

Pesquisa serológica de *Bartonella henselae* en gatos en la ciudad de Santiago

LORETO MUÑOZ A. M.V, M.S.C.¹ y PATRICIA BARACATT F., M.V.

¹ Clínica de Animales Pequeños, Dpto de Ciencias Clínicas, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile.

ABSTRACT

DETECTION OF *BARTONELLA HENSELAE* ANTIBODIES FROM CATS IN SANTIAGO CITY

Bartonella henselae is a potentially zoonotic bacterium, capable of producing cat-scratch disease in humans. *Bartonella henselae* is found worldwide. However, seroprevalence varies throughout different countries around the world, and in some cases even within different regions of a single country. This study aimed to detect serum antibodies to *B.henselae* among 80 cats in Santiago using indirect immunofluorescence assay technique, and to examine epidemiological factors potentially associated with *B.henselae* detection. 70% of cats were seropositive for *B.henselae* antibody. Characteristics such as age, gender, contact with other cats, Feline Leukemia Virus infection, total number of cats per household and regular veterinary checkups showed no influence on seropositivity ($p < 0,05$).

Key words: Cat, *Bartonella henselae*, cat scratch disease.

RESUMEN

La *Bartonella henselae* es una bacteria con potencial zoonótico, capaz de producir la enfermedad del arañazo del gato en el humano. Es una bacteria difundida mundialmente, con diferentes seroprevalencias en los distintos países y dentro del mismo país. El objetivo de este estudio fue pesquisar anticuerpos contra esta bacteria en 80 gatos de Santiago mediante la técnica de inmunofluorescencia indirecta y asociarla a diferentes características epidemiológicas. La seropositividad encontrada fue de un 70%, no encontrándose asociaciones entre esta característica y la edad, sexo, contacto con otros gatos, positividad al virus leucemia felina, total de gatos por casa y la visita periódica al médico veterinario.

Palabras clave: Gato, *Bartonella henselae*; enfermedad del rasguño del gato.

* Financiamiento Fondos de Investigaciones Veterinarias FIV 2003. Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile.

Correspondencia: Fax: 02-9785634, Correo Postal: Casilla 2 Correo 15 La Granja, Santiago, Chile.

E-mail: lmunoz@uchile.cl

INTRODUCCIÓN

Actualmente, el gato es una de las mascotas con mayor contacto con el ser humano y por ello es de mayor preocupación el estudio de las enfermedades de tipo zoonóticas como la infección por *Bartonella*, una bacteria zoonótica de distribución mundial (Breitschwerdt y Greene, 2000; Ferrés y col., 2005), agente causal de la enfermedad del arañazo del gato.

Esta enfermedad fue descrita hace más de 50 años, pero hace sólo una década se encontró al verdadero agente causal, el cual recibe el nombre de *Bartonella henselae*. Los gatos son portadores sanos y por tanto reservorios de esta bacteria (Chomel y col., 1995). *B. henselae* es un bacilo, gram negativo, pequeño, de difícil cultivo y de ubicación intraeritrocitaria (Breitschwerdt y Greene, 2000). La forma de contagio de esta bacteria entre gatos es por la picada de la pulga (*Ctenocephalides felis*), transmitiéndose la bacteria en forma viable a través de las heces del parásito (Lappin y col., 2006).

En el gato se ha asociado esta bacteria a diferentes manifestaciones clínicas, como fiebre, letargia, linfadenopatía, uveítis, gingivitis, enfermedades urinarias y neurológicas (Glaus y col., 1997, Breitschwerdt y Greene 2000). Sin embargo, no se ha logrado establecer relación entre la presentación de anticuerpos a *Bartonella* con el estado febril que presentan los felinos (Lappin y col., 2009), con la gingivitis-estomatitis (Quimby y col., 2008; Dowers y col., 2009) o con la anemia (Isaac y col., 2007).

