



UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE
Facultad de Medicina
Instituto de Microbiología Clínica

Detección serológica de *BARTONELLA HENSELAE* en gatos y sus
propietarios en la ciudad de Valdivia

Tesis de grado presentada como
parte de los requisitos para optar al
Grado de LICENCIADO EN MEDICINA
VETERINARIA

Andrea Nicole Ballesteros Armando
Valdivia Chile 2000

PROFESOR PATROCINANTE: DR. LUIS ZAROR C. _____

PROFESOR COPATROCINANTE: DR. SANTIAGO ERNST M. _____

PROFESOR COLABORADOR: DR. JULIO THIBAUT L. _____

DRA. MARITZA NAVARRETE _____

PROFESORES CALIFICADORES: _____

FECHA DE APROBACION: _____

16 NOV. 2000

INDICE

	Pag.
1. RESUMEN	1
2. SUMMARY	2
3. INTRODUCCION	3
4. MATERIAL Y METODO	11
5. RESULTADOS	14
6. DISCUSION	20
7. BIBLIOGRAFIA	24
8. ANEXOS	32
AGRADECIMIENTOS	35

DETECCIÓN SEROLÓGICA DE *BARTONELLA HENSELAE* EN GATOS Y SUS PROPIETARIOS EN LA CIUDAD DE VALDIVIA

1. RESUMEN

Con el propósito de conocer la proporción de gatos seropositivos a *Bartonella henselae*, agente de la enfermedad por arañazo de gato, en la población felina de la ciudad de Valdivia, Décima Región, Chile, se muestrearon 76 gatos mestizos, de ambos sexos, de 3 meses a 9 años de edad, concurrentes al Hospital Veterinario de la Universidad Austral de Chile y a otras clínicas privadas de la ciudad. El diagnóstico serológico se realizó mediante Inmunofluorescencia Indirecta. Además, se recolectaron datos sobre raza, sexo, edad, actividad y presencia de pulgas de cada uno de los gatos en estudio. De los animales muestreados, un 71% resultó tener anticuerpos contra *Bartonella henselae*. El grupo de animales con mayor porcentaje de seropositividad fueron los de 3 ó más años y menos de 6.

También se tomó muestras de sangre de 22 personas, dueños de gatos positivos a *Bartonella henselae*, con el objetivo de determinar la presencia de anticuerpos en los grupos familiares a los cuales pertenecían estos animales. Cuatro individuos (18%), evidenciaron anticuerpos contra esta bacteria.

PALABRAS CLAVE: Enfermedad por arañazo de gato, *Bartonella henselae*.

SEROLOGIC DETECTION OF *BARTONELLA HENSELAE* IN CATS AND THEIR OWNERS IN THE CITY OF VALDIVIA

2. SUMMARY

In order to know the number of cats seropositive to *Bartonella henselae* in the feline population of the city of Valdivia, Xth Region, 76 half-breed cats, 3-month to 9-years old, of both genders, were sampled at the Veterinary Hospital of Universidad Austral de Chile and other private clinics in the city. The serologic diagnosis was made by indirect immunofluorescence. In addition, data on sex, age, activity and presence of fleas on each cat under study were gathered. Of all the sampled animals, 71% showed antibodies against *Bartonella henselae*. As a result of this analysis, the group ranging from 3-to 6-years old showed the greatest amount of seropositive cats.

Blood samples of 22 people owing cats seropositive to *Bartonella henselae* were drawn in order to determine the presence of antibodies in the family groups where these cats were found. As a consequence, four individuals (18%) showed evidence of this bacterium.

Keywords: Cat-scratch disease, *Bartonella henselae*.

3. INTRODUCCION

La enfermedad por arañazo de gato (EAG) se conoce desde hace más de 40 años; Sin embargo, su etiología permaneció desconocida hasta los últimos años. La acumulación de evidencias ha permitido precisar que su agente etiológico es la bacteria *Bartonella henselae* anteriormente llamada *Rochalimea henselae* (Anderson y Neuman, 1997). Esta bacteria pertenece al género *Bartonella* por su cercanía genética con *Bartonella bacilliformis* (agente de la Fiebre de Oroya o Verruga Peruana), *Bartonella quintana* (agente de la Fiebre de las Trincheras) y otras, constituyendo un género diferente de las Rickettsias, con las que se la relacionó inicialmente.

Bartonella henselae ha sido asociada con diversas enfermedades humanas, además de EAG, como son angiomatosis bacilar, peliosis hepática, bacteremia y endocarditis (Slater y col.,1990; Regnery y col.,1992; Jackson y col.,1993; Anderson y col.,1994; Koehler y col., 1994; Clarridge y col., 1995). El descubrimiento y aislamiento de *Bartonella henselae* ha acelerado el entendimiento de la epidemiología y patogénesis de estas enfermedades. Estudios serológicos y cultivos indican que un alto porcentaje de gatos han estado expuestos o infectados con este organismo (Koehler y col., 1994; Childs y col., 1995; Chomel y col., 1995; Jameson y col., 1995). La seroprevalencia varía de acuerdo con la geografía local y es influenciada por el clima y probablemente por la permanencia del vector (Jameson y col., 1995).

Desde la primera descripción de EAG por Debré y col. en 1950, los estudios para encontrar el agente etiológico de este cuadro han sido fuente de mucha controversia y confusión; éste fue atribuido originalmente a agentes virales y chlamidias (Turner y col.,1960; Kalter y col.,1969 ; Emmons y col.,1976; Wear y col.,1983; Gerber y col.,1985; English y col.,1988; Bogue y col.,1989; Schlossberg y col.,1989).

Se comenzó a hablar de agentes bacterianos en 1983, cuando se detectaron bacilos en nodulos linfáticos provenientes de pacientes con EAG. La bacteria fue descrita como un pequeño bacilo gram negativo, aeróbico, pleomórfico y oxidasa negativa (Wear y col.,1983).

En 1988 el agente fue aislado y cultivado a partir de nódulos linfáticos provenientes de 10 personas con EAG (English y col.,1988). Esta bacteria fue conocida como el bacilo de EAG y llamada *Afipia felis* (Brenner y col., 1991). Sin embargo, estudios posteriores indicaron que este microorganismo no era responsable del cuadro (Maass y col., 1992; Szecel y col., 1995; Amerein y col., 1996).

En un estudio realizado con reacción en cadena de la Polimerasa (PCR), Bergmans y col.(1995), encontraron que el 96% de las muestras de nódulos linfáticos de pacientes con

EAG (con test cutáneo positivo), fueron positivas a *Bartonella spp.* Los mismos autores encontraron que el 60% de los pacientes sospechosos de EAG (sin test cutáneo) tenían *Bartonella spp.* De ninguna de las muestras analizadas se aisló *Afipia felis*.

El número de especies que componen la familia Bartonellaceae, género Bartonella, ha sido recientemente incrementado de un integrante, *B. Bacilliformis*, a las 14 especies conocidas hasta ahora; 5 de ellas, *B. bacilliformis*, *B. henselae*, *B. quintana*, *B. elizabethae* y *B. clarridgeae*, han sido asociadas con diferentes enfermedades y síndromes en humanos.

La enfermedad de Camón, también conocida como Fiebre de Oroya o Verruga Peruana ha sido referida desde la conquista española, cuando Garcilazo de la Vega en 1537 en Coaque, Ecuador, escribió que los españoles que venían a América con Francisco Pizarro sufrían de esta mortal enfermedad y la describía como un extraño síndrome que producía verrugas en todo el cuerpo que sangraban al ser manipuladas (Maguiña, 1998). Fue hasta 1905, en que Alberto Barton descubrió el agente causal de la enfermedad de Carrión (Avila y col, 1995), llamada así en honor a Daniel Carrión, un estudiante peruano de medicina que se inoculó el contenido de una verruga y que luego de algunos días desarrolló la enfermedad y murió (Leonard, 1992). Seguidamente, en 1919, diversos autores en forma separada aislaron *B. bacilliformi* (Maguiña, 1998).

B. quintana, agente causal de la Fiebre de las Trincheras, fue descrita por primera vez durante la primera guerra mundial. La enfermedad afectó a más de un millón de soldados en Europa. El organismo fue originalmente designado como *Rickettsia quintana* en 1919, pero después de ser aislada en cultivos celulares el nombre fue cambiado a *Rochalimea quintana*. El primer crecimiento documentado de *R. quintana* en agar fue informado por Vinson y Fuller en 1961 (Bass y col., 1997).

Bartonella vinsonni fue aislada sólo una vez en Canadá en 1943 (Randhawa y col., 1977). Sin embargo, comunicaciones recientes detallan el aislamiento de una subespecie de *Bartonella vinsonii* desde un perro aparentemente sano y de uno con endocarditis (Breitschwerdt y Kordick, 1995).

La identificación y caracterización de *Bartonella henselae* como un organismo de importancia médica resulta de la investigación prolongada que comienza con el reconocimiento de EAG en Francia en 1950 (Debré y col., 1950) y fue resuelta últimamente siguiendo los estudios de las etiologías de enfermedades relacionadas con el SIDA, tal como angiomatosis bacilar, la cual fue observada por primera vez en 1983 (Stoler y col., 1983).

3.1. CARACTERÍSTICAS DEL GÉNERO BARTONELLA

Los miembros de éste género se describen como pequeños bacilos aeróbicos, pleomórficos, gram negativos que crecen lentamente en cultivos; además son oxidasa, catalasa, ureasa y nitrato reductasa negativos (Brenner y col,1993; Birtles y col,1995).

El crecimiento óptimo es a 37°C, excepto para *B. baciliformis*, la cual lo hace entre 25°C y 28°C (Brenner y col,1991). El medio de cultivo debe contener 5 a 10 % de sangre de conejo, oveja o caballo. La incubación se realiza preferentemente en presencia de 5% de CO₂, excepto para *B. baciliformis* que crece mejor sin suplementación. No utilizan los carbohidratos (Weiss y col.,1984; Welch y col,1992).

B. baciliformis y *B. clarridgeiae* están dotadas de un flagelo que en el caso de *B. baciliformis* facilita la invasión eritrocítica; en cambio, otras especies como *B. henselae*, carecen de esta característica (Dehio y col., 1997).

El crecimiento de *Bartonella* en general es lento. Cuando se usa agar sangre los primeros aislamientos se obtienen después de 12 a 14 días. Períodos prolongados de incubación sobre los 45 días son necesarios en muchas ocasiones (Maurin y Raoult,1998).

