante 1 min, anillamiento 55°C durante 1 min y elongación 72°C durante 1 a 2 min (según sea el caso), con una elongación final a 72°C durante 10 min. La amplificación se realizó utilizando un termociclador *Verity (Applied Biosystem)*. La presencia y el tamaño de los productos amplificados fueron analizados por electroforesis en gel de agarosa al 2% (FMC, Rockland, ME) previamente teñido con bromuro de Etidio. Los productos amplificados fueron purificados y enviados a secuenciar a la casa comercial MacroGen-Korea.

### **C) Procesamiento de datos y análisis.**

El registro de datos consignados en las correspondientes fichas de recolección, fueron procesados utilizando el paquete estadístico SPSS V 18.0 previa elaboración de la base de datos convenientes. Los resultados se presentaron en tablas simples.

## CAPÍTULO V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 5.1. RESULTADOS

Durante el mes de febrero del 2014 se presentaron 278 postulantes a donantes de sangre en el servicio de Banco de sangre y Hemoterapia del Hospital Regional de Cajamarca, los que fueron informados del proyecto de investigación y en quienes se evaluó los criterios de inclusión para poder determinar nuestra población.

Inmediatamente posterior a la firma del consentimiento informado se procedió al llenado de la ficha de recolección de datos para obtener aquellos que formaron parte de las variables a procesar, luego, se tomó las muestras de sangre para su envío al Instituto de Investigación de Enfermedades Infecciosas - Laboratorio de Biología Molecular de la Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas (UPC) quien a su vez las procesó mediante método PCR, enviando los resultados por vía e-mail. para ser ingresados en hoja de cálculo junto con las variables mencionadas líneas atrás.

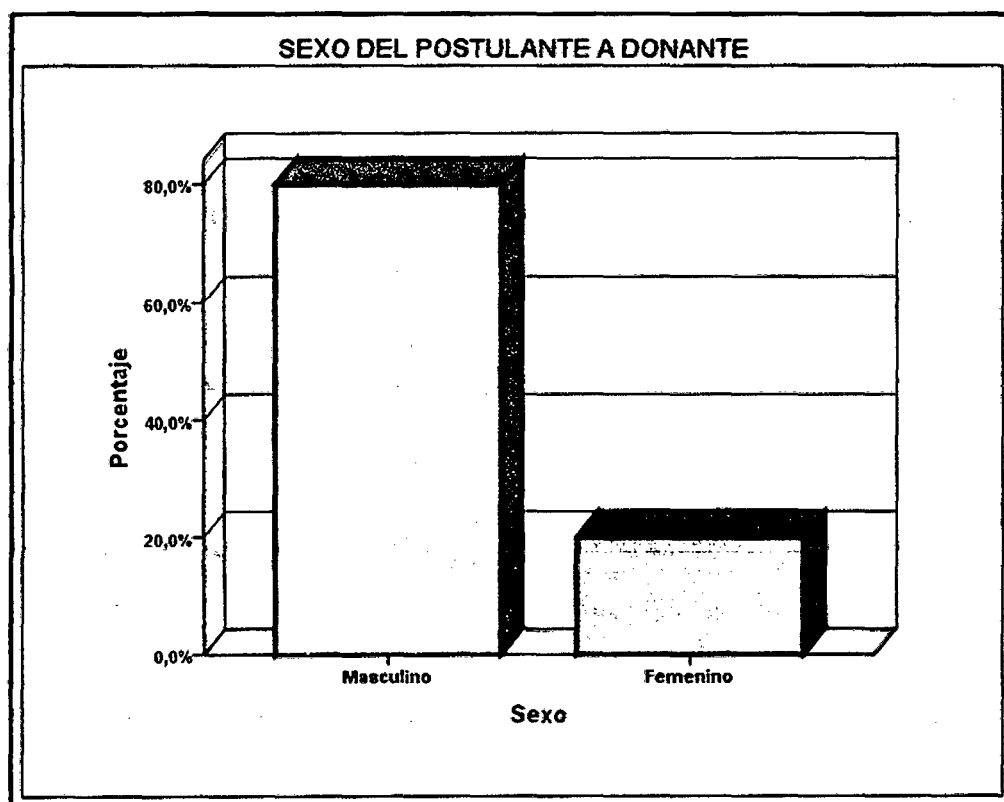
De manera que en el presente capítulo presentamos la descripción de las características encontradas en los postulantes asintomáticos que cumplieron con los criterios de inclusión descritos en el capítulo correspondiente, siendo esta población constituida por 15 postulantes, 5.39% de los postulantes totales, los que fueron seleccionados desde el inicio de toma de muestras (2 de Febrero) hasta el 28 del febrero del presente año. Encontrando los siguientes datos:

En la tabla 1, encontramos que el 80% pertenecían al sexo masculino; 20% al sexo femenino.

**Tabla 1: Sexo del Postulante a Donante**

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	Masculino	12	80,0	80,0	80,0
	Femenino	3	20,0	20,0	100,0
	Total	15	100,0	100,0	

FUENTE: Ficha de recolección de datos.



En la tabla 2, encontramos los porcentajes de edades, los cuales no fueron categorizados por rangos, encontrando que 13.3% lo poseían postulantes de 27 al igual que los 54 años respectivamente, los 70.4 restantes se hallan divididos de manera independiente con el 6.7% para cada postulante, debido a que no se presentaron más coincidencias.