La seroprevalencia de *B. henselae* es diferente según el lugar geográfico y dentro del mismo país, dependiendo de las condiciones climáticas y de la presencia de pulgas, entre otros factores de riesgo (Chomel y col., 1995; Breitschwerdt y Greene, 2000; Chomel y col., 2002).

El presente estudio tiene por objetivo demostrar la presencia de anticuerpos contra la bacteria *B. henselae* en sueros obtenidos de un grupo de gatos de la ciudad de Santiago y, posteriormente, estudiar las posibles asociaciones entre los resultados serológicos obtenidos y las características individuales de los animales estudiados.

MATERIAL Y MÉTODOS

- *Detección serológica de anticuerpos contra*

B. henselae

La detección serológica se realizó en 80 muestras de suero felino seleccionados en forma aleatoria desde el Banco de Muestras de la Clínica de Animales Pequeños del Departamento de Ciencias Clínicas de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile. El número de muestras de sueros seleccionados se determinó de acuerdo a las posibilidades de financiamiento del proyecto, no correspondiendo a un tamaño muestral representativo de la población de felinos de Santiago.

Para el análisis serológico se utilizó el kit de diagnóstico de Inmunofluorescencia Indirecta (IFI) anti-IgG de *B. henselae* para gatos (*Bartonella henselae* IFA slide® Fuller Laboratories, Fullerton, CA, USA) que tiene un 100% de sensibilidad y un 96,8% de especificidad. Éste incluye: 10 portaobjetos que contienen células Vero infectadas con *B. henselae* cepa Houston-1 (ATCC 49882) en 10 pocillos; una solución anti-IgG gato marcada con fluoresceína; Buffer Fosfato Salino (PBS) en sobres para diluir en 1 litro de agua destilada y una solución de montaje. Los controles gatos positivos y negativos se obtuvieron del Laboratorio de Infectología y Virología Molecular de la Pontificia Universidad Católica de Chile.

Previo al análisis, los sueros, los reactivos y los portaobjetos se mantuvieron a temperatura ambiente durante una hora. Luego, Se diluyó 1 µl de suero del gato en estudio con 68 µl de PBS y 20 µl de esta dilución se colocó en el pocillo correspondiente del portaobjeto. En cada portaobjeto, se incluyó un control negativo y uno positivo. El portaobjeto fue incubado en cámara húmeda durante 30 minutos a 37°C. Posteriormente, el portaobjeto se lavó con PBS, se sumergió durante 10 minutos en PBS y se lavó con agua destilada. Una vez seco, se le adicionó 20 µl de la solución anti-IgG gato marcada con fluoresceína, siendo nuevamente incubado durante 30 minutos en cámara húmeda a 37°C. Finalmente, se lavó con PBS, se sumergió durante 10 minutos en PBS y se lavó con agua destilada. Una vez seco, se añadió una gota de medio de montaje, se cubrió con un cubreobjeto y se guardó en cámara oscura hasta el momento de la observación, la que se realizó antes de 24 horas.

Las muestras fueron visualizadas con técnica microscópica de fluorescencia (Microscopio Científico Nikon Eclipse E600) facilitado por el

Laboratorio de Anatomía Patológica del Departamento de Patología Animal de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile. La presencia de fluorescencia de morfología bacilar (color verde manzana) fue indicativo de muestras positivas.

- *Asociación de positividad serológica con las características individuales de los felinos estudiados*

La información del Banco de Muestras permitió obtener información de los felinos, la que se presenta a continuación, la cual fue utilizada para el análisis de asociación (Tabla 1). La asociación entre las características de los gatos y la presencia de anticuerpos contra *B. henselae* se determinó utilizando la prueba estadística χ^2 , con una confianza del 95%, determinándose una asociación significativa cuando $p < 0,05$. Para esto se utilizó el programa estadístico Epi Info 6.

RESULTADOS

De los gatos estudiados (n = 80) mediante la prueba IFI, 56 de ellos (70%) resultaron positivos a anticuerpos contra *B. henselae*.

