



Diagnóstico de *Bartonella bacilliformis* con frotis de sangre periférica: Utilidad en países con bajos recursos

Diagnosis of *Bartonella bacilliformis* with peripheral blood smear: Usefulness in countries with low resources

Señor editor:

La bartonelosis (también llamada enfermedad de Carrión o verruga peruana) es una enfermedad reemergente tropical causada por *Bartonella bacilliformis*^{1,2}. Actualmente, se expande a nuevas áreas y regiones del Perú, debido a la mayor distribución del vector *Lutzomyia verrucarum*. Esto sugiere la necesidad urgente de estrategias de control que incluyan, entre otros aspectos, el diagnóstico de laboratorio sensible y pertinente^{3,4}. Sin embargo, las pruebas sensibles para la detección de esta enfermedad (RPC, inmunoblot, etc.) son costosas y complejas de implementar en laboratorios de baja y mediana complejidad; o exigen demasiado tiempo para su ejecución (hemocultivo). Es por ello que la microscopía de sangre coloreada con tinción de Giemsa es una alternativa diagnóstica muy utilizada en países endémicos con escasos recursos⁵.

El objetivo de esta comunicación es analizar la utilidad del frotis; así como, sugerir algunos criterios técnicos para su rendimiento óptimo.

En la actualidad, se han desarrollado varios métodos diagnóstico de laboratorio para la bartonelosis; sin embargo, no todos están disponibles como kits comerciales o han sido adoptados en el campo clínico de rutina. El frotis, el hemocultivo⁵ y la reacción de la polimerasa en cadena (RPC)^{6,7}, como prueba directa; e inmunocromatografía, ELISA⁸, inmunofluorescencia indirecta (IFI)⁹ e inmunoblot¹⁰, como pruebas indirectas.

Podríamos destacar tres ventajas del frotis en comparación con otras metodologías:

- Ejecución a corto plazo (minutos), en comparación con pruebas como hemocultivo (hasta 45 días), pruebas inmunológicas como ELISA e inmunoblot (varias horas) y RPC (varios días)^{5,8,10}.
- Proceso simple y de bajo costo, solo requiere un frotis de sangre periférica, tinción de Giemsa y observación microscópica. Esto es favorable para países en vías de desarrollo.
- La observación específica directa de bacterias intracelulares por parte de un microscopista experto. Sin embargo, existe la posibilidad de resultados falsos

positivos debido a la confusión de *B. bacilliformis* con elementos externos o intracelulares no biológicos (punteado basófilo, partículas de polvo, etc.)

Sin embargo, las principales desventajas del frotis de sangre son:

- *Muy baja sensibilidad de diagnóstico.* Durante la fase aguda de la enfermedad, el estudio microscópico de frotis de sangre periférica tiene una sensibilidad de 25% en comparación con el hemocultivo⁶; esto implica que es difícil usarlo como una prueba de detección.
- *Prueba dependiente del manipulador.* El diagnóstico mediante microscopía de frotis de sangre periférica requiere un microbiólogo experimentado en la técnica y en el reconocimiento de la bacteria. Esto puede llevar a falsos positivos y negativos.
- *Procesamiento individual de la muestra.* No es posible realizar el análisis simultáneo y múltiple de las muestras, como sería posible en las pruebas inmunológicas (ELISA).

Por otro lado, es posible optimizar el rendimiento del frotis y compensar la desventaja de la dependencia del manipulador. Al respecto, de acuerdo con las guías previas⁵ y principalmente sobre la experiencia propia de los autores, se recomiendan estos cinco criterios que debe cumplir la microscopía para considerarla positiva para la infección por *B. bacilliformis* (Figura 1).

1. Ubicación intracelular de la bacteria en los glóbulos rojos.
2. Reacción eosinofílica (color rojizo o violeta) de las bacterias a la tinción de Giemsa. Las formas de color oscuro (negro o azul) descartan la posibilidad de *B. bacilliformis*.
3. Regularidad de tamaño y forma. Las bacterias multiplicadas por fisión binaria generan células descendientes de forma igual o muy similar al “progenitor” (regularidad de tamaño y forma). Estas formas pueden ser cocoide, cocobacilar y bacilar.
4. Disposición bacteriana aislada en pares, nunca formando cadenas o diplococos.
5. No más de doce bacterias por glóbulo rojo, incluso en las infecciones más agudas y graves. Una mayor cantidad de bacterias lisaría el glóbulo rojo.

El diagnóstico temprano y sensible de laboratorio de la enfermedad de Carrión sigue siendo un desafío actual. Se requieren estudios de alta calidad y organizados en áreas endémicas para el desarrollo de nuevas técnicas de diagnóstico.