**Tabla 2: Edad del Postulante a Donante**

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	20	1	6,7	6,7	6,7
	23	1	6,7	6,7	13,3
	25	1	6,7	6,7	20,0
	26	1	6,7	6,7	26,7
	27	2	13,3	13,3	40,0
	29	1	6,7	6,7	46,7
	35	1	6,7	6,7	53,3
	40	1	6,7	6,7	60,0
	41	1	6,7	6,7	66,7
	45	1	6,7	6,7	73,3
	49	1	6,7	6,7	80,0
	54	2	13,3	13,3	93,3
	55	1	6,7	6,7	100,0
	Total	15	100,0	100,0	

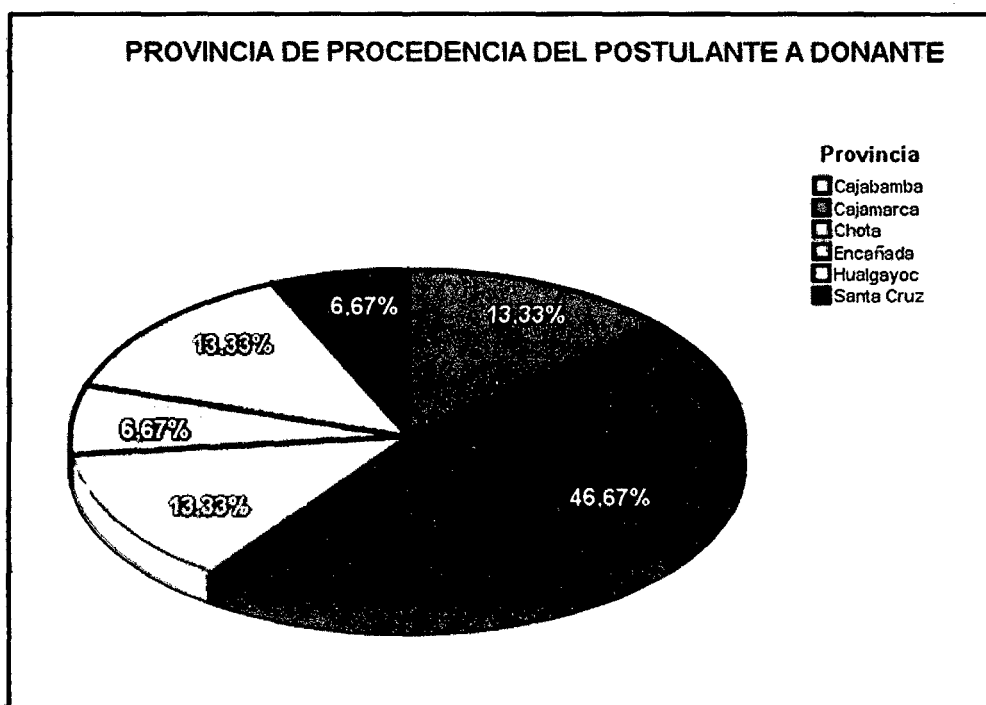
FUENTE: Ficha de recolección de datos.

En la tabla 3, evidenciamos que el 13.3% de los postulantes a donantes proceden de Cajabamba, provincia identificada como zona endémica, del mismo modo 13.3% pertenece a donantes de la provincia de Chota y 13.3% a la provincia de Hualgayoc, observamos que el 46.7% proceden de la provincia de Cajamarca. Las provincias de Chota y Santa Cruz poseen el 6.7% del total de postulantes, cada una.

**Tabla 3: Provincia de procedencia del Postulante a Donante**

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	Cajabamba	2	13,3	13,3	13,3
	Cajamarca	7	46,7	46,7	60,0
	Chota	2	13,3	13,3	73,3
	Encañada	1	6,7	6,7	80,0
	Hualgayoc	2	13,3	13,3	93,3
	Santa Cruz	1	6,7	6,7	100,0
	Total	15	100,0	100,0	

FUENTE: Ficha de recolección de datos.





En la tabla 4, encontramos que 46.7% de los postulantes seleccionados proceden del distrito de Cajamarca, además el 13.3% proceden del distrito de Bambamarca, los procedentes de los distritos de Cajabamba, Condebamba, Huambos, Tacabamba, Toldopata y Santa Cruz ocupan el 6.7% cada uno.

**Tabla 4: Distrito de procedencia del Postulante a Donante**

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	Bambamarca	2	13,3	13,3	13,3
	Cajabamba	1	6,7	6,7	20,0
	Cajamarca	7	46,7	46,7	66,7
	Condebamba	1	6,7	6,7	73,3
	Huambos	1	6,7	6,7	80,0
	Santa Cruz	1	6,7	6,7	86,7
	Tacabamba	1	6,7	6,7	93,3
	Toldopata	1	6,7	6,7	100,0
	Total	15	100,0	100,0	