Seropositividad según edad: de los 24 gatos menores de un año, 14 (58,33%) resultaron ser positivos a *B. henselae*, mientras que de los 56 gatos mayores de un año, 42 (75%) fueron positivos al análisis. Al comparar las proporciones de gatos positivos menores y mayores de un año se determinó que la edad de los animales no influía en la presentación de

anticuerpos ($p = 0,136$).

Seropositividad según sexo: de las 47 hembras estudiadas, 72,3% fueron seropositivas, lo que corresponde al 60,7% del total de gatos positivos. Un tercio de los machos resultó ser negativos a *B. henselae*, sugiriendo que la infección afecta a machos y hembras indistintamente ($p = 0,586$).

Seropositividad según contacto con otros gatos: de los 11 gatos que no tuvieron contacto con otros felinos, el 72,7% resultó positivo al análisis y de los 69 que si tuvieron contacto con más gatos, 69,5% resultaron positivos a la prueba, no habiendo asociación entre esta característica y la presencia de anticuerpos contra *B. henselae* ($p = 0,832$).

Seropositividad según resultado a prueba de ELISA para el Virus de la Leucemia Felina (ViLeF): el 66,6% de los gatos positivos a la prueba de detección de antígeno del virus leucemia resultó positivo para *B. henselae*, y el 71,1% de los ViLeF negativos resultó positivo para esta bacteria, determinando que la seropositividad a ViLeF no influye en la presentación de anticuerpos a *B. henselae* ($p = 0,698$).

Seropositividad según el total de gatos en el hogar: de los 47 gatos que convivían con más gatos en su hogar, 74,4% resultaron ser seropositivos a esta bacteria, y de los 33 individuos que vivían sin otros gatos, el 63,6% fueron positivos, no habiendo asociación entre ambas características ($p = 0,298$).

Seropositividad según visita periódica al Médico Veterinario: de los 19 gatos que visitaban periódicamente al Médico Veterinario, el 84,2% resultaron positivos y de los 61 gatos que no visitaron periódicamente al médico veterinario el 65,5% fueron positivos, con lo cual tampoco se observó una asociación significativa ($p = 0,122$).

Tabla 1. Características individuales de los gatos utilizados para el análisis de asociación

Característica	Frecuencia Absoluta	Frecuencia relativa %
Mayor de 1,1 años	56	70
Hembras	47	58,75
Contacto con más gatos	69	86,25
Negativos a ViLeF*	59	73,75
Conviven con más gatos en la casa	47	58,75
Visitas periódicas al médico veterinario	61	76,25

* ViLeF: virus Leucemia Felina.

DISCUSIÓN

En este estudio la seropositividad encontrada para *Bartonella henselae* mediante la prueba IFI, fue considerablemente mayor a la observada en estudios realizados en otros países. A modo de ejemplo, en Noruega, Bergh y col., (2002) no encontraron reacciones positivas a IFI en 100 gatos estudiados; en Suiza, Glaus y col., (1997) señaló una prevalencia de 8,3% en 728 gatos; en Japón, el 8,8% de un total de 1.447 gatos

fueron seropositivos (Maruyama y col., 2003) y en Dinamarca, la seroprevalencia fue de 45,6% (Chomel y col., 2002). El alto número de felinos seropositivos puede explicarse, en parte, por las condiciones climáticas favorables para la presencia del vector, o bien, por otros factores que no fueron considerados en el estudio, como puede ser la presencia o no de ectoparásitos. Debido a que la información correspondiente a cada gato estudiado, no contemplaba la presencia de pulgas, no se pudo estudiar la asociación entre este factor y la presencia de anticuerpos a *B. henselae*.

La seroprevalencia a *B. henselae* difiere entre sectores de un mismo país. En los Estados Unidos de América (EE.UU.), la prevalencia descrita en cuatro zonas fue de un 67, 62, 28 y 12% para Florida, California, Washington y Chicago, respectivamente (Guptill y col., 2004). En Jordania, se encontraron seroprevalencias más altas en el norte (38%) en comparación a la zona centro (18%) y sur (12%) (Al-Majali, 2004). Esto se explicaría porque las diferentes condiciones climáticas permitirían el desarrollo del ciclo biológico del parásito y, en consecuencia, la multiplicación de la pulga. Adicionalmente, Maruyama y col., (2003) atribuyeron las diferentes seroprevalencias de su país a las diferentes condiciones higiénicas, estatus social y concentración de gatos.