Las colonias se observan de color blanco, pequeñas, rugosas y adherentes en el primer aislamiento, haciéndose más lisas y menos adherentes después de varios pasajes (Maurin y Raoult,1998).

In vivo, *Bartonella* spp. parece estar en estrecha asociación con sus células huésped. *Bartonella baciliformis* infecta eritrocitos y células endoteliales humanas y ha sido generalmente considerada como un parásito intraeritrocítico (Benson y col., 1986; McGinnis y col,1992; Zbiden y col.,1995). La presencia intraeritrocítica de *Bartonella henselae* en glóbulos rojos de gato ha sido observada recientemente (Kordick y col., 1995).

3.2. RESERVORIO

Diversos estudios muestran que los gatos, especialmente los animales jóvenes, son reservorio de *Bartonella henselae* y su rol en la transmisión de la enfermedad está bien determinado (Anderson y Neuman, 1997).

La pulga del gato (*Ctenocephalides felis*) ha sido propuesta como el potencial vector de *Bartonella henselae* (Koehler y col, 1994; Tappero y col, 1993; Tompkins, 1994). Estudios epidemiológicos han mostrado que dueños de gatos infestados con pulgas tienen mayor predisposición a EAG y angiomatosis bacilar (Tappero y col, 1993; Zangwill y col., 1993). La presencia de *Bartonella henselae* en *Ctenocephalides felis* ha sido demostrada (Kirkpatrick y Whiteley,1987; Kirkpatrick y Glickman,1989; Regnery y col.,1992 a; Childs y col,1994), como también la transmisión experimental de *Bartonella henselae* de un gato a otro a través de pulgas (Chomel y col, 1996).

3.3. BARTONELLA SPP. EN OTRAS ESPECIES

Bartonella spp. ha sido identificada como un importante agente zoonótico (Chomel y col.,1996; Bass y col.,1997). Los gatos son conocidos por ser el reservorio de *B. henselae* (Bass y col, 1997). Sin embargo, algunos casos de EAG en humanos no tienen relación con exposición a estos felinos (Margileth y col., 1987), sugiriendo que otra especie animal podría ser el reservorio de la bacteria.

Recientemente nuevas especies de *Bartonella* han sido aisladas a partir de un amplio rango de mamíferos , incluyendo roedores (Birtles y col.,1997; Heller y col,1997; Kosoy y col, 1997; Hofmeister y col., 1998; Ellis y col., 1999), lagomorfos (Heller y col,1999) carnívoros (Kordick y col,1996; Chomel y col,1998; Kelly y col.,1998) y cérvidos (Chomel y col.,1998; Heller y col,1998).

En el estudio realizado por Chang y col. (2000) en Norteamérica se concluyó que ciervos, alces y ganado vacuno doméstico son un posible reservorio de *Bartonella spp.*. La prevalencia de *Bartonella* fue alta en ganado vacuno de carne y también cérvidos como el cariacú, posiblemente relacionado con la alta infestación de garrapatas que serían la fuente de infección para rumiantes (Wall y Shearer, 1997).

3.4. ENFERMEDAD POR ARAÑAZO DE GATO (EAG)

EAG es una enfermedad bacteriana transmitida al hombre por un arañazo o mordedura de un gato o de una pulga que se haya estado alimentando de un animal infectado. Estos felinos son asintomáticos y no muestran evidencia de la enfermedad (Booras, 1997).

Los gatos adquieren la infección de pulgas y garrapatas. El hábito de estos felinos de lamerse, mantiene la bacteria en su pelaje, saliva y garras. Cuando el gato araña o muerde a una persona, la bacteria pasa a ella a través de sus uñas y saliva. También puede provocar infección ocular si es que se ha acariciado la piel del gato y luego se frota los ojos con la misma mano (Booras, 1997).

La infección con *Bartonella spp.* resulta en un síndrome de variada intensidad, que va desde sólo una linfadenopatía hasta un compromiso sistémico. La severidad en la presentación de la enfermedad está relacionada con el estado inmune de los afectados (Lucey y col.,1992).

Pacientes inmunocompetentes, saludables, tienden a presentar un cuadro clásico de EAG, mientras que pacientes inmunocomprometidos con SIDA, alcoholismo crónico, inmunosupresión o con otros problemas, pueden presentar enfermedad sistémica.(Daly y col.,1993; Hadfield y col.,1993; Spach y col.,1993; Holmes y col.,1995).

a) EAG en huésped inmunocompetente: la enfermedad por arañazo de gato es una causa frecuente de linfadenopatía regional de curso subagudo y evolución benigna, producida tras el rasguño de un gato, generalmente menor a un año de edad. En la zona de inoculación puede desarrollarse una pápula, vesícula o costra de lenta cicatrización, apareciendo posteriormente una adenopatía regional de prolongada y espontánea resolución; ocasionalmente puede supurar. Algunos pacientes presentan compromiso del estado general, fiebres, mialgia, dolor abdominal y anorexia. Se ha descrito un variado espectro de otras manifestaciones: síndrome oculoglandular de Parinaud, granulomas hepáticos y/o esplénicos, hepatitis, encefalitis, neuroretinitis, osteomielitis, neumonía con efusión pleural, síndrome febril prolongado, púrpura trombocitopénico, eritema nodoso, vasculitis leucocitoclástica. Esporádicamente se ha observado en el inmunocompetente formas de presentación típicas del inmunodeprimido, como son la angiomasosis bacilar, peliosis hepática y bacteremias (Margileth y col.,1987; Welch y col.,1992; Tappero y col.,1993; Regnery y col, 1995).

b) EAG en huésped inmunodeprimido: en estos pacientes la *Bar tone I la henselae* produce una enfermedad de proliferación vascular con nodulos cutáneos que se suelen confundir con sarcoma de Kaposi, denominada angiomasosis bacilar. Cuando estos nódulos vasculares se localizan en el hígado constituyen la llamada peliosis hepática. (Koehler y Tappero, 1993). Además, puede ocasionar cuadros febriles con demostración de la bacteria en la sangre. También se han descrito cuadros diseminados, más frecuentemente que en el huésped normal, con compromiso principalmente encefálico y óseo. En el sujeto normal las manifestaciones son mayoritariamente debidas al proceso de contención de la infección en los nódulos linfáticos. En el inmunodeprimido la infección es generalizada, no contenida en los nódulos. Se especula que la bacteria sería capaz de bloquear algún factor de proliferación vascular reprimido en situaciones de inmunidad normal (Koehler y Tappero,1993; Koehler, 1995).

3.4.1. Diagnóstico

El diagnóstico clínico de EAG tradicionalmente requiere de la presencia al menos de tres de cuatro criterios (Carither, 1985):

- Una lesión primaria resultado del contacto con un gato.
- Test cutáneo positivo.
- Linfadenopatía regional en ausencia de otras causas para ésta.
- Presencia de lesiones histopatológicas características: linfadenitis granulomatosa crónica supurada y presencia de bacilos teñidos con la tinción argéntica de Warthin Starry.

En los últimos años el test cutáneo ha sido cuestionado por ser preparado a partir de nódulos de pacientes afectados; este procedimiento conlleva el riesgo de transmisión de enfermedades infecciosas y dificultades en su estandarización. A partir de la identificación

de *Bartonella henselae* como el agente causal de la enfermedad se pudieron desarrollar técnicas de diagnóstico serológico. La más sensible y específica es la inmunofluorescencia indirecta (IFI). Este test se ha convertido en la actualidad en la herramienta más útil para el diagnóstico de certeza, evitando la necesidad de realizar biopsia. Recientemente se ha logrado cultivar la bacteria con medios especiales e incubación prolongada. Además, se han desarrollado técnicas de biología molecular para su diagnóstico (Margileth, 1995).

Es necesario agregar que la historia de contacto con animales, especialmente con arañazo de gato, es clave en el diagnóstico (Simó y col, 1998).

3.4.2. Tratamiento

En este ámbito se presentan diferencias claras entre la enfermedad en el huésped normal y el inmunodeprimido. En el huésped inmunocompetente la enfermedad sigue un curso benigno hasta la curación lenta, pero espontánea, siendo de dudosa utilidad el uso de antibióticos. En el inmunodeprimido, en cambio, se ha observado una respuesta clara y a veces espectacular a la terapia antibiótica.

a) Huésped inmunocompetente: En la mayor serie de la enfermedad publicada con mil doscientos pacientes (Carithers, 1985), se señala que el uso de antibióticos no parece acortar la duración de la enfermedad ni prevenir la progresión a la supuración de los nódulos afectados. Claramente, no hay efecto alguno con el uso de penicilinas, drogas antiestafilocócicas, cefalosporinas y cloranfenicol. Algunos pacientes se recuperaron en relación al uso de sulfametoxazol-trimetoprim, pudiendo coincidir con la evolución espontánea a la mejoría. En un estudio retrospectivo del uso de antibióticos en la enfermedad realizado en doscientos sesenta y ocho pacientes, Margileth (1992) informó que de dieciocho diferentes antibióticos prescritos, sólo cuatro tenían algún valor en el tratamiento: rifampicina, ciprofloxacina, gentamicina y sulfametoxazol-trimetoprim. Las tasas de eficacia calculadas para ellos fue de 87, 84, 73 y 58% respectivamente, basándose en la mejoría clínica de los síntomas, la disminución de la adenopatía y de la velocidad de eritrosedimentación. Se recomienda tratamiento antibiótico para los casos más severos y terapia sintomática para la mayoría de los pacientes con cuadros leves (Margileth, 1992). Koehler en 1995 informó éxitos terapéuticos con el uso de ciprofloxacina en cinco pacientes adultos con síntomas marcados. A la fecha, no se han publicado estudios controlados que permitan precisar la utilidad del uso de antibióticos en la enfermedad de curso habitual. En el último tiempo se han logrado realizar estudios de sensibilidad antibiótica *in vitro*. Estos estudios preliminares no constituyen aún una base para las decisiones terapéuticas. El manejo de la mayoría de los casos ha sido sintomático y puede requerirse de la punción evacuadora en casos de supuración nodular, no siendo estrictamente necesario la extirpación quirúrgica (Abarca, 1996).

b) Huésped inmunodeprimido: en cuadros de angiomas bacilar, peliosis hepática y bacteremias por *B. henselae*, el uso de eritromicina ha demostrado excelente respuesta clínica en todos los pacientes y es, actualmente, la droga de elección. También se ha observado excelente respuesta al uso de doxiciclina, mejor tolerada que la anterior. Otras drogas usadas con éxito han sido: sulfatrimetoprim, ciprofloxacina, norfloxacina,

minociclina, tetraciclina, cloranfenicol, azitromicina y roxitromicina. Se ha descrito una reacción tipo Jarish-Herxheimer al inicio de la terapia, caracterizada por fiebre, mialgias y síntomas constitucionales (Margileth, 1992).