En conclusión, el frotis de sangre de microscopía coloreado con Giemsa es simple, rápido y de bajo costo; sin embargo, tiene una sensibilidad muy baja, depende del

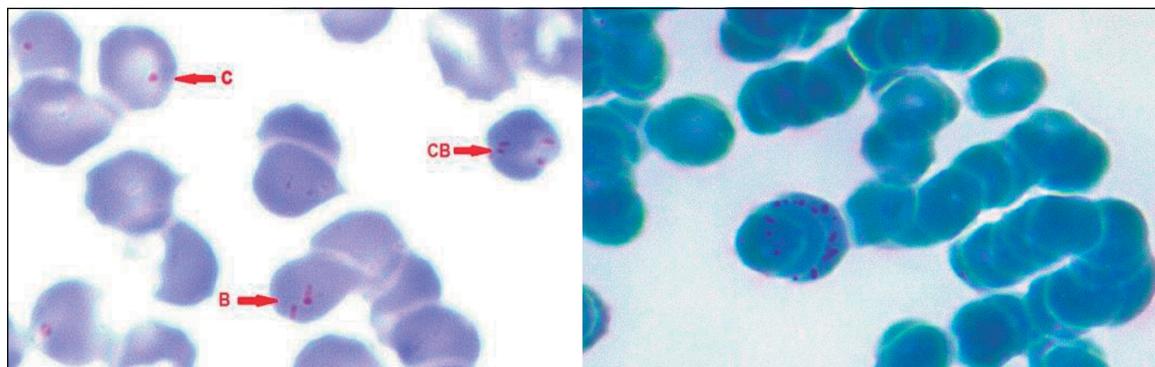


Figura 1. Tinción de Giemsa de frotis de sangre periférica: bartonelosis vs confusión. **Izquierda:** mostrando las tres formas de *B. bacilliformis*; cocoide (C), cocobacilar (CB) y bacilar (B). Incremento 2000X. **Derecha:** mostrando punteado de basófilos intracelulares (elementos de confusión con *B. bacilliformis*). Incremento 2000X.

manipulador y no permite el análisis simultáneo y múltiple de las muestras. La aplicación de algunos criterios técnicos en el momento de la lectura microscópica podría optimizar el rendimiento de la prueba.

Referencias bibliográficas

- 1.- Takano Morón J. Bartonelosis humana: antes y después de Daniel Alcides Carrión. Rev Peru Med Exp Salud Publica 2014; 31: 385-9.
- 2.- Maguiña Vargas C, Ugarte-Gil C, Breña Chávez P, Ordaya Espinoza E, Ventosilla López V, Huarcaya Castilla E, et al. Actualización de la enfermedad de Carrión. Rev Med Hered 2008; 19: 36-41.
- 3.- Gomes C, Ruiz J. Carrion's Disease: the sound of silence. Clin Microbiol Rev 2017; 31 (1): e00056-17. DOI: 10.1128/CMR.00056-17.
- 4.- Gomes C, Pons M J, Del Valle Mendoza J, Ruiz J. Carrion's disease: an eradicable illness? Infect Dis Poverty 2016; 5: 105.
- 5.- Ventura Egúsqüiza G, Padilla Rojas C P. Diagnóstico bacteriológico de la bartonelosis humana o enfermedad de Carrión. Ministerio de Salud. Instituto Nacional de Salud. Lima, 2006; 52 p. Disponible en: http://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/otrpubs/pdf/Manual_Bacteriologico.pdf.
- 6.- del Valle Mendoza J, Silva Caso W, Tinco Valdez C, Pons M J, del Valle L J, Oré V C, et al. Diagnosis of Carrion's disease by direct blood PCR in thin blood smear negative samples. PLoS One 2014; 9: e92283. DOI: 10.1371/journal.pone.0092283.
- 7.- Smit P W, Peeling R W, Garcia P J, Torres L L, Pérez-Lu J E, Moore D, et al. Dried blood spots for qPCR diagnosis of acute *Bartonella bacilliformis* infection. Am J Trop Med Hyg 2013; 89: 988-90. DOI: 10.4269/ajtmh.13-0246.
- 8.- Angkasekwinai N, Atkins E H, Romero S, Grieco J, Chao C C, Ching W M. An evaluation study of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) using recombinant protein pap31 for detection of antibody against *Bartonella bacilliformis* infection among the peruvian population. Am J Trop Med Hyg 2014; 90: 690-6. DOI: 10.4269/ajtmh.13-0131.
- 9.- Chamberlin J, Laughlin L, Gordon S, Romero S, Solórzano N, Regnery R L. Serodiagnosis of *Bartonella bacilliformis* infection by indirect fluorescence antibody assay: test development and application to a population in an area of bartonelosis endemicity. J Clin Microbiol 2000; 38: 4269-71.
- 10.- Maguiña C, Romero I, Soto N, Solórzano N, Tarazona A, Gilman R, et al. Historia natural de la fase eruptiva de la verruga peruana y la importancia de la prueba de western blot, reporte preliminar. Folia Dermatológica Peruana 2002; 13 (2): 36-42.

**Heber Silva-Díaz¹, Sebastian A. Iglesias-Osores²,
Virgilio E Failoc-Rojas³**

¹Laboratorio de Parasitología, Metaxénicas y Zoonosis, Hospital Regional Lambayeque, Perú.

²Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Lambayeque, Perú.

³Centro de Investigación en Epidemiología Clínica y Medicina Basada en Evidencias, Facultad de Medicina Humana, Universidad de San Martín de Porres, Lima, Perú.

Correspondencia a:
Virgilio Failoc-Rojas.
virgiliofr@gmail.com