En cuanto a Chile, se observa una clara diferencia con respecto al estudio de Ferrés y col., (2005) donde encontraron un 95,6% de gatos positivos en Santiago, 74,6% en Valdivia y 79,2% en Coquimbo, registrando una seropositividad total de 85,6%; asociando el valor de Santiago a los hábitos callejeros de los gatos, en comparación a los de hábitos domésticos en las otras 2 ciudades. Sin embargo, en el estudio de Zaror y col., (2002), en Valdivia, se encontró una seropositividad de un 71%, lo que podría implicar que tanto en Valdivia como en Santiago se encontrarían los factores ambientales y las condiciones para la transmisión de la bacteria entre gatos.

Con respecto a la edad, en este estudio no se determinó una asociación entre la presencia de anticuerpos para esta bacteria y la edad de los gatos, similar a lo descrito por Ferrés y col., (2005), aún cuando la literatura señala que la seropositividad aumenta con la edad (Breitschwerdt y Greene, 2000), quienes indicaron que animales mayores de un año tienen mayor probabilidad de presentar anticuerpos contra *B. henselae*. Case y

col., (2006) describieron que gatos sobre 6 meses de edad están más expuestos a esta bacteria, sin encontrar diferencias entre los gatos salvajes y los de criadero. Por otro lado, Al-Majali (2004) informó del aumento de la seroprevalencia con la edad, durante los primeros 2 años de vida. Esto podría explicarse, ya que al aumentar la edad de los gatos, aumenta la posibilidad de contagio y, al ser la bacteremia prolongada en el tiempo, es más factible encontrar seropositividad en gatos mayores. Sin embargo, Maruyama y col., (2003) al estudiar 1.447 gatos, encontraron que en los mayores a 3 años la seroprevalencia era menor (7,2%) contra 11,5% en gatos entre 1 a 2 años de edad.

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en relación al sexo, aunque se observó mayor seropositividad en las hembras, lo que coincide con lo encontrado por Zaror y col., (2002) en los gatos de Valdivia, donde 73,7% de las hembras resultaron positivas al análisis y por lo encontrado por Luria y col., (2004) en gatos callejeros de Florida, donde las hembras tuvieron una positividad ligeramente mayor a *B. henselae*.

Uno de los factores de riesgo asociados a la bacteremia por la *B. henselae*, es que los gatos sean callejeros (Chomel y col., 1995; Gurfield y col., 2001; Maruyama y col., 2003) y que los gatos acostumbren a salir (Guptill y col., 2004); por ello se explica la mayor prevalencia encontrada en gatos callejeros de Dinamarca (Chomel y col., 2002), aunque estadísticamente no encontraron diferencias significativas, al igual que este estudio. De la misma manera, Zaror y col., (2002) no encontraron una asociación significativa entre ambas variables, siendo lo contrario documentado por Ferrés y col., (2005). En Berlín, Alemania, se estudió la prevalencia de *B. henselae* en gatos callejeros y domésticos, señalando que un 18,7% de los primeros fueron seropositivos, mientras que sólo el 1% de los gatos domésticos presentaron anticuerpos a *B. henselae* (Arvand y col., 2001). Otro factor de riesgo es la densidad de gatos en un mismo hogar. Gurfield y col., (2001), quienes señalaron que la presencia de bacteremia y la seropositividad aumenta conforme se incrementa el número de gatos por casa. Esto se explica debido a que el estrecho contacto entre animales facilita la transmisión de las pulgas y en consecuencia, de la bacteria. Adicionalmente, Case y col., (2006)

señalaron que gatos salvajes o de hospedajes, donde existe una gran densidad de animales, no se vieron expuestos a una mayor cantidad de vectores capaces de transmitir la *Bartonella*, que gatos con dueños.