Estudios de laboratorio han demostrado que *B. henselae* es susceptible a diferentes antibióticos in vitro (Dolan y col., 1993). Sin embargo, el tratamiento con antimicrobianos es cuestionable y generalmente no recomendable en ausencia de complicaciones sistémicas (Bogue y col,1989; Margileth, 1992; Anderson y Edwards,1995). Se ha observado que es altamente susceptible a betalactámicos, aminoglicósidos, macrólidos, tetraciclina y rifampicina y menos sensible a cefalosporinas de primera generación y penicilinas resistentes a penicilinas (Margileth, 1992).

3.4.3. Prevención

Dentro de las medidas de prevención, sin duda, lo de mayor importancia es mantener a estos animales libres de pulgas; para ello existen en el mercado una gran cantidad de productos antipulgas de distintas marcas, precio y efectividad.

También es importante tener un trato amigable con el gato y no provocarlo para que éste ataque. En otros países es común dentro de la práctica veterinaria sacarles las garras a estos felinos para impedir los rasguños. Además, medidas tan simples como lavarse las manos después de cada vez que haya tenido contacto con el gato son sumamente efectivas para la prevención tanto de ésta como muchas otras enfermedades transmisibles a los humanos (Booras, 1999).

Si se ha sido víctima de una mordedura o rasguño de estos animales, es necesario limpiar muy bien la herida, lavarla con abundante agua y aplicar un producto desinfectante. Por ningún motivo permitir que el gato lama sus heridas (Booras, 1999),

3.4.4. Situación Nacional

Desde que EAG fue descrita en 1950, ésta ha tenido un rápido incremento en el número de casos en el mundo entero. En Estados Unidos se reportan más de 2000 hospitalizaciones y alrededor de 24.000 casos diagnosticados en total cada año (Jackson y col., 1993), con una incidencia de 9.3 casos por 100.000 habitantes (Bass y col,1998; Maurin y Raoult,1998). El 80% de los afectados son niños con edades entre los 2 y 14 años (Zangwill y col,1993).

El primer diagnóstico en Chile de EAG, fue en Noviembre de 1994 y dos años más tarde se publicaron los 10 primeros casos (Abarca, 1996). Hasta ahora, en Santiago, se han diagnosticado más de 200 casos (Abarca, 2000 *). En Valdivia, Navarrete y col.(1999), comunicaron los primeros casos de EAG.

*Comunicación personal.

Teniendo en consideración los antecedentes analizados y la escasa información nacional existente, este trabajo tuvo como objetivo:

- 1.- Detectar *Bartonella henselae* mediante técnicas serológicas y determinar su prevalencia en la población felina que concurre al Hospital Veterinario de la Universidad Austral de Chile y otras clínicas privadas de la ciudad de Valdivia.
- 2.- Determinar la presencia de anticuerpos en los grupos familiares a los cuales pertenecen los gatos seropositivos a *Bartonella henselae*.

4. MATERIAL Y METODO

4.1. MATERIAL

4.1.1. Animales:

Se obtuvieron muestras de sangre de 76 gatos, mestizos y de raza , de ambos sexos, de tres meses a nueve años de edad, sanos y enfermos de la ciudad de Valdivia, principalmente de la casuística del Hospital Veterinario de la Universidad Austral de Chile, Clínicas veterinarias privadas y de personas que voluntariamente cooperaron con la investigación. Las muestras fueron obtenidas entre Abril y Septiembre de 1999.

El número muestral calculado fue de 59 gatos para detectar al menos un individuo positivo a *Bartonella henselae* con un 95% de confianza (Thrusfield, 1995).

4.1.2. Material de diagnóstico:

Se utilizó el kit de diagnóstico de Inmunofluorescencia Indirecta anti Ig G de *Bartonella henselae* para gatos y otro kit para humanos de Laboratorios Fuller (U.S.A.).

El kit incluye:

- Portaobjetos: contiene células Vero infectadas con *Bartonella henselae*.
- Control positivo: contiene una dilución de 1:64 de un pool de sueros humanos liofilizados con timerozal como preservativo. La dilución final de trabajo fue de 1:512.
- Control negativo: pool de sueros humanos con una dilución de 1:64.
- Conjugado: contiene suero de cabra (con fluoresceína) anti Ig G humano o Ig G de gato liofilizado con azul de Evans y preservado con timerozal.
- Líquido de montaje: con glicerol 50% en buffer fosfato salino a pH 7,2 con timerozal al 0,05%.
- Buffer Fosfato Salino (PBS): en sobres para un litro: contiene polvo para preparar un litro de PBS.

4.1.3. Humanos:

Se colectaron muestras de sangre de 22 personas, dueños de gatos que presentaron reacción positiva a *Bartonella henselae*.

4.1.4. Material Adicional:

- Jeringas estériles
- Tubos Eppendorf
- Algodón
- Alcohol
- Bozal
- Pipetas
- Placas Elisa
- Guantes de examen

4.2. MÉTODO

4.2.1. Toma de Muestras:

a) Gatos: Mediante anamnesis y examen clínico se recopilaron datos como la edad, sexo, raza, procedencia, actividad (dentro o fuera de la casa) y si presentaban infestación por pulgas. También se obtuvo información acerca de las direcciones y teléfonos de los dueños para contactarlos posteriormente.

Las muestras de sangre, obtenidas mediante punción de la vena cefálica, safena o yugular, se llevaron al Laboratorio Clínico del Hospital Veterinario de la Universidad Austral de Chile donde se obtuvo suero de cada una de ellas, el que fue almacenado en tubos Eppendorf o microtubos a -20°C , hasta el momento del análisis.

b) Humanos: Se obtuvieron muestras de sangre de los propietarios de gatos que resultaron positivos a *Bartonella henselae*. La sangre obtenida por punción de la vena cefálica, se llevó al Instituto de Microbiología Clínica en la Facultad de Medicina de la Universidad Austral de Chile, donde se almacenó el suero proveniente de cada una de ellas en microtubos a -20°C hasta el momento del análisis.

4.2.2. Análisis de las Muestras:

Previo al análisis, todas las muestras y los reactivos a utilizar se estabilizaron a temperatura ambiente por espacio de una hora. Se preparó una dilución del suero a estudiar de 1:64, mezclando 5 μl de suero con 315 μl de PBS (para el primer pocillo de la placa de

Elisa). Se tomó 50 μ l. de la primera dilución y se puso en el siguiente pocilio con 50 μ l. de PBS, quedando así una dilución de 1:128 y así sucesivamente, hasta llegar a la dilución de 1:512. En cada "pocilio slide" se colocó 10 μ l. de cada muestra de la primera y tercera dilución (1:64 y 1:256 respectivamente), por cada ensayo se incluyó una dilución del control positivo y negativo y se incubó por 30 minutos en cámara húmeda a 37°C. A continuación se lavó con PBS a pH 7,6 por tres veces en rotador, 5 minutos cada lavado, el último se hizo con agua destilada. A cada pocilio slide se agregó 10 μ l. del conjugado y se incubó nuevamente 30 minutos a 37°C en cámara húmeda. Se volvió a lavar con PBS a pH 7,6 por tres veces en rotador durante 5 minutos; el último lavado se realizó con agua destilada. Se secaron cuidadosamente con toalla de papel y se agregó dos a tres gotas de medio de montaje y un cubreobjeto. Seguidamente se observó a 400X en microscopio de inmunofluorescencia.

4.2.3. Interpretación de los resultados:

Para determinar el resultado de la prueba se observó en un microscopio de inmunofluorescencia a 400 aumentos, bacilos pleomórficos en el citoplasma de las células Vero con fluorescencia intensa de color verde limón.

4.2.4. Descripción y análisis de los resultados:

Los resultados se presentan en tablas y gráficos. En la comparación de las prevalencias serológicas se utilizó la prueba de chi cuadrado.

5. RESULTADOS

De un total de 76 gatos muestreados, 54 (71%) resultaron positivos a *Bartonella henselae* por EFI (Gráfico 1).

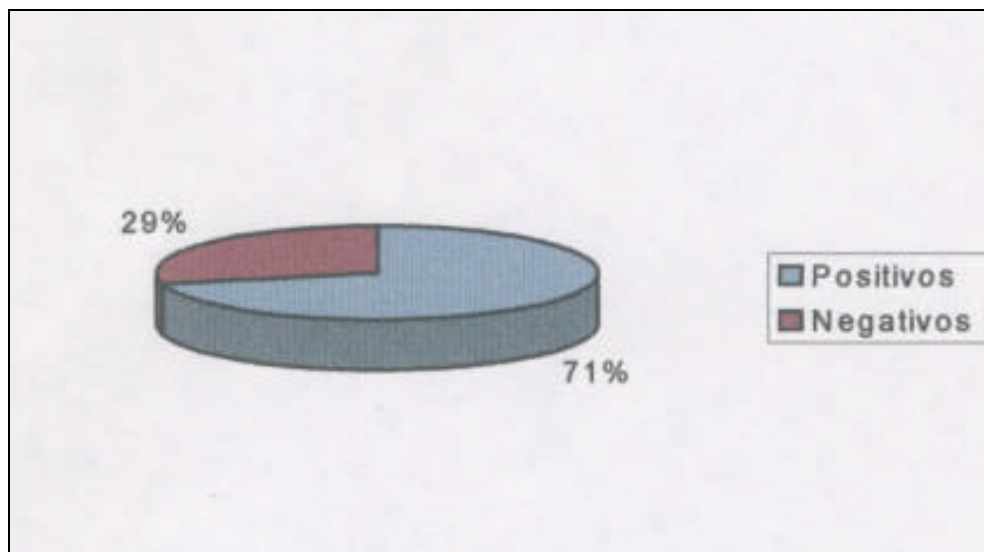


Gráfico 1: Proporción de gatos seropositivos y seronegativos a *Bartonella henselae*; Valdivia, 1999.

* La tabla de datos para los gráficos 1,2,3,4 y 5 se encuentra en el Anexo 1.