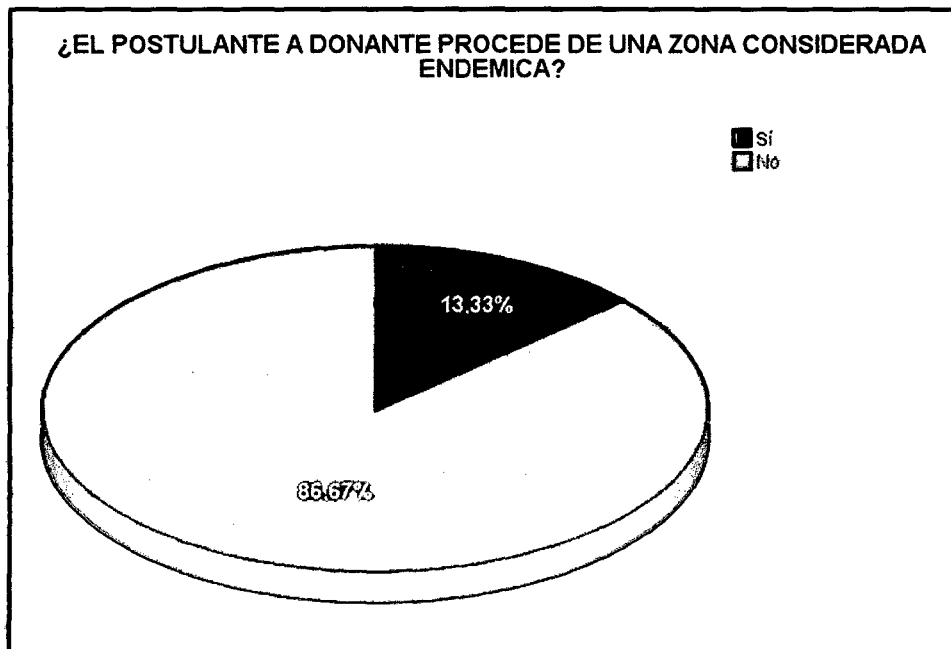
FUENTE: Ficha de recolección de datos.

En la tabla 5, podemos observar que solo el 13.3% de los postulantes seleccionados procedían de zona considerada endémica para Bartonellosis, el 86.7% restante procedía de zonas no consideradas endémicas para la mencionada patología.

**Tabla 5: ¿El postulante a donante procede de una zona considerada endémica?**

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	Sí	2	13,3	13,3	13,3
	No	13	86,7	86,7	100,0
	Total	15	100,0	100,0	

FUENTE: Ficha de recolección de datos.

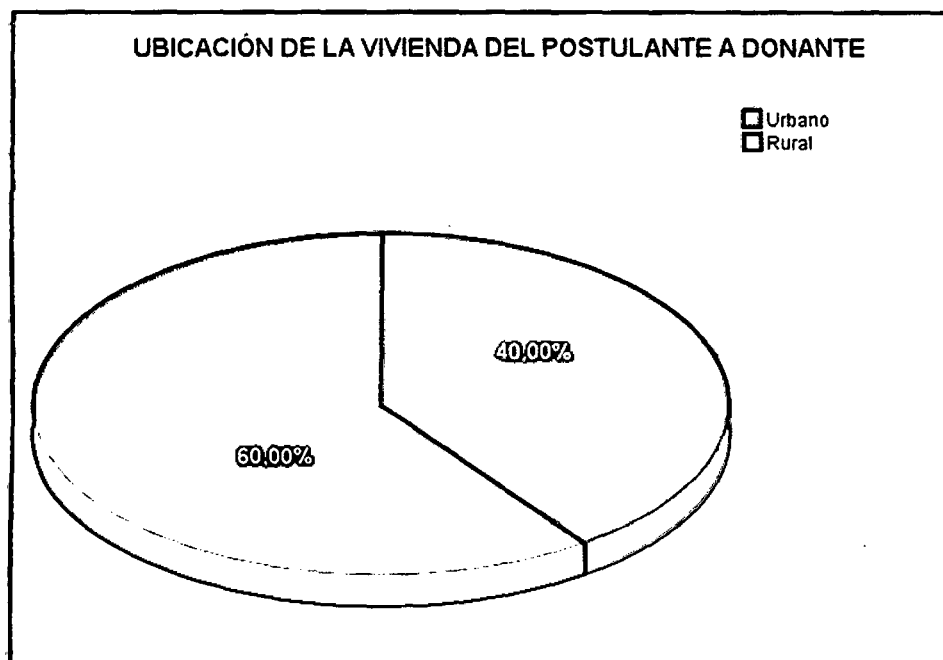


En la tabla 6, encontramos que el 60% de los postulantes a donantes proceden de viviendas ubicadas en zona rural, siendo el 40% restantes, procedentes de zona urbana.

**Tabla 6: Ubicación de la vivienda del postulante a donante**

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	Urbano	6	40,0	40,0	40,0
	Rural	9	60,0	60,0	100,0
	Total	15	100,0	100,0	

FUENTE: Ficha de recolección de datos.