Según este trabajo la presencia del antígeno viral de leucemia felina no se relaciona con la seropositividad a *B. henselae*, concordando con lo descrito por Chomel y col., (1995), Ueno y col., (1996) y Glaus y col., (1997) y quienes postulan que la presencia de retrovirus felinos (leucemia felina e inmunodeficiencia felina) no se relaciona con la bacteremia ni con la seropositividad a *B. henselae*.

Finalmente, pese a no haber identificado asociaciones entre las características individuales y la seropositividad a *B. henselae*, el porcentaje de gatos con anticuerpos contra *B. henselae* encontrado en este estudio tiene importancia en términos epidemiológicos, indicando que esta especie puede actuar como reservorio, constituyendo un riesgo para la salud pública. Por lo anterior, surge la necesidad de educar a los propietarios en términos de prevención de enfermedades de sus mascotas con el objetivo de prevenir, entre otras enfermedades, las parasitosis que determinan un riesgo para los propietarios.

Agradecimientos: Agradecemos a la Empresa Laboratorio Asiproduct por su constante apoyo y por proporcionarnos la solución anti-IgG felina. Agradecemos a la Dra. Marcela Ferrés del Laboratorio de Infectología y Virología Molecular de la Pontificia Universidad Católica de Chile, quien nos proporcionó los controles positivos y negativos de *Bartonella henselae*. Agradecemos al Dr. Carlos González del Laboratorio de Anatomía Patológica de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile, por la ayuda en la parte experimental del proyecto.

REFERENCIAS

- 1.- AL-MAJALI A. 2004. Seroprevalence of a risk factors for *Bartonella henselae* and *Bartonella quintana* infections among pet cats in Jordan. *Prev Vet Med* 64: 63-71.
- 2.- ARVAND M, KLOSE A, SCHWARTZ-PORSCHKE D, HAHN H, WENDT C. 2001. Genetic variability and prevalence of *Bartonella henselae* in cats in Berlin, Germany, and analysis of its genetic relatedness to strain from Berlin that is pathogenic for humans. *J Clin Microbiol* 39: 743-746.
- 3.- BERGH K, BEVANGER L, ANISEN I, LOSETH K. 2002. Low prevalence of *Bartonella henselae* infections in Norwegian domestic and feral cats *APMIS* 110: 304-314.
- 4.- BREITSCHWERDTE, GREENE C. 2000. Bartonellosis. In: Greene (ed). *Enfermedades infecciosas en perros y gatos*. McGraw-Hill Interamericana México, D. F. Pp 372-379.
- 5.- CASE BJ, CHOMEL B, NICHOLSON W, FOLEY JE. 2006. Serological survey of vector-borne zoonotic pathogens in pet cats and cats from animal shelters and feral colonies. *J Fel Med Surg* 8: 111-117.
- 6.- CHOMEL B, ABBOTT R, KASTEN R, FLOYD-HAWKINS K, KASS P, GLASER C, PEDERSEN N, KOEHLER J. 1995. *Bartonella henselae* prevalence in domestic cats in California: risk factors and association between bacteremia and antibody titers. *J Clin Microbiol* 33: 2445-2450.
- 7.- CHOMEL B, BOULOUISH, PETERSEN H, KASTEN R, YAMAMOTO K, CHANG C, GANDOLIN C, BOUILLINC, HEW C. 2002. Prevalence of *Bartonella* infection in domestic cats in Denmark. *Vet Res* 33: 205-213.
- 8.- DOWERS K, HAWLEY J, BREWER M, MORRIS A, RADECKIS, LAPPIN M. 2009 Association of *Bartonella* species, feline calicivirus, and feline herpesvirus 1 infection with gingivostomatitis in cats. *J Fel Med Surg* doi:10.1016/j.jfms.2009.10.007.
- 9.- FERRÉS M, ABARÇA K, GODOY P, GARCIA P, PALAVECINO E, MÉNDEZ G, VALDÉS A, ERNST S, THIBAUT J, KOBERG J, CHANQUEO L, VIAL P. 2005. Presencia de *Bartonella henselae* en gatos: cuantificación del reservorio natural y riesgo de exposición humana de esta zoonosis en Chile. *Rev Med Chile* 133: 1465-1471.
- 10.- GLAUS T, HOFMANN-LEHMANN R, GREENE C, GLAUS B, WOLFENBERGER C, LUTZ H. 1997. Seroprevalence of *Bartonella henselae* infection and correlation with disease status in cats in Switzerland. *J Clin Microbiol* 35: 2883-2885.
- 11.- GUPTILL L, WU C, HOGENESCH H, SLATER L, GLICKMAN N, DUNHAM A, SYME H, GLICKMAN L. 2004. Prevalence, risk factors, and genetic diversity of *Bartonella henselae* infections in pet cats in four regions of the United States. *J Clin Microbiol* 42: 652-659
- 12.- GURFIELD A, BOULOUIS H, CHOMEL B, KASTEN R, HELLER R, BOUILLIN C, GANDOIN C, THIBAUT D, CHANG C, BARRAT F, PIEMONT Y. 2001. Epidemiology of *Bartonella* infection in domestic cats in France. *Vet Microbiol* 80: 185-198.
- 13.- ISHAK A, RADECKI S, LAPPIN M. 2007. Prevalence of *Mycoplasma haemofelis*, "Candidatus *Mycoplasma haemominutum*", *Bartonella* species, *Ehrlichia* species, and *Anaplasma phagocytophilum* DNA in the blood of cats with anemia. *J Fel Med Surg* 9: 1-7.
- 14.- LAPPIN M, GRIFFIN B, BRUNT J, RILEY A, BURNEY D, HAWLEY J, BREWER M, JENSEN W. 2006 Prevalence of *Bartonella* species, haemoplasma species, *Ehrlichia* species, *Anaplasma phagocytophilum*, and *Neorickettsia risticii* DNA in the blood of cats and their fleas in the United States. *J Fel Med Surg* 8: 85-90.