5.1. SEROPREVALENCIA SEGÚN SEXO:

De los gatos estudiados, 38 (50%) fueron machos y 38 (50%), hembras. En 26 (68.4%) de los machos, se detectó la presencia de anticuerpos contra *Bartonella henselae*, en cambio en las hembras se encontraron 28 (73.7%) positivas a la reacción (Gráfico 2).

No se encontraron diferencias significativas ($\chi^2=0.06$, $p=0.8003231$) entre la proporción de gatos positivos según sexo.

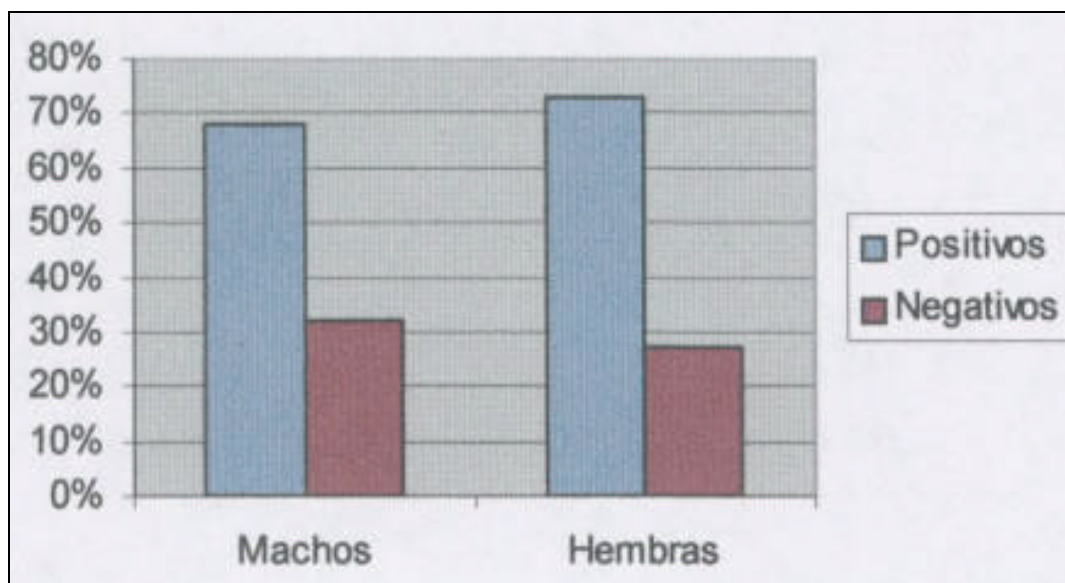


Gráfico 2. Proporción de gatos seropositivos y seronegativos a *Bartonella henselae* según sexo; Valdivia, 1999.

5.2. SEROPREVALENCIA SEGÚN EDAD:

Diez (13%) gatos fueron menores de un año de edad, resultando 5 (50%) de ellos positivos a *Bartonella henselae*. El grupo igual o mayor de un año y menor de tres años constó de 34 (44,7%) gatos, de los cuales 24 (70,5%) evidenciaron serológicamente al microorganismo. Los animales de tres o más años y menores de seis fueron 25 (32,8%), observándose en 20 (80%) de ellos anticuerpos contra *Bartonella henselae*. En los siete animales restantes (9,2%) mayores de seis años, 5 (71,4%) resultaron positivos a la reacción (Gráfico 3). Al comparar la proporción de gatos positivos menores y mayores de un año de edad, se determinó que esta diferencia no era significativa ($x=1.44$, $p=0.229705$).

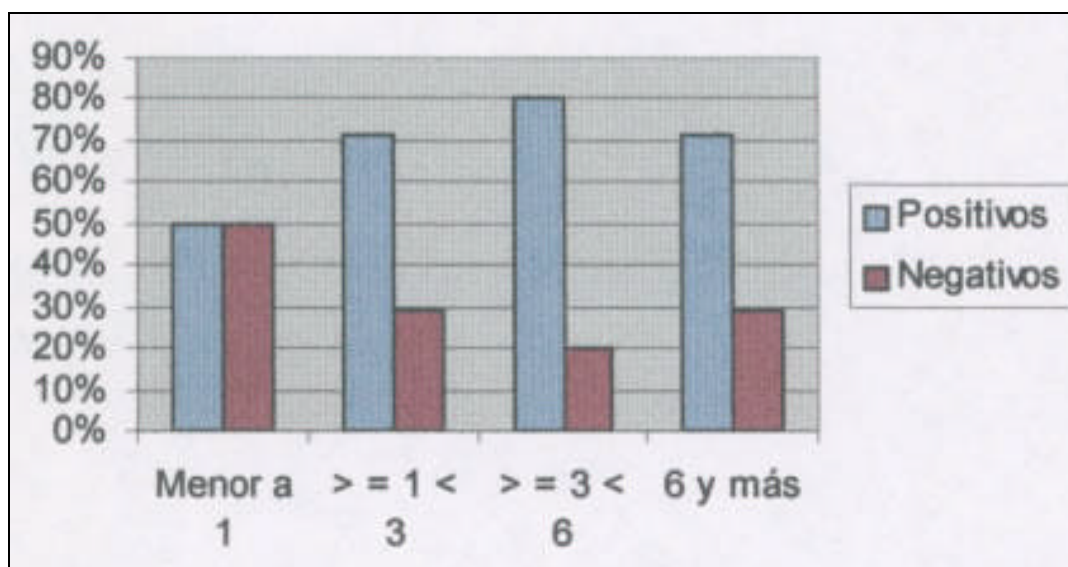


Gráfico 3. Proporción de gatos seropositivos y seronegativos a *Bartonella henselae* según edad; Valdivia, 1999.

5.3. SEROPREVALENCIA SEGÚN ACTIVIDAD:

Se determinó que 42 (58,3%) gatos pasaban la mayoría del tiempo dentro de la casa y los 34 restantes (44,7%) permanecían fuera de ella. De aquellos animales que se encontraban la mayor parte dentro de casa, en 29 (69%) se detectó anticuerpos contra *Bartonella henselae*; los 13 (31%) restantes fueron negativos. De los gatos que pasaban la mayoría del día fuera de la casa, 25 (73.5%) resultaron positivo y 9 (26.5%) negativos (Gráfico 4). No se encontró diferencias significativas en la proporción de gatos positivos que se encontraban dentro y fuera de la casa ($\chi = 0.03$, $p = 0.8618470$).

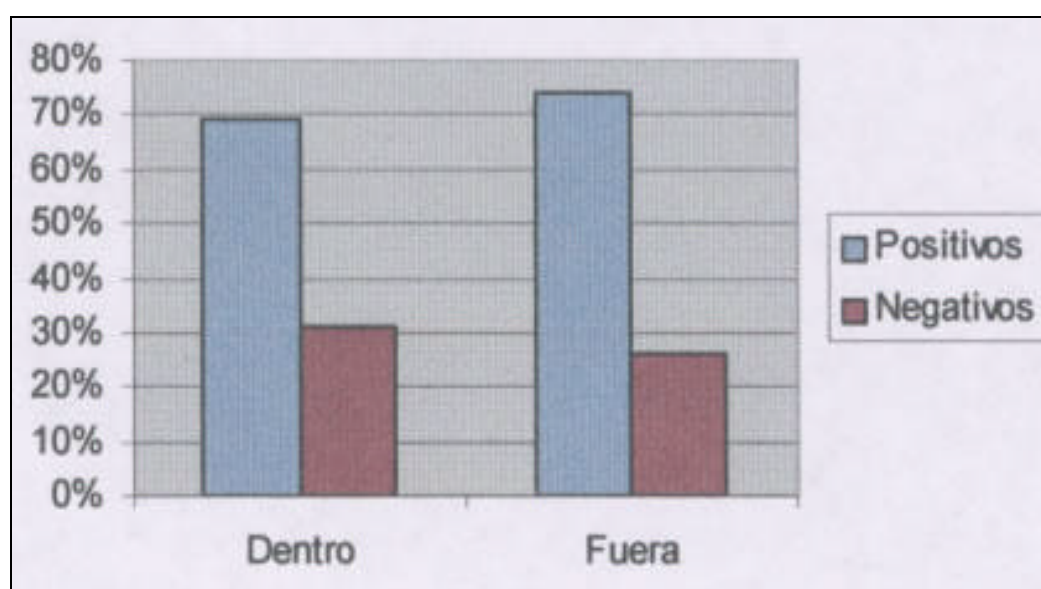


Gráfico 4. Proporción de gatos seropositivos y seronegativos a *Bartonella henselae* según actividad; Valdivia, 1999.

5.4. SEROPREVALENCIA SEGÚN PRESENCIA DE PULGAS:

Se determinó que 67 (88%) de los animales presentaban pulgas, en tanto que en los 9 (12%) restantes no se encontraron. Del total de animales infestados por pulgas, 50 (75%) resultaron positivos a la reacción, mientras que los 17 (25%) restantes fueron negativos. En aquellos animales que al examen clínico no presentaron pulgas, en 4 (44%) de ellos se detectó anticuerpos contra *Bartonella henselae* (Gráfico 5).

No se encontró diferencias significativas entre la proporción de gatos positivos según presencia de pulgas ($x = 2.20$, $p = 0.138019$).

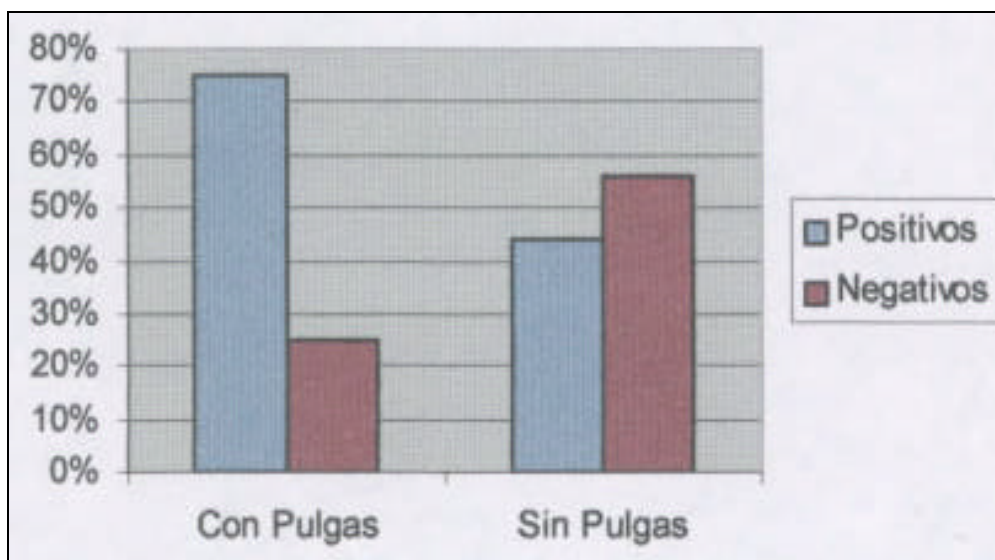


Gráfico 5. Proporción de gatos seropositivos y seronegativos a *Bartonella henselae* según presencia de pulgas; Valdivia, 1999.