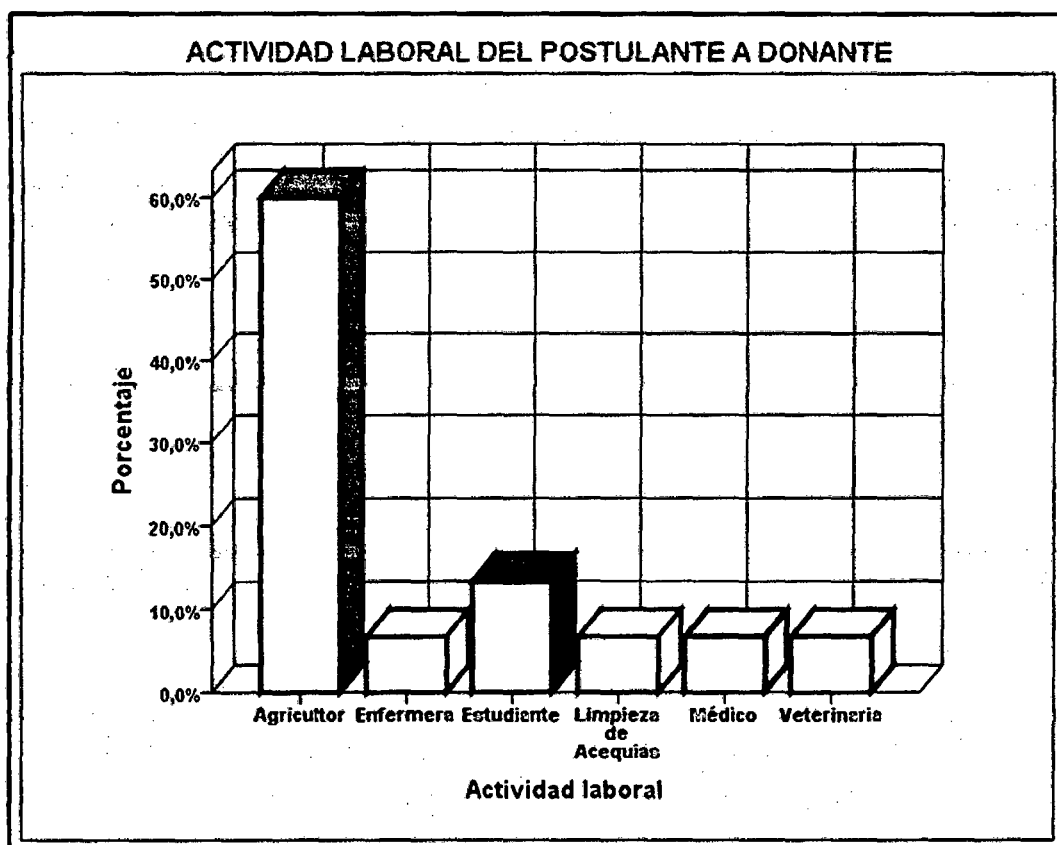


En la Tabla 7, observamos que el 60% de los postulantes a donantes manifiestan dedicarse a la agricultura como actividad laboral, el 40% restante manifestó diferentes ocupaciones, descritas a continuación.

**Tabla 7: Actividad laboral del postulante a donante**

	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos Agricultor	9	60,0	60,0	60,0
Enfermera	1	6,7	6,7	66,7
Estudiante	2	13,3	13,3	80,0
Limpieza de Acequias	1	6,7	6,7	86,7
Médico	1	6,7	6,7	93,3
Veterinaria	1	6,7	6,7	100,0
Total	15	100,0	100,0	

FUENTE: Ficha de recolección de datos.

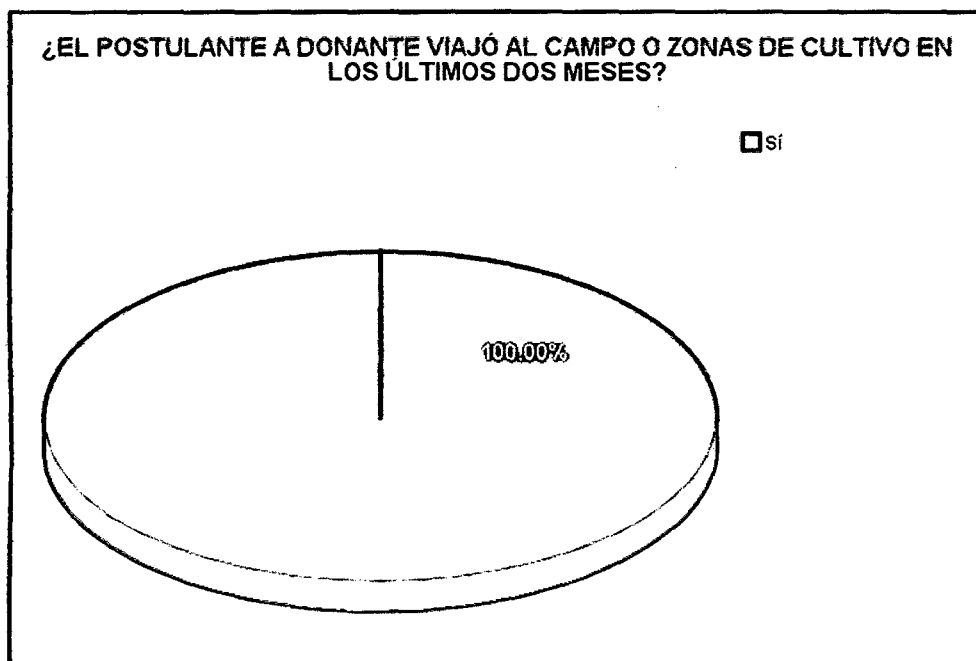


En la Tabla 8, confirmamos que el 100% de los postulantes seleccionados, manifestaron efectuar viajes al campo o zonas agrícolas- forestales en los últimos 2 meses.

**Tabla 8: ¿El postulante a donante viajó al campo o zonas de cultivo en los últimos dos meses?**

	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos    Sí	15	100,0	100,0	100,0

FUENTE: Ficha de recolección de datos.