- 15.- LAPPIN M, BREITSCHWERDT E, BREWER M, HAWLEY J, HEGARTY B, RADECKI S. 2009. Prevalence of *Bartonella* species antibodies and *Bartonella* species DNA in the blood of cats with and without fever. *J Fel Med Surg* 11: 141-148.
- 16.- LURIA B, LEVY J, LAPPIN M, BREITSCHWERDT E, LEGENDRE A, HERNÁNDEZ J, GORMAN S, LEE I. 2004. Prevalence of infectious diseases in feral cats in Northern Florida. *J Fel Med Surg* 6: 287-296.
- 17.- MARUYAMA S, KABEYA H, NAKAO R, TANAKA S, SAKAI T, XUAN X, KATSUBE Y, MIKAMI T. 2003. Seroprevalence of *Bartonella henselae*, *Toxoplasma gondii*, FIV and FeLV infections in domestic cats in Japan. *Microbiol Immunol* 47: 147-153.
- 18.- QUIMBY JM, ELSTON T, HAWLEY J, BREWER M, MILLER A, LAPPIN M. 2008. Evaluation of the association of *Bartonella* species, feline herpesvirus 1, feline calicivirus, feline leukaemia virus and feline immunodeficiency virus with chronic feline gingivostomatitis. *J Fel Med Surg* 10: 66-72.
- 19.- UENO H, HOHDATSU T, MURAMATSU Y, KOYAMA H, MORITA C. 1996. Does coinfection of *Bartonella henselae* and FIV induce clinical disorders in cats? *Microbiol Immunol* 40: 617-620.
- 20.- ZAROR L, ERNST S, NAVARRETE M, BALLESTEROA A, BOROSCHECK D, FERRÉS M, THIBAUTH J. 2002. Detección serológica de *Bartonella henselae* en gatos en la ciudad de Valdivia, Chile. *Arch Med Vet* 34, 103-110.