5.5 SEROPREVALENCIA DE HUMANOS EN CONTACTO CON GATOS:

De 22 personas estudiadas, dueñas de gatos con anticuerpos contra *B. henselae*, 9 eran de sexo masculino y 13 femenino, sus edades fluctuaron entre los 1,8 años hasta los 84 años, con un promedio de 39 años. Veinte (90,9%) personas mantenían a sus mascotas dentro de sus casas y 11 (50%) dormían con ellos. Todos estos individuos tenían contacto estrecho con sus gatos y existían antecedentes de rasguños o mordeduras de parte de ellos, pero ninguno había presentado síntomas derivados de estos incidentes como inflamación local, adenopatías o fiebre. Los niveles socioeconómicos de estas personas eran muy variados, al igual que las condiciones de higiene de sus hogares.

En 4 (18%) personas se encontró anticuerpos contra *B. henselae*, dos ellas de sexo masculino de 74 y 66 años y dos mujeres de 32 y 22 años de edad.

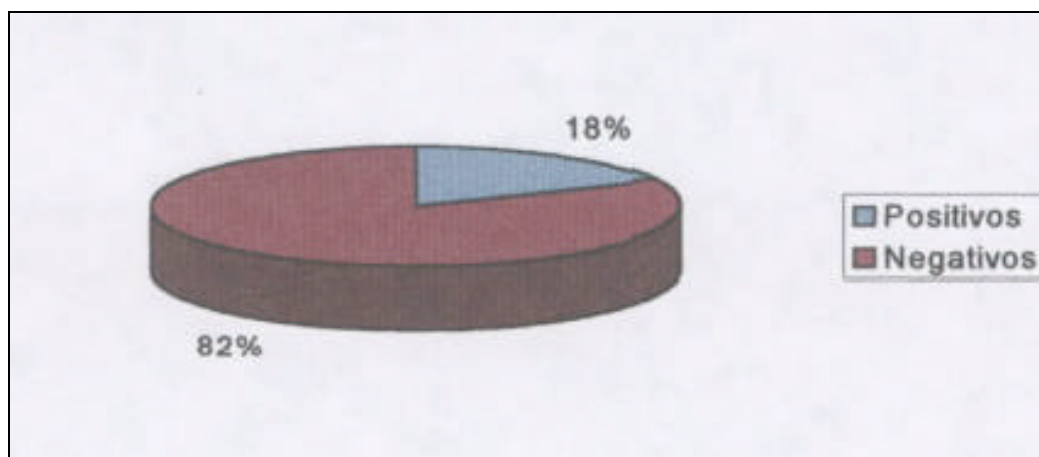


Gráfico 6. Proporción de seres humanos seropositivos y seronegativos a *Bartonella henselae*; Valdivia, 1999.

* La tabla de datos para el gráfico 6 se encuentra en el Anexo 2.

6. DISCUSION

Bartonella henselae ha sido recientemente reconocida como causante de la enfermedad por arañazo de gato y angiomasosis bacilar y su espectro clínico se está aún expandiendo. Los gatos son hasta ahora el único reservorio conocido de *B. henselae* (Koehler y col, 1994). Diversos investigadores han informado de una alta seroprevalencia y de una bacteremia asintomática por *B. henselae* entre poblaciones de gatos naturalmente infectados (Zangwill y col.,1993; Koehler y col.,1994; Breitschwerdt y Kordick,1995; Childs y col., 1995; Chomel y col, 1995; Jameson y col.,1995; Kordick y col.,1995; Ueno y col.,1995; von Allerberger y col.,1995).

En el presente estudio se determinó la seroprevalencia de reaccionantes a *Bartonella henselae* en gatos de la ciudad de Valdivia, encontrándose anticuerpos en el 71% de ellos.

El porcentaje de seropositivos de este estudio es visiblemente mayor al observado en otros continentes; por ejemplo, en Europa, Bergmans y col. en 1996 encontraron una seroprevalencia de 50% en gatos en Holanda; a su vez von Allerberger y col.(1995) informaron de 33% de seropositivos en Austria. En Francia se encontró *B. henselae* en un 11% de los gatos (Clarridge y col.,1995; Lawson y Collins,1996). En Japón, Ueno y col. (1995), describen una seroprevalencia de 15,1% en gatos domésticos reaccionantes al microorganismo , mientras que en Norteamérica, Koehler y col.(1994) comunicaron una prevalencia de 41% en gatos del área de la bahía de San Francisco.

Las bajas seroprevalencias encontradas en otros países puede explicarse por el promedio de temperatura y humedad que hay en esos lugares que no serían los más apropiados para el desarrollo y multiplicación del vector. En cambio, si se compara el resultado de este estudio con el 81% encontrado por Chomel y col. (1995) en gatos de California, se observa que éste es ligeramente menor. Esto puede ser explicado por el hecho de que de los 205 gatos que ellos muestrearon, 44 estaban altamente infestados por pulgas y todos pertenecían al mismo dueño. Todos estos gatos tenían anticuerpos contra *Bartonella henselae*. Si el resultado de estos 44 gatos fuera omitido, se obtendría una seroprevalencia de 76% la que estaría más cercana a la determinada en el presente trabajo. Esto indicaría que tanto en California como en Valdivia se encuentran las condiciones necesarias para la permanencia y multiplicación del vector en el medio. Si se compara con otras ciudades dentro de Chile se puede ver que la seroprevalencia encontrada en Valdivia es muy similar a la de la ciudad de Coquimbo la cual fue de 79,2% y es bastante menor si se compara con los gatos muestreados en la región Metropolitana que fue de 96%, en que la mayoría de los gatos eran vagabundos (87%) y el 80% de ellos presentaba gran cantidad de pulgas (Ferres y col, 2000 *).

*Comunicación personal.

En este estudio se detectó una mayor proporción de hembras seropositivas (73.7%) en relación a machos (68,5%); esta leve diferencia existente difiere de lo encontrado por Bergmans y col.(1996) en Holanda que arrojó un porcentaje de seropositividad levemente mayor en machos (55%) sobre las hembras (47%). Al parecer estos autores son los únicos que hacen esta diferenciación.

La alta seropositividad encontrada en gatos adultos (mayores de un año) que varía desde un 71% a un 80%, en comparación con el 50% de reaccionantes encontrados en gatos menores de un año de edad, concuerda con lo informado por Bergmans y col (1996) en gatos de Holanda que fue de 40% para gatos menores de un año y entre 50 a 58% de seropositivos para gatos mayores de un año; sin embargo contrasta con lo reportado por Chomel y col.(1995) en California, quien señala un porcentaje de 90,7% de animales seropositivos dentro del grupo de menores de un año y un promedio de 76% para gatos adultos .

En Chile, en la región Metropolitana un reciente estudio informa que la mayoría de los gatos seropositivos (74%) correspondió a animales mayores de un año de edad. No se encontraron diferencias significativas entre gatos mayores y menores de un año, aunque se destaca que el número de los felinos menores de un año fue bajo (Ferres y col 2000 *). Esto también concuerda con lo encontrado en Coquimbo en que un 75% de los gatos reaccionantes eran mayores de un año de edad (Ferres y col 2000 *).

En este estudio no se encontraron diferencias significativas entre el grupo de animales mayores y menores de un año de edad, pero hay que señalar, que el número de gatos muestreados para la categoría de menores de un año fue bajo, lo cual determinó que no se alcanzara una diferencia estadística significativa.

Dentro de los animales muestreados en este estudio el porcentaje más alto de seropositivos se encontró en el grupo de gatos que tenían 3 o más años y menos de 6 (80%).

Los animales en estudio se dividieron en dos grupos; aquellos que pasaban la mayor parte del día dentro de casa (gatos domésticos) y los que lo pasaban fuera de ella (gatos callejeros). Se determinó que el 69% de los gatos domésticos y el 74% de los callejeros eran seropositivos. No se encontraron diferencias significativas dentro de los grupos de seropositivos para esta condición. Estos porcentajes de seropositividad fueron mayores a los encontrados por Bergmans y col. en 1996 en Holanda que fue de un 50% de seropositivos para gatos callejeros y de un 56% para gatos domésticos. Esta diferencia podría ser explicada por el hecho de que en Holanda el promedio de temperatura diaria es baja comparada con la que se tiene en Valdivia, sobre todo en los meses de verano, y por el mejor cuidado que en los países desarrollados se les brinda a estos animales.

Los porcentajes de gatos seropositivos encontrados tanto en Valdivia como en Holanda indican que gatos domésticos y callejeros tienen el mismo riesgo de infectarse con *B. henselae*. Esto difiere de lo encontrado por Chomel y col. en 1995 en California donde un 92% de los gatos callejeros fueron seropositivos, mientras que sólo un 71,4% de los gatos domésticos dieron positivo a la reacción, lo que determinó una diferencia estadística significativa y por lo tanto un riesgo asociado a esta condición.

*Comunicación personal.

En el estudio realizado en la región Metropolitana por Ferres y col.(2000 *), se encontró que la gran mayoría de los gatos muestreados eran callejeros (87%), mientras que en Coquimbo todos los gatos eran domésticos y en un tercio de ellos se consignó que salen de sus casas a tejados vecinos. Estos investigadores no encontraron diferencias significativas en la condición de seropositivos entre gatos domésticos y callejeros.

El alto porcentaje de gatos seropositivos habla más a favor de la presentación de esta bacteria como parte de la biota del animal que de una infección.

La pulga del gato, *Ctenocephalides felis*, parece jugar un rol preponderante en la transmisión de *B. henselae* de un gato a otro y posiblemente del gato al hombre (Jameson y col.,1995; Chomel y col,1996). Se ha demostrado que las pulgas provenientes de gatos bacterémicos tienen cultivos positivos para *Bartonella henselae* (Koehler y col., 1994).