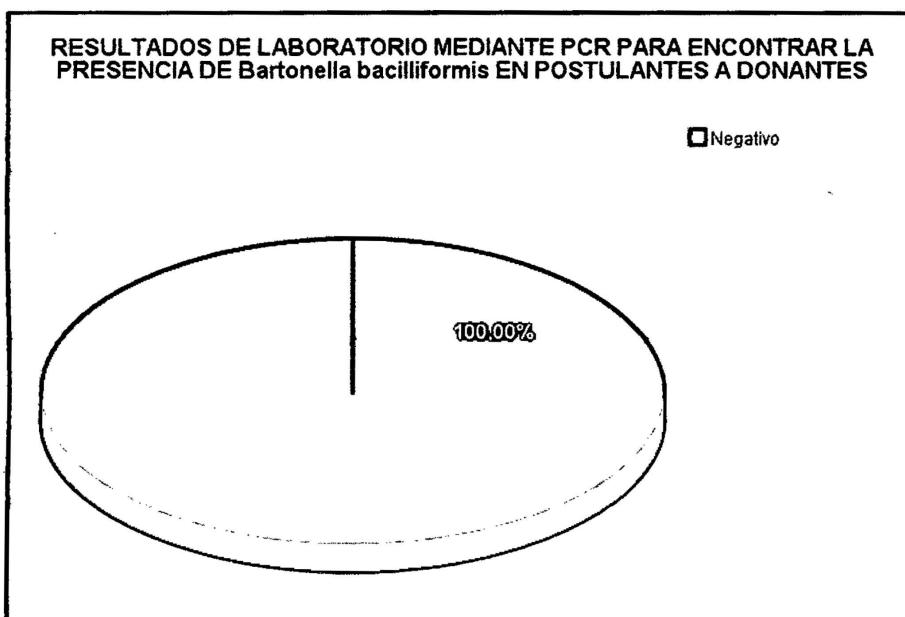


En la tabla 9, objetivo principal del presente estudio, pudimos constatar que el 100% de los postulantes seleccionados obtuvieron resultados Negativos para Bartonella bacilliformis mediante la técnica de Reacción en Cadena de Polimerasa.

**Tabla 9: Resultados de laboratorio mediante PCR para encontrar la presencia de Bartonella bacilliformis en postulantes a donantes**

	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos    Negativo	15	100,0	100,0	100,0

FUENTE: Ficha de recolección de datos.



## 5.2. DISCUSIÓN

La Bartonelosis denominada también Verruga Peruana o Enfermedad de Carrión, es una enfermedad ligada a la historia de la medicina en el Perú, la cual acompaña eventos importantes que van desde el estudio de su naturaleza, etiología, diagnóstico, tratamiento y las medidas preventivas necesarias para evitar su avance, eventos que a su vez no logran alcanzar aún, un nivel concluyente, constituyéndose con el pasar de los años en una especie de endemia ancestral, que afecta *generalmente* a la población de menos recursos económicos de los valles interandinos de este país.

Durante el mes de febrero del presente año se presentaron 208 postulantes a donantes de sangre en el servicio de Banco de Sangre y Hemoterapia del Hospital Regional de Cajamarca de los cuales se obtuvieron 15 muestras sanguíneas de postulantes asintomáticos que cumplieron los criterios de inclusión necesarios para su selección respectiva como población de estudio. En esta encontramos los siguientes datos:

En la tabla 3, evidenciamos que el 13.3% de los postulantes proceden de Cajabamba, provincia identificada como zona endémica, el mismo 13.3% de los postulantes procedían de las provincias de Chota y Hualgayoc respectivamente. El 46.7% proceden de la provincia de Cajamarca. Las provincias de de Chota y Santa Cruz poseen el 6.7% del total de postulantes, cada una. Del mismo modo encontramos en la tabla 5, que el 13.33% de los postulantes a donantes proceden de zonas consideradas endémicas para Bartonelosis. Pese a que no se tratan de casos infectados, debemos recordar que el presente estudio justifica su ejecución basado en que existe población postulante a donante proveniente de zonas

endémicas para Bartonellosis, anotemos que según el Ministerio de Salud en su Boletín epidemiológico 2006, la infección por *Bartonella bacilliformis* ha adquirido características endémicas principalmente en los departamentos de la sierra situados entre 500 y 3 200 metros sobre el nivel del mar, tanto es así que la prevalencia en los departamentos de Ancash, Cajamarca y La Libertad suman 85,5% de todos los casos del país<sup>23</sup>. En el específico caso de Cajamarca encontramos que las provincias principalmente comprometidas son las de Cajabamba, Cutervo, Jaén y San Ignacio.<sup>10</sup>

En la tabla 6, encontramos que el 60% de los postulantes a donantes proceden de viviendas ubicadas en zona rural, siendo el 40% restantes, procedentes de zona urbana. Este dato es importante para el desarrollo de nuestro estudio puesto que nos acerca a identificar la población en riesgo, sobre todo si correlacionamos con los estudios de Chamberlin J, Masuoka P y Cols.<sup>24</sup> quienes nos manifiestan que se ha encontrado que los casos ocurren en las viviendas agrupadas que se encuentran en zonas rurales y alejadas de los ríos, siendo la transmisión principalmente intradomiciliaria.

Maguiña C. y Gotuzzo E. (2000)<sup>25</sup> nos indican que *Lutzomyia verrucarum*, vector principal de la verruga peruana, es una especie propia del Perú; se encuentra en los valles occidentales e interandinos de los Andes peruanos, también en las casas (dormitorios), en los ambientes peri domiciliarios y en menor cantidad en el campo abierto, haciendo más probable el riesgo de sufrir una picadura en ambientes en donde se encuentre el vector mencionado, por ello es importante la información brindada en el cuadro 7 en el que se establece que el 60% de los postulantes a donantes manifiestan dedicarse a la agricultura como actividad laboral.