Se determinó que un alto porcentaje de animales presentaba pulgas (88%) y de éstos el 75% dio positivo a la reacción. En aquellos animales que al momento de hacer el examen clínico no se encontraron pulgas, en 4 (44%) de ellos se detectó anticuerpos contra *Bartonella henselae*. Esto difiere de lo encontrado por Bergmans en Holanda en 1996, con un 53% de seropositivos en gatos sin pulgas y 41% en gatos con pulgas.

El alto porcentaje de seropositivos en gatos sin pulgas puede deberse a que muchos de ellos fueron tratados con algún producto antipulgas poco tiempo antes de la toma de muestras.

De las 22 personas que fueron muestreadas, dueños de gatos positivos a *B. henselae*, en 4 de ellos (18%) se detectaron anticuerpos contra la bacteria. Esto concuerda con lo encontrado en Alemania por Rath y col. en 1997 que fue de 20% de seropositivos para el grupo en estudio y de 19% para el grupo control. En Suiza, Nadal y Zbinden (1995) encontraron una seroprevalencia de 12%. Al comparar los resultados encontrados en Estados Unidos en estudios diferentes realizados por Zangwill y col, 1993 y Regnery y col., 1992 b, se informó de 3-4% de seroprevalencia dentro de grupos de individuos sanos, la cual es relativamente baja a la encontrada en Alemania, Suiza y en el presente estudio. Esto podría explicarse por el hecho de que en Estados Unidos y Suiza se tomaron muestras de sangre a grupos de individuos sanos no importando su contacto con gatos, en cambio en los estudios realizados en Alemania y en Valdivia, las muestras fueron colectadas de dueños de gatos que mantenían estrecho contacto con ellos. Además hay que destacar que en este estudio los individuos muestreados eran dueños de gatos positivos a *B. henselae*.

*Comunicación personal.

6.1. CONCLUSIONES

En el presente trabajo se demuestra la presencia de reaccionantes positivos a la prueba de Inmunofluorescencia Indirecta que detecta anticuerpos contra *Bartonella henselae* en gatos y sus propietarios en la ciudad de Valdivia.

La prevalencia de la enfermedad en la población felina de la ciudad de Valdivia concurrente a clínicas veterinarias fue de 71%. A su vez la prevalencia de seroreaccionantes entre los propietarios de los gatos seropositivos fue de 18%.

7. BIBLIOGRAFIA

- ABARCA, K. 1996. Enfermedad por arañazo de gato. *Rev. Chil Infect.* 13(2): 78 - 80.
- AMAREIN, M. P., D. DE BREIL; B. JAULHAE; P. MEYER; H. MONTIEL and Y. PIEMONT. 1996. Diagnostic value of the indirect immunofluorescence assay in cat scratch disease with *Bartonella henselae* and *Afipia felis* antigens. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 3: 200-204.
- ANDERSON, B., K. SIMS., R. REGNER., L. ROBINSON., M. J. SCHMIDT., S. GORAL., C. HAGER and K. EDWARDS. 1994. Detections of *Rochalimaea henselae* DNA in specimens from cat scratch disease patients by PCR. *Clin. Microbiol.* 32: 942 - 948.
- ANDERSON, B. and K. EDWARDS. 1995. Cat scratch disease: A mystery solved? *Contemp. Pediatr.* 12: 17-32.
- ANDERSON, B. E. and M. A. NEUMAN. 1997. *Bartonella* spp. as emerging human pathogens. *Clinical Microbiology Reviews.* 10: 203 -219.
- AVILA, M., C. AVILA and C. ODIO. 1995. Enfermedad por arañazo de Gato. *Acta Pediátrica de Costa Rica.* 9(3): 114-116.
- BASS, J. W., J. M. VINCENT and D. A. PERSON. 1997. The expanding spectrum of *Bartonella* infections. II. Cat scratch disease. *Pediatr. Infect. Dis.* 16: 163 - 179.
- BASS, J. W., B. C. FREITAS and C. L. SISLER. 1998. Prospective randomized double blind placebo-controlled evaluation of azithromycin for treatment of cat scratch disease. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 17(16): 447 - 452.
- BENSON, L. A., G. McLAUGHLIN and G. M. IHLER. 1986. Entry of *Bartonella* into erythrocytes. *Infection and Immunity.* 54: 347 - 353.
- BERGMANS, A. M. C., J. W. GROOTHEDDE., J. F. P. SCHELLEKENS., J. D. A. VAN EMDEN., J. M. OSSEWAARDE and L. M. SCHOULS. 1995. Etiology of cat scratch disease: comparison of polymerase chain reaction detection of *Bartonella* (formerly *Rochalimaea*) and *Afipia felis* DNA with serology and skin test. *J. Infect. Dis.* 171:916-923.
- BERGMANS, A. M. C., J. F. P. SCHELLEKENS., J. D. A. VAN EMBOEN and L. M. SCHOULS. 1996. Predominance of two *Bartonella henselae* variants among cat scratch disease patients in The Netherlands. *J. Clin. Microbiol.* 34: 254 - 260.

- BIRTLES, R. J., T. G. HARRISON., N. A. SAUNDERS and D. H. MOLYNEUX. 1995. Proposals to unify the genera *Grahamella* and *Bartonella*, with descriptions of *Bartonella talpae* comb. nov., *Bartonella peromicy* comb. nov., and three new species, *Bartonella grahamii* sp. nov., *Bartonaella taylorii* sp. nov., and *Bartonella doshiae* sp. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 45: 1-8.
- BIRTLES, R. J., E. FICHET - CALVET., D. RAOULT and R. W. ASHFORD. 1997. Detection and genotypic differentiation of *Bartonella* species infecting a Tunisian *Psammomys obesus* population. 13th Sesqui-annual meeting of the American Society of Rickettsiology. Sep 21-24., Seven Springs Mountain Resort, Champion, Pennsylvania. [Abstrae 34]
- BOGUE, C. W., J. D. WISE., G. F. GRAY and K. M. EDWARD. 1989. Antibiotic therapy for cat scratch diseasev. *JAMA* 262: 813-816.
- BOORAS, C. H. 1997. Cat scratch disease. [http:// www. Jaxmea. Com/cat scratch. Htm](http://www.Jaxmea.Com/cat%20scratch.Htm).
- BOORAS, C. H.1999. Cat scratch disease. [http:// www. Jaxmea. Com/cat scratch. Htm](http://www.Jaxmea.Com/cat%20scratch.Htm).
- BREITSCHWERDT, E. B., and D. L. KORDICK. 1995. Bartonellosis. *J. Am. Vet. Med Assoc.*206: 1928-1931.
- BRENNER, D. J., D. G. HOLLIS., C. W. MOSS., C. K ENGLISH., G. S. HALL. 1991. Proposal of *Afipia* gen. nov. with *Afipia felis* sp. nov. (formely the cat- scratch disease bacillus), *Afipia clevelandensis* sp. nov. formely the Cleveland clinic foundation strain), *Afipia broomeae* sp. nov., and three unnamed genospecies. *J. Clin. Microbiol.* 29: 2450 - 2460.
- BRENNER, D. J., S. P. O' CONNOR., D. G. HOLLIS., R. E. WEAVER and A. G. STEIGERWALT. 1991. Molecular characterization and proposal of a neotype strain for *Bartonella bacilliformis*. *J. Clin. Microbiol.* 29: 1299 - 1302.
- BRENNER, D. J., S. P. O' CONNOR., H. H. WINKLER and A. G. STEIGERWALT., 1993. Proposals to unify the genera *Bartonella* and *Rochalimae*, with descriptions of *Bartonella quintana* comb. nov., *Bartonella vinsonii* comb. nov., and to remove the family *Bartonallaceae* from the order *Rickettsiales*. *Int. J. Syst. Bacteriol* 43: 777 - 786.
- CARITHERS, H. A. 1985. Cat scratch disease. An overview based on a study of 1200 patients. *Am. J. Dis. Child.* 139: 1124 - 1133.
- CHANG, CH., B. CHOMEL., R. KASTEN and R. HELLER. 2000. *Bartonella* spp. Isolated from Wild and Domestic in North America. *Emerging. Infect. Dis.* 6(3): 306 — 311.
- CHILDS, J. E., J. A. ROONEY., J. L. COOPER., J. G. OLSON and L. R. REGNERY. 1994. Epidemiologic observations on infection with *Rochalimaea* species among cats living in Baltimore. *Journal of the American Veterinary Medical Association.* 11: 1775- 1778.

- CHILDS, J. E., J. G. OLSON., A WOLF., N. COHEN., Y. FAKILE., J. A. ROONEY., F. BACELLAR and L. R. REGNERY. 1995. Prevalence of antibodies to *Rochalimaea species* (cat scratch disease agent) in cats. *Vet. Rec.* 20: 519 - 520.
- CHOMEL, B. B., R. C. ABBOTT., R. W. KASTEN., K. A. FLOYD-HAWKINS., P. H. KASS., C. A. GLASER., N. C. PEDERSEN and J. E. KOEHLER. 1995. *Bartonella henselae* prevalence in domestic cats in California: Risk factors and association between bacteremia and antibody titers. *J. Clin. Microbiol.* 33: 2445 - 2450.
- CHOMEL, B. B.; R. W. KASTEN and K. FLOYD-HAWKINS. 1996. Experimental transmission of *Bartonella henselae* by cat flea. *J. Clin. Microbiol.* 34: 1952 - 1956.
- CHOMEL, B. B., R. W. KASTEN., C. C. CHANG., K. YAMAMOTO., R. HELLER and S. MARUYAMA. 1998. Isolation of *Bartonella* spp. from California wildlife. International Conference on Emerging Infectious Diseases. Mam 8-11, Atlanta. Georgia. U.S.A. p. 21.10.
- CLARRIDGE, J. E., T. J. RAICH., D. PERWANL, B. SIMON and L. TSAI. 1995. Strategy to detect and identify *Bartonella* species in routine clinical laboratory yields *Bartonella henselae* from human immunodeficiency virus positive patient and unique *Bartonella* strain from his cat. *J. Clin. Microbiol.* 33: 2107 - 2113.
- DALY, J. S., M.G. WORTHINGTON., D. J. BRENNER., C. W. MOSS., D. G. HOLLIS., R. S. WEYANT., A. G. STEIGERWALT., R. E WEAVER., M. I. DANESHVAR and C. P. O' CONNOR. 1993. *Rochalimaea elizabethae* sp. nov. isolated from patient with endocarditis. *J. Clin. Microbiol.* 31: 872 - 881.
- DEBRÉ, R., M. LAMY., M. L. JAMMET., L. COSTIL and P. MOZZISONACCI. 1950. La maladie des griffes de chat. *Bull. Mem. Soc. Med. Hop. Paris.* 66: 76 - 79.
- DEHIO, C., M. MEYER., J. BERGER., H. SCHWARZ and C. LANZ. 1997. Interaction of *Bartonella henselae* with endothelial cells result in bacterial aggregation on the cell surface and the subsequent engulfment and internalisation of the bacterial aggregate by a unique structure, the invasome. *J. Cell. Sci.* 110: 2141 - 2154.
- DOLAN, M. J., M. T. WONG., R. L. REGNERY., J. H. JORGENSEN., M. GARCÍA., J. PETERS and D. DREHNER. 1993. Síndrome of *Rochalimaea henselae* adenitis suggesting cat - scratch disease . *Ann. Intern. Med.* 118:331-336.
- ELLIS, B. A., L. R. REGNERY., L. BEATL, F. BACELLAR., M. ROOD and G. G. GLASS. 1999. Rats of the genus *Rattus* are reservoir host for pathogenic *Bartonella* species: an Old World origin for a New World disease? *J. Infect. Dis.* 180: 220 - 224.
- EMMONS, R. W., L. RIGGS and J. SHACHTER. 1976. Contuning the search for the etiology of cat scratch disease. *J. Clin. Microbiol.* 4: 112-114.