El presente estudio tuvo como objetivo, identificar mediante métodos moleculares, la presencia de *Bartonella bacilliformis* en personas (asintomáticas) postulantes a donantes de sangre, objetivo que no pudo concretarse con la muestra seleccionada durante las fechas anteriormente descritas, obteniendo resultados Negativos para las muestras enviadas al Instituto de Investigación de Enfermedades Infecciosas - Laboratorio de Biología Molecular de la Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas (UPC), quien realizó el estudio mediante la Reacción en Cadena de Polimerasa. Los resultados mencionados no niegan la existencia de portadores asintomáticos, y tampoco niega el uso de PCR como método diagnóstico, pues como podemos ver en los estudios de Jensen WA, Fall MZ, Rooney J, Kordick DL, Breitschwerdt EB.<sup>26</sup> se concluye que la reacción en cadena de la polimerasa o PCR es una técnica moderna que permite la detección del material genético de microorganismos en muestras clínicas, estando ampliamente difundida su utilidad en el diagnóstico de enfermedades infecciosas. Muchas pruebas de PCR han sido reportadas para el diagnóstico de la Bartonelosis. Entre estas pruebas destaca la prueba de PCR basada en el gen ribC y en el gen 16S rRNA.<sup>26</sup>

Del mismo modo Chamberlin J, Laughlin LW, Romero S, et al. (2002),<sup>27</sup> encontraron que De 690 participantes, en un estudio prospectivo de cohortes, 23% tuvieron cultivos positivos y PCR para *Bartonella bacilliformis* en sangre, de los cuales el 0,5% eran personas asintomáticas.

No se desmerece los métodos diagnósticos comúnmente usados, como el frotis, sin embargo debemos considerar las nuevas posibilidades diagnósticas, teniendo en cuenta que existen limitaciones para cada método, así, Ellis BA, Rotz LD, Leake JAD, Samalvides F, Bernable J, Ventura G, et al.<sup>28</sup> nos mencionan que a pesar que

el diagnóstico se basa principalmente en el examen directo de frotis, éste presenta baja sensibilidad.

La población de estudio como se especificó en el capítulo correspondiente, se limitó a postulantes a donantes asintomáticos, condición física que no descarta la posibilidad de infección. Al respecto Ventura G, Padilla C. Instituto Nacional de Salud; (2006),<sup>29</sup> define como caso de *Bartonellosis bacteriémica asintomática* a toda persona sin síntomas, residente o procedente de zonas endémicas o de nuevas áreas de transmisión de Bartonellosis, o colateral a un caso clínico o confirmado, o que haya tenido Bartonellosis aguda o verrucosa con anterioridad; a quien se le encuentra resultados de laboratorio frotis o cultivo o PCR positivos.

Para fundamentar la posibilidad de encontrar *Bartonella bacilliformis* en sangre de donantes y el consecuente riesgo de contagio por transfusión debemos asegurar que la mencionada Bacteria pueda sobrevivir a las condiciones de almacenamiento y refrigeración a la que se encuentran los paquetes globulares y hemoderivados en un Banco de sangre, es así que nos apoyamos en el estudio hecho por Joaquim Ruiz, Wilmer Silva, Juana del Valle y Cols. En cuyo estudio "Supervivencia de largo plazo de *Bartonella bacilliformis* en la sangre almacenada a 4 ° C. Un riesgo de las transfusiones de sangre" (2012), analizaron Cincuenta y cinco muestras de sangre periférica de pacientes con un diagnóstico clínico de enfermedad de Carrión y una confirmación frotis de sangre teñido con Giemsa positivo se almacenaron a 4 ° C por un mínimo de 24 meses. Encontraron que luego de 5 semanas de incubación, el cultivo inicial mostró el crecimiento de 11 de los 55 muestras ( 20 % ), mientras después de 24 a 30 meses de almacenamiento a 4 ° C , 6 de estos 55 ( 11 % )

muestras, todos con cultivos positivos previos (54,5%) , mostraron crecimiento bacteriano que requiere entre 4 y 10 semanas de incubación.

Bajo la posibilidad de encontrar *Bartonella bacilliformis*, mediante PCR, en sangre de postulantes a donantes asintomáticos y el peligro que este diagnóstico significa, consideramos válida, útil y acaso necesaria la ampliación de la presente investigación, prolongando el tiempo de estudio a fin de obtener la población proyectada, incrementando así, la probabilidad de encontrar resultados positivos.

## **CAPÍTULO VI. CONCLUSIONES**

- No encontramos resultados Positivos para *Bartonella bacilliformis* en las muestras seleccionadas para estudio mediante Reacción en Cadena de Polimerasa, posiblemente por ausencia de una población considerable.
- Los criterios de inclusión y exclusión reducen la población, no significando que esta sea la causa de la negatividad de nuestros resultados, por el contrario, nos proporcionan datos que permiten demostrar la presencia de postulantes provenientes de zonas consideradas endémicas.

## **CAPÍTULO VII. RECOMENDACIONES**

- La presente investigación debe ser ampliada en un periodo mayor de tiempo para poder alcanzar la población proyectada a fin de aumentar la probabilidad de obtener resultados positivos.
- Se deben crear programas que difundan información a nivel regional sobre la patología en estudio, tomando en cuenta que se trata de una enfermedad Endémica que merece atención en los niveles educativos y asistenciales en salud.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1.-Ministerio de Salud (Perú) /DGSP-V.01. Lima: Instituto Nacional de Salud/ Ministerio de Salud, Norma Técnica N°48-; 2007. Atención de la Bartonelosis o Enfermedad de Carrión en el Perú.
- 2.-Calero G, Aguilar M, Castillo. Estudio clínico y epidemiológico de la Bartonelosis en Ecuador. *Dermatol Perú*. 2005;15(2):119-25.
- 3.-González C, Maguiña C, Heras F, Conde-Salazar L. Bartonelosis (Fiebre de la Oroya o Verruga Peruana) ¿Enfermedad ocupacional? *Med SecurTrab*. 2007;58(209):57-62.
- 4.-Dehio C: Molecular and cellular basis of bartonella pathogenesis. *AnnuRevMicrobiol* 2008, 58:365-390.
- 5.-Huarcaya E, Rossi F, Llanos A. Influencia de factores climáticos sobre las enfermedades infecciosas. *RevMedHered*. 2004;15:218-24.
- 6.-Castillo R, Terrones C, Yábar D, Ventosilla P. Conocimientos, actitudes y prácticas respecto a la bartonelosis aguda (fiebre de la Oroya) en los pobladores del distrito de Ollantaytambo, provincia de Urubamba, en el Valle Sagrado de los Incas, Cusco, Perú. *Acta Méd Per*. 2008;25(2):120-8.
- 7.-Maguiña C, Ugarte C, Breña C, Ordaya E, Ventosilla P, Huarcaya E y col. Actualización de la enfermedad de Carrión. *Rev Med Hered*. 2008;19(1):125- 31.
- 8.-Chomel BB, Boulouis HJ, Maruyama S, Breitschwerdt EB: Bartonella spp. In pets and effect on human health. *Emerg Infect Dis* 2008, 12:389-394.
- 9.-Breitschwerdt EB, Maggi RG, Duncan AW, Nicholson WL, Hegarty BC, Woods CW: Bartonella species in blood of immunocompetent persons with animal and arthropod contact. *EmergInfectDis* 2008, 13:938-941.
- 10.-Dirección Regional de Salud, Gobierno Regional de Cajamarca. Boletín Epidemiológico 2013. Semana 44.
- 11.-Breitschwerdt EB, Maggi RG, Nicholson WL, Cherry NA, Woods CW: Bartonella spp. bacteremia in patients with neurological and neurocognitive dysfunction. *J ClinMicrobiol* 2008, 46:2856-2861.
- 12.-Billeter SA, Levy MG, Chomel BB, Breitschwerdt EB: Vector transmission of Bartonella species with emphasis on the potential for tick transmission. *Med Vet Entomol* 2008, 22:1-15.
- 13.-Marie JL, Fournier PE, Rolain JM, Briolant S, Davoust B, Raoult D: Molecular detection of Bartonella quintana, B. elizabethae, B. koehlerae, B. doshiae, B. taylorii, and Rickettsia felis in rodent fleas collected in Kabul, Afghanistan. *Am J TropMed* 2008, 74:436-439.
- 14.-Del Valle LJ, Flores L, Vargas M, et al. *Bartonella bacilliformis*, endemic pathogen of the Andean region, is intrinsically resistant to quinolones. *Int J InfectDis* 2010; 14: 506-510.
- 15.-Organización Panamericana de la Salud. Suministro de Sangre para Transfusiones en los Países del Caribe y de Latinoamérica 2006, 2007, 2008 y 2009: avance desde 2005 del Plan Regional de Seguridad Transfusional. Washington (DC); 2010.