- ENGLISH, C. K., D. J. WEAR., A. M. MARGILETH., C. R. LISSNER and G. P. WALSH. 1988. Cat scratch disease: isolation and culture of the bacterial agent. *JAMA* 259: 1347 - 1352.
- GERBER, M. A., J. MAC ALISTER., M. BALLOW., A. K. SEDGWISK., K. B. GUSTAFSON and R. C. TILTON. 1985. The etiology agent of cat scratch disease. *Lancet* 1: 1236-1239.
- HADFIELD, T. L., R. WARREN., M. KASS., E. BRUN and C. LEVY. 1993. Endocarditis caused by *Rochalimaea henselae*. *Hum. Pathol.* 24: 1140 - 1141.
- HELLER, R., M. KUBINA., G. DELACOUR., I. MAHOUDEAU., F. LAMARQUE and M. ARTOIS. 1997. Prevalence of *Bartonella* spp. in blood of wild small rodents. Abstracts of the General Meeting of the American Society for Microbiology 97: 115.
- HELLER, R., M. KUBINA., G. DELACOUR., F. LAMARQUE., G. VAN LABRE and R. KASTEN. 1998. Isolation of *Bartonella* spp. from wildlife in France. International Conference on Emerging Infectious Diseases. March 8-11, Atlanta, Georgia. U.S.A. p21.18
- HELLER, R, M. KUBINA., P. MARIET., P. RIEGEL., G. DELACOUR., C. DEHIO., F. LAMARQUE., R. KASTEN., H. J. BOULOUIS and H. MONTEIL. 1999. *Bartonella alsatica* sp. nov., a new *Bartonella* species isolated from the blood of wild rabbits. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 49: 283 - 288.
- HOFMEISTER, E. K., C. P. KOLBERT., A. S. ABDULKARIM, J. M. H. MAGERA., M. K. HOPKINS., J. R. UHL, A. AMBYAYE., S. R. TELFORD., F. R. COCKERILL and D. H. PERSING. 1998. Cosegregation of a novel *Bartonella* species with *Borrelia burgdorferi* and *Babesia microti* in *Peromyscus leucopus*. *J. Infect. Dis.* 177: 409 - 416.
- HOLMES, A., T. GREENOUGH., G. BALADY., R. REGNERY., B. ANDERSON., J. C. O' KEANE., J. FONGER and E. Mc CRONE. 1995. *Bartonella henselae* endocarditis in an immunocompetent adult. *Clin. Infect. Dis.* 21: 1004 - 1007.
- JACKSON, L. A., B. A. PERKINS and J. D. WENGER. 1993. Cat scratch disease in the United States: an analysis of three national databases. *Am. J. Public Health.* 83: 1707 - 1711.
- JAMESON, P; C. GREEN and R. REGNERY. 1995. Prevalence of *Bartonella henselae* antibodies in pet cats throughout regions of North America. *J. Infect Dis.* 172: 1145 - 1149.
- KALTER, S. S., C. S. KIM and R. L. HEBERLING. 1969. Herpes-like particles associated with cat scratch disease. *Nature.* 224: 190
- KELLY, P. J., J. J. A. ROONEY., E. L. MARSTON., D. C. JONES and L. R. REGNERY. 1998. *Bartonella henselae* isolated from cats in Zimbabwe. *Lancet* 351: 1706.

- KIRKPATRICK, C. E and H. E. WHITELEY. 1987. Argyrophilic, intracellular bacteria in the lymph node of a cat: cat scratch disease bacillary?. *Journal of Infectious Diseases*. 156: 690-691.
- KIRKPATRICK, C. E and L. T. GLICKMAN. 1989. Cat scratch disease and the role of the domestic cat: vector, reservoir and victim? *Medical Hypotheses*. 28: 145 - 149.
- KOEHLER, J. E. and J. TAPPERO. 1993. AIDS Commentary: bacillary angiomatosis and bacillary peliosis in patients infected with human immunodeficiency virus. *Clin. Infect. Dis.* 17:612-624.
- KOEHLER J. E; C. A. GLASER and J. W. TAPPERO. 1994. *Rochalimaea henselae* infection: A new zoonosis with the domestic cat as reservoir. *JAMA* 271: 531 - 535.
- KOEHLER, J. E. 1995. *Bartonella*- Associated Infections in HIV-Infected Patients. *AIDS Clinical Care*. 7: 1-6.
- KORDICK, D. L., K. H. WILSON, D. J. SEXTON., T. L. HADFIELD., H. A. BERKHOFF and E. B. BREITSCHWERDT. 1995. Prolonged *Bartonella* bacteremia in cats associated with cat scratch disease patients. *J. Clin. Microbiol.* 33: 3245 - 3251.
- KORDICK, D. L., B. SWAMNATHAN., C. E. GREENE., K. H. WILSON., A. M. WHITNEY and S. O'CONNOR. 1996. *Bartonella vinsonii* subsp. *Berkhoffii* subsp. nov., isolated from dogs; *Bartonella vinsonii* subsp. *vinsonii*, and emended description of *Bartonella vinsonii*. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 46: 704 - 709.
- KOSOY, M. Y., L. R. REGNERY., T. TZIANABOS., E. L. MARSTON., D. C. JONES and D. GREEN. 1997. Distribution, diversity and host specificity of *Bartonella* in rodent from the southeastern United States. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 57: 578 - 588.
- LAWSON, P. A and M. D. COLLINS. 1996. Description of *Bartonella clarridgeiae* sp. nov. isolated from the cat of patient with *Bartonella henselae* septicemia. *Med. Microbiol. Lett.* 5: 64 -73.
- LEONARD, J. 1992: Daniel Carrión la enfermedad que lleva su nombre. *Bol. Oficina Sanit. Panam.* 113(1): 35 - 43.
- LUCEY, D., M. J. DOLAN., C. W. MOSS., M. GARCÍA., D. G. HOLLIS., S. WENGER., G. MORGAN., R. ALMEIDA., D. LEONG., K. S. GREISEN., D. F. WELCH and L. N. SLATER. 1992. Relapsing illness due to *Rochalimaea henselae* in immunocompetent hosts: implication for therapy and new epidemiological associations. *Clin. Infect. Dis.* 14: 683-688.

- MAASS, M., M. SCHREIBER and J. KNOBLOSH. 1992. Detection of *Bartonella bacilliformis* in cultures, blood and formalin preserved skin biopsies by use of the polymerase chain reaction. *Trop. Med. Parasitol.* 43: 191-194.
- MAGUIÑA, C. 1998: Bartonellosis o Enfermedad de Carrión. Nuevos aspectos de una vieja enfermedad AFA. Editores importadores S. A. Lima, Perú. Primera Edición, 1998.
- MARGILETH, A. M., D. J. WEAR and C. K. ENGLISH. 1987. Systemic cat scratch disease: report of 23 patients with prolonged or recurrent severe bacterial infection. *J. Infect. Dis.* 155:390-394.
- MARGILETH, A. M. 1992. Antibiotic therapy for cat scratch disease: clinical study of therapeutic outcome in 268 patients and a review of the literature. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 11:474-478.
- MARGILETH, A. M. 1995. Sorting out the causes of lymphadenopathy. *Contemp. Pediatr.* 12:23-40.
- MARGILETH, A. M. 1997. Cat scratch disease. A therapeutic dilemma. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 17: 91 - 103.
- MAURIN, M. and D. RAOULT. 1998. *Bartonella* infections: Diagnostic and management issues. *Current Opinions in Infectious Diseases* 11: 189 -193.
- MCGINNIS, E., A. RAJI, M. S VALENZUELA., F. GARCÍA and R. HOOVER. 1992. Adhesion to and invasion of cultured human cells by *Bartonella bacilliformis*. *Infection and Immunity.* 60: 4051-4058.
- NADAL, D. and R. ZBINDEN. 1995. Serology to *Bartonella henselae* may replace traditional diagnostic criteria for cat scratch disease. *European Journal of Pediatrics* 154: 906 - 908.
- NAVARRETE, M., M. S. WENZEL., R. M PINCHEIRA., L. ZAROR., M. FERRES y L. PODESTA. 1999. Libro resumen XXI Congreso chileno de Microbiología "Dr. Janis Grinbergs M." Valdivia, Chile, pp. 10-11.
- RANDHAWA, A. S., V. P. KELLY and E. F. Jr. BAKER. 1977. Agglutinins to *Coxiella burnetti* and *Brucella* spp., with particular reference to *Brucella canis*, in wild animals of southern Texas. *Journal of the American Veterinary Medical Association.* 171: 939-942.
- RATH, P. M., G. VON RECKLINGHAUSEN and R. ANSORG. 1997. Seroprevalence of Immunoglobulin G Antibodies to *Bartonella henselae* in Cat Owners. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* Lett. 16 : 326 - 327.
- REGNERY, R. L., B. E. ANDERSON, J. E. CLARRIDGE., M. R. RODRÍGUEZ-BARRADAS., D. C. JONES and J. H. CARR. 1992 a. Characterization of a novel

- Rochalimaea* species, *R. henselae* sp. nov., isolated from blood of a febrile, human immunodeficiency virus-positive patient. *J. Clin. Microbiol.* 30: 265 - 274.
- REGNERY, R. L., M. MARTIN and J. OLSON .1992 b. Naturally occurring "*Rochalimaea henselae* " infections in domestic cat. *Lancet.* 340: 557 - 558.
- REGNERY, R. L. and J. TAPPERO. 1995. Unraveling mysteries associated with cat scratch disease, bacillary angiomatosis and related syndromes. *Emerging Infect. Dis.* 1: 16-21.
- SCHLOSSBERG, D., Y. MORAD., T. B. KROUSE., D. J. WEAR., C. K. ENGLISH and M. LITTMAN. 1989. Culture proved disseminated cat scratch disease in acquired immunodeficiency syndrome. *Arch. Intern. Med.* 149: 1437 - 1439.
- SIMO, J., D. RIQUELME y P. ANDA. 1998. Enfermedad por arañazo de gato: Descripción de un nuevo caso. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* 16(6): 291 - 292.
- SLATER, L. N., D. F. WECH., D. HENSEL and D. W. COODY. 1990. A newly recognized fastidious gram-negative pathogen as a caused of fever and bacteremia. *N. Engl. J. Med.* 322: 1587-1593.
- SPACH, D. H., K. P. CALLIS., D. S. PAAUW., Y. B. HOUZE., F. D. SCHOENKNECHT., D. F. WELCH., H. ROSEN and D. J. BRENNER. 1993. Endocarditis caused by *Rochalimaea quintana* in a patient infected with human immunodeficiency virus. *J. Clin. Microbiol* 31:692-694.
- STOLER, M. H., T. A. BONFIGLIO., M. T. STAIGBIGEL and M. PEREIRA. 1983. An atypical subcutaneous infection associated with acquired immunodeficiency syndrome. *American Journal of Clinical Pathology.* 80: 714 - 718.
- SZELC, C. M., S. GORAL., G. I PEREZ-PEREZ., B. PERKINS., R. L. REGNERY and K. M. EDWARDS. 1995. Serologic reponse to *Bartonella* and *Afipia* antigens in patients with cat scratch disease. *Pediatrics* 96: 1137 - 1142.
- TAPPERO, J. W., J. E. KOEHLER., T. G. BERGER., C. J. COCKERELL., T. H. LEE., M. P. BUSCH., D. P STITES., J. MOHLE-BOETANL, A. L. REINGOLD and P. E. LEBOIT. 1993. Bacillary angiomatosis and Bacillary splenitis in immunocompetent adults. *Annales de Médecine Interne de París.* 118: 363 - 365.
- THRUSFIELD, M. 1995. *Veterinary Epidemiology*, 2°. Ed. Blackwell Science Ltda., Oxford.
- TOMPKINS, L. S. 1994. *Rochalimaea* infection: are they zoonoses? *Journal of the American Medical Association.* 274: 553 - 554.
- TURNER, W., N. J. BIGLEY., M. C. DODD and G. ANDERSON. 1960. Hemagglutinating virus isolated from cat scratch disease. *J. Bacteriol.* 80: 430 - 435.

- UENO, H., Y. MURAMATSU, W. W. CHOMEL., T. HOHDATSU., H. KOYAMA and C. MORITA. 1995. Seroepidemiological survey of *Bartonella henselae* in domestic cats in Japan. *Microbiol. Immunol.* 39: 339 -341.
- VINSON, J. y W. FULLER, 1961. Citado por Bass y col.
- VON ALLERBERGER, F., M. SCHÖNBAUER, R. L. REGNERY and M. P. DIERICH. 1995. Prävalenz von *Rochalimaea henselae-Antikorpem* bei Katzen in Osterreich. *Wien. Tierarztl. Mschr.* 82: 40 - 43.
- WALL, R. and D. SHEARER. 1997. Veterinary entomology. 1st. Ed. London: Chapman and Hall; p. 338
- WEAR, D. J., A. M. MARGDJETH., T. L. HADFIELD., G. W. FISCHER, C. J. SCHLAGER and F. M. KING. 1983. Cat scratch disease: a bacterial infection. *Science.* 221:1403-1404.
- WEISS, E. and J. MOULDER. 1984. Order I. *Rickettsiales*, p. 687 - 701. In N. R. Krieg and J. G. Holt (ed). Bergey's manual of systematic bacteriology, vol. I. The Williams & Wilkins Co., Baltimore. Md.
- WELCH, D. F., D. A. PICKETT., L. N. SLATER, A. G. STEIGERWALT and D. J. BRENNER. 1992. *Rochalimaea henselae* sp. nov., a cause of septisemia, bacillary angiomatosis, and parenchymal bacillary peliosis. *J. Clin. Microbiol.* 30: 275 - 280.
- ZANGWELL, K. M., D. H. HAMILTON and B. A. PERKINS. 1993. Cat scratch disease in Connecticut-epidemiology, risk factors, and evaluation of a new diagnostic test. *New England Journal of medicine.* 329: 8-13.
- ZBIDEN, R., M. HÓCHLI and D. NADAL. 1995. Intracellular location of *Bartonella henselae* cocultivated with Vero cells and used for an indirect fluorescent-antobody test. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology.* 2: 693 — 695.

8. ANEXOS

Anexo 1. Tabla de datos, número de muestras, edad en años, sexo, raza, presencia de pulgas, actividad y reacción a la prueba de Inmunofluorescencia Indirecta (en gatos).

Muestra N°	Edad en Años	Sexo	Raza	Pulgas	Actividad	Positivos
1	2	M	Mestizo	S	D	+
2	2	M	Mestizo	S	D	+
3	3	H	Mestizo	S	D	+
4	4	H	Mestizo	N	D	+
5	3	M	Mestizo	S	F	+
6	0.4	M	Mestizo	S	D	+
7	4	H	Mestizo	S	F	+
8	5	M	Mestizo	S	D	+
9	2	H	Mestizo	S	F	+
10	2	H	Mestizo	S	D	+
11	2	H	Mestizo	S	F	+
12	4	M	Mestizo	S	D	-
13	2	H	Mestizo	S	F	+
14	6	H	Mestizo	S	D	+
15	0.3	M	Mestizo	S	F	+
16	6	H	Mestizo	S	D	-
17	2	H	Mestizo	S	D	+
18	1	H	Mestizo	S	D	-
19	1	H	Mestizo	N	D	+
20	1	M	Mestizo	S	F	-
21	0.2	H	Mestizo	S	D	-
22	0.2	H	Mestizo	S	D	+
23	2	M	Mestizo	S	F	-
24	1	M	Mestizo	S	F	+
25	1	H	Mestizo	S	F	-
26	3	H	Mestizo	S	D	+
27	0.5	M	Mestizo	S	F	-
28	1	H	Mestizo	S	D	+
29	1	M	Mestizo	S	D	+
30	2	M	Mestizo	S	D	+
31	2	M	Mestizo	S	D	+
32	2	M	Mestizo	S	D	+
33	2	M	Mestizo	S	D	+
34	2	M	Mestizo	S	D	+
35	2	M	Mestizo	S	D	+
36	2	M	Mestizo	S	D	+
37	3	H	Mestizo	S	D	+
38	2	M	Mestizo	S	F	+
39	1.5	H	Mestizo	S	D	+
40	2	M	Mestizo	S	D	+

41	3.5	H	Mestizo	S	F	+
42	0.7	M	Mestizo	S	F	+
43	9	H	Mestizo	N	F	+
44	3	H	Mestizo	S	F	+
45	9	H	Mestizo	S	F	+
46	8	H	Mestizo	S	F	+
47	5	H	Mestizo	S	F	+
48	3	M	Mestizo	S	F	+
49	2	M	Mestizo	S	F	+
50	3	M	Mestizo	S	F	+
51	4	M	Mestizo	S	F	+
52	3	H	Mestizo	S	D	+
53	0.5	M	Mestizo	S	D	-
54	1.5	M	Mestizo	S	F	-
55	2	H	Mestizo	N	D	-
56	3	H	Mestizo	S	D	+
57	2.5	M	Mestizo	N	D	-
58	8	H	Mestizo	N	D	+
59	3	H	Mestizo	S	F	+
60	5	M	Mestizo	S	D	+
61	4	H	Mestizo	S	D	+
62	7	M	Mestizo	S	D	-
63	3	M	Mestizo	S	D	-
64	1.5	H	Mestizo	S	D	-
65	2	M	Mestizo	S	F	+
66	0.8	M	Mestizo	S	F	+
67	3.5	M	Mestizo	N	D	-
68	4	H	Mestizo	S	F	-
69	0.5	H	Mestizo	N	D	-
70	2.5	M	Mestizo	S	F	-
71	5	M	Mestizo	S	F	-
72	2	H	Mestizo	S	F	-
73	3	M	Mestizo	S	F	+
74	0.5	H	Mestizo	N	D	-
75	1	H	Mestizo	S	F	+
76	3	H	Mestizo	S	F	+

Anexo 2. Tabla de datos, número de muestra, edad en años, sexo y reacción a la prueba de Inmunofluorescencia Indirecta.

Muestra N°	Edad en años	Sexo	Positivos
1	57	F	N
2	50	M	N
3	24	M	N
4	16	F	N
5	12	M	N
6	1.8	F	N
7	84	F	N
8	50	F	N
9	19	M	N
10	26	M	N
11	61	F	N
12	9	M	N
13	45	F	N
14	59	F	P
15	74	M	N
16.	17	F	P
17	66	M	N
18	21	M	N
19	54	F	P
20	32	F	P
21	22	F	N
22	60	F	N

AGRADECIMIENTOS

A mi profesor patrocinante, el Dr. Luis Zaror, por su constante guía y apoyo.

A mi profesor copatrocinante, el Dr. Santiago Ernst, por sus aportes y ayuda.

A mis profesores colaboradores, el Dr. Julio Thibaut y Dra. Maritza Navarrete.

A los profesores correctores, Dr. Esteban Molinari y Dr. Leonardo Vargas, por hacer de éste un mejor trabajo.

Al personal académico y administrativo de los Institutos de Microbiología Clínica, Medicina Preventiva y de Ciencias Clínicas Veterinarias, cuya ayuda resultó indispensable.

A mi familia, a mi novio y amigos, por su apoyo y paciencia.

A todos,

Gracias.