- 16.-Buseri FI, Muhibi MA, Jeremiah ZA. Seroepidemiology of transfusion-transmissible infectious diseases among blood donors in Osogbo, southwest Nigeria. *Blood Transfus.* 2009;7(4):293-9.
- 17.-Maresch C, Schluter PJ, Wilson AD, Sleight A. Residual infectious disease risk in screened blood transfusion from a high-prevalence population: Santa Catarina, Brazil. *Transfusion.* 2008;48(2):273-81.
- 18.-Stokx J, Gillet P, De Weggheleire A, Casas EC, Maendaenda R, Beulane AJ, et al. Seroprevalence of transfusion-transmissible infections and evaluation of the pre-donation screening performance at the Provincial Hospital of Tete, Mozambique. *BMC InfectDis.* 2011;11:141.
- 19.-Rivero JRA. Transmisión de infecciones bacterianas y parasitarias por transfusión de sangre componentes. *RevCubHematolInmunolHemoter.* 2008; 24 (1).
- 20.-Kleinbaum DG. *Statistics in the health sciences: Survival analysis.* New York: Springer-Verlag publishers; 2006.p78.
- 21.-Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial. Adoptada por la 18 Asamblea Médica Mundial, Helsinki, Finlandia, junio de 1964 y enmendada por la 29 Asamblea Médica Mundial, Tokio, Japón, octubre de 1975, la 35 Asamblea Médica Mundial, Venecia, Italia, octubre de 1983 y la 41 Asamblea Médica Mundial, Hong Kong, septiembre de 1989.
- 22.-Ministerio de Salud, Perú. Ley general de salud. N° 26842. Concordancias: D.S.N° 007-98-SA: Julio de 2009.
- 23.-Ministerio de Salud, Perú. Informe Inicial: Brote de bartonelosis, localidad La Granja, distrito Querocoto, provincia Chota, departamento Cajamarca. *Boletín Epidemiológico del Ministerio de Salud.* 2006;15(37):581-4.
24. Chamberlin J, Masuoka P, Andre R, Laughlin L, Romero S, Solorzano N, González H, Watts D. Geographic information systems and the selection of priority areas for control of sand fly-transmitted bartonellosis in Peru. *Am J Trop Med Hyg* 1999; 61:S432.
25. Maguñá C. y Gotuzzo E. Bartonellosis: new and old. *Infect. Dis. Clin. North Am.* 2000; 14: 1-22.
26. Jensen WA, Fall MZ, Rooney J, Kordick DL, Breitschwerdt EB. Rapid identification and differentiation of Bartonella species using a single-step PCR assay. *J Clin Microbiol* 2000; 38(5): 1717-22.
27. Chamberlin J, Laughlin LW, Romero S, et al. Epidemiology of endemic Bartonella bacilliformis: a prospective cohort study in a Peruvian mountain valley community. *J Infect Dis* 2002; 186(7): 983-990.
28. Ellis BA, Rotz LD, Leake JAD, Samalvides F, Bernable J, Ventura G, et al. An outbreak of acute bartonellosis (Oroya Fever) in Urubamba region of Peru, 1998. *Am J Trop Med Hyg* 1999; 61(2): 344-9.
29. Ventura G, Padilla C. Diagnóstico bacteriológico de la Bartonelosis humana o enfermedad de Carrión. Lima: Instituto Nacional de Salud; 2006.

ANEXO (TABLAS, GRÁFICAS, ETC.).

A) FICHA DE DATOS

FECHA DE REGISTRO			
-------------------	--	--	--

CÓDIGO DE DONANTE	
-------------------	--

FILIACIÓN			
NOMBRES Y APELLIDOS:			
SEXO:	M	F	EDAD: Años
PROVINCIA DE PROCEDENCIA			
DISTRITO DE PROCEDENCIA			
CP/CASERIO DE PROCEDENCIA			
UBICACIÓN DE VIVIENDA	URBANO	URBANO-MARGINAL	RURAL
OCUPACIÓN-ACTIVIDAD LABORAL			

ANTECEDENTES		
	SI	NO
Viaje a campo o zonas de cultivo – forestales en los últimos dos meses.		

DATOS CLÍNICOS		
	SI	NO
Sensación de alza térmica o presencia de uno o más episodios febriles dentro de los últimos 14 días.		
Decaimiento o pérdida de fuerza en los últimos 14 días.		
Dolor articular en los últimos 14 días.		
Hiporexia en los últimos 14 días.		

RESULTADO DEL ANÁLISIS MOLECULAR	
PCR para <i>Bartonella bacilliformis</i>	

OBSERVACIONES

## B) CONSENTIMIENTO INFORMADO

El presente formulario está dirigido a usted postulante a donante de sangre, atendido en el Banco de Sangre del Hospital Regional de Cajamarca, para invitarlo a participar de la investigación: **“Identificación y Caracterización Molecular de Bartonella Bacilliformis en Postulantes asintomáticos a donantes de Sangre en el Servicio de Banco de Sangre y Hemoterapia del Hospital Regional de Cajamarca durante el mes de Febrero del Año 2014”**.

El proceso de donación de sangre, (procedimiento que usted desea realizar) incluye estudios previos en una muestra de sangre tomada de su persona, a fin de descartar alguna infección o patología que demuestre su aptitud o no aptitud como posible donante. El presente proyecto busca identificar la presencia Bartonella bacilliformis, bacteria responsable de la bartonelosis, conocida como la “enfermedad de Carrión” o “fiebre de la Oroya”, que según estudios está presente en algunas provincias de nuestra región. De esta manera su consentimiento permitirá descartar si es usted portador asintomático o no, de la mencionada bacteria.

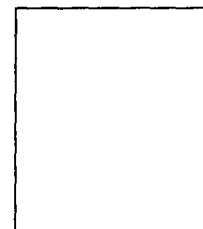
Su participación en esta investigación es totalmente voluntaria. Usted puede elegir participar o no hacerlo. Tanto si elige participar o no, continuarán todos los servicios que reciba en el Banco de Sangre sin cambio alguno.

La información que se obtenga por este proyecto de investigación se mantendrá confidencial.

Solo si concede su consentimiento, sírvase llenar el siguiente formulario:

Yo, ....., identificado con DNI ....., declaro que se me ha brindado la información sobre el trabajo de investigación : **“Identificación y Caracterización Molecular de Bartonella Bacilliformis en Postulantes asintomáticos a donantes de Sangre en el Servicio de Banco de Sangre y Hemoterapia del Hospital Regional de Cajamarca durante el mes de Febrero del Año 2014”**. Consiento voluntariamente se realicen los estudios en la muestra de sangre que se me extraerá como parte del tamizaje establecido para postulante a donante de sangre en el Banco de Sangre del Hospital Regional de Cajamarca. Entiendo además que tengo el derecho de retirarme de la investigación en cualquier momento sin que se afecte de ninguna manera la atención brindada por el servicio a mi persona.

Firma del Participante \_\_\_\_\_ Huella Digital:



Fecha: