

Presencia de *Bartonella henselae* en gatos: cuantificación del reservorio natural y riesgo de exposición humana de esta zoonosis en Chile

Marcela Ferrés G¹, Katia Abarca V¹, Paula Godoy M^{1a}, Patricia García C², Elizabeth Palavecino R², Gabriela Méndez R^{4b}, Alicia Valdés O^{5b}, Santiago Ernst M^{6b}, Julio Thibaut L^{6b}, Jurgen Koberg^{7b}, Leonardo Chanqueo C¹, Pablo A Vial C³.

Presence of Bartonella henselae in cats, in Chile

Background: The availability of a serologic test for cat scratch disease in humans has allowed the diagnosis of an increasing number of cases of this disease in Chile. **Aim:** To perform a serological survey for *Bartonella henselae* among cats in Chile. **Material and methods:** Blood samples from 187 cats living in three Chilean cities were obtained. IgG antibodies against *Bartonella henselae* were measured using indirect immunofluorescence. Blood cultures were done in 60 samples. The presence of *Bartonella henselae* in positive cultures was confirmed by restriction fragment length polymorphism polymerase chain reaction (RFLP-PCR). **Results:** The general prevalence of IgG antibodies against *Bartonella henselae* was 85.6%. No differences in this prevalence were found among cats younger or older than 1 year, or those infested or not infested with fleas. However domestic cats had a lower prevalence when compared with stray cats (73 and 90% respectively, $p < 0.01$). *Bartonella henselae* was isolated in 41% of blood cultures. All the isolated were confirmed as *Bartonella henselae* by RFLP-PCR. **Conclusions:** This study found an important reservoir of *Bartonella henselae* in Chilean cats and therefore a high risk of exposure in humans who have contact with them (Rev Méd Chile 2005; 133: 1465-71).

(Key Words: *Bartonella henselae*; Cat-scratch disease; cats)

Recibido el 14 de enero, 2005. Aceptado el 4 de julio, 2005.

Proyecto financiado por Fondecyt # 1990124.

¹Laboratorio Infectología y Virología Molecular, Departamento de Pediatría, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile. ²Laboratorio de Microbiología, Pontificia Universidad Católica de Chile. ³Facultad de Medicina Clínica Alemana, Universidad del Desarrollo de Chile. ⁴Vivero Central Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile. ⁵Clínica de Animales Pequeños, Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad de Chile. ⁶Hospital Veterinario, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile. ⁷Clínica Veterinaria Coquimbo, Coquimbo.

^aBioquímico

^bMédico Veterinario

Correspondencia a: Dra. Marcela Ferrés G. Marcoleta 391, 4° piso, Santiago. Fono: (56) 2-354 6823. Fax: (56) 2-638 7457. E mail: mferres@med.puc.cl

La infección por *Bartonella henselae* es una zoonosis de amplia distribución mundial¹⁻⁴. La enfermedad en el hombre comprende diversos síndromes clínicos cuya severidad y forma de presentación depende principalmente del estado inmunológico del huésped.

En sujetos inmunocompetentes, la presentación más frecuente es la enfermedad por arañazo de gato (EAG) clásica, que se caracteriza por linfadenopatías regionales relacionadas al sitio de inoculación de la bacteria. Las otras formas clínicas, conocidas como EAG atípica, se manifiestan por un compromiso extra-linfático (hepatoesplénico, encefálico, óseo, endocárdico y ocular) y se observa en alrededor de 10-15% de todos los pacientes con diagnóstico de EAG⁵⁻⁹.

En pacientes inmunocomprometidos, principalmente aquellos con inmunodeficiencia celular, la infección es más severa y se manifiesta por cuadros como la angiomatosis bacilar, endocarditis, bacteremia y peliosis hepática^{8,10}.

En Estados Unidos (EEUU), la EAG es la principal causa de adenopatías crónicas regionales, estimándose alrededor de 22.000 casos anuales⁸. En Chile no es una enfermedad de notificación obligatoria, sin embargo, entre 1997 y 2000, se diagnosticaron más de 200 casos como parte de un proyecto de investigación llevado a cabo por los autores (comunicación personal M Ferrés) y existen publicaciones nacionales en que se describen diferentes presentaciones de EAG⁴⁻⁷.

El rol de los gatos en la transmisión de EAG está bien establecido, éstos representan el principal reservorio de *Bartonella henselae*; en los felinos, la bacteria establece una infección crónica generalmente asintomática¹¹. La transmisión a seres humanos se produce a través del arañazo o mordedura; en gatos, además de estas formas de transmisión se ha establecido, en condiciones experimentales, que la bacteria también puede ser transmitida a través de la picadura del ectoparásito *Ctenocephalides felis* que se haya alimentado en un animal bacterémico¹².

Bartonella henselae en gatos también es patógena¹³, puede causar lesiones en el sitio de inoculación, fiebre, letargia, linfadenopatía regional, gingivitis, uveítis, lesiones renales y cardíacas, entre otras¹⁴⁻¹⁶. La infección es adquirida precozmente en la vida (primeros meses de vida) y una vez superada la etapa aguda, los gatos no mani-

fiestan signos de enfermedad, pese a tener bacteremia por un tiempo prolongado^{17,18}.

La detección de anticuerpos IgG contra *Bartonella henselae* es un buen indicador de exposición a esta bacteria¹⁴. Esta metodología ha sido validada extensamente en la literatura, como una excelente herramienta diagnóstica que fue desarrollada originalmente en el *Center for Disease Control* (CDC), EEUU^{20,23,27,30,31}.

Usando este recurso de laboratorio se ha estimado la prevalencia de esta infección, evaluando diferentes variables epidemiológicas, encontrándose que ésta es variable dependiendo del origen del gato (callejero o doméstico), la presencia de ectoparásitos y también de la localidad geográfica³. Los valores referidos en la literatura oscilan entre 15-44% en Estados Unidos, 47,5% en Singapur, 33,3% en Austria y 36% en Francia. Las prevalencias más altas se observan entre los gatos con ectoparásitos, de hábito callejero y originarios de climas húmedos y cálidos²³⁻²⁵. En Chile, a raíz del creciente diagnóstico de la infección en humanos por *Bartonella henselae* se inició el estudio del reservorio felino. En Valdivia existe una publicación contemporánea, pero de una población diferente de gatos, donde se encontró una prevalencia de anticuerpos contra *Bartonella henselae* de 71%²⁶.

El objetivo primario del presente estudio fue cuantificar la magnitud de la infección por *Bartonella henselae* en gatos de tres ciudades de Chile, representando a tres áreas geográficas distintas de nuestro país (norte, centro y sur), de esta manera estimar la magnitud del problema clínico que pudiese tener esta zoonosis en nuestra población. Como objetivo secundario nos propusimos identificar algunos factores de riesgo, que podrían determinar mayores niveles de infección por *Bartonella henselae* en la población felina estudiada.

MATERIAL Y MÉTODOS

Muestras animales. Durante los años 1997-1999 se recolectaron muestras de sangre de 187 gatos (92 en Santiago, 71 en Valdivia y 24 en Coquimbo). La elección de tres regiones a lo largo del país, tuvo como finalidad el estudio de felinos de tres zonas geográficas urbanas con climas diferentes. Las muestras de Santiago fueron obtenidas de animales del vivero de la Facultad de Ciencias Biológi-

cas de la Pontificia Universidad Católica de Chile y de la Clínica de Animales Pequeños de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad de Chile. El primer grupo corresponde a gatos de hábito callejero (animales vagos) y, el segundo a animales de hábito doméstico (mascotas que fueron evaluadas durante control veterinario). Las muestras de sangre de gatos de las otras dos ciudades, provenían del Hospital Veterinario de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Austral de Chile y de una clínica veterinaria privada en Valdivia (X región) y de otra en Coquimbo (IV región).

Las muestras se tomaron por punción de la vena braquial en forma aséptica. La edad se estimó por las características de su dentadura, agrupándose en mayores y menores de un año, siendo este último grupo 27% de la población estudiada. Esta información sólo estuvo disponible para los gatos de Santiago y Coquimbo. Adicionalmente, se consignó la presencia de ectoparásitos (pulgas).

En un subgrupo de 60 animales, todos ellos provenientes de Santiago, se obtuvo un volumen adicional de sangre (2 ml) para realizar aislamiento bacteriano.

Todos los procedimientos en animales se hicieron de acuerdo a las normas éticas vigentes de la Sociedad Americana de Fisiología y fueron aprobadas por el Comité de Ética de la Pontificia Universidad Católica de Chile.

Técnicas de laboratorio

Serología: Se efectuaron determinaciones de anticuerpos IgG específicos para *Bartonella henselae* por técnica de inmunofluorescencia indirecta (IFI). Los antígenos se obtuvieron de cultivos de *Bartonella henselae* en células Vero E6 y fueron proporcionados por Russell Regnery PhD, del Centro de Control de Enfermedades (CDC) de Atlanta, EEUU. En cada ensayo se procesó el suero en dilución 1:64 junto con un control de suero positivo (IgG anti-B *henselae*) y otro suero negativo. Se consideró una muestra positiva aquella que mostró evidencias de la unión antígeno anticuerpo como fluorescencia verde brillante sobre los bacilos de *B henselae* fijados sobre el portaobjeto de la prueba diagnóstica. El procesamiento de las muestras se realizó en el Laboratorio de Infectología y Virología Molecular de la Pontifi-

cia Universidad Católica de Chile, siguiendo las instrucciones enviadas y publicadas por el CDC de Atlanta²⁷.

Hemocultivos: El aislamiento bacteriano se realizó en el Laboratorio de Microbiología de la Pontificia Universidad Católica de Chile, a través de hemocultivos utilizando el método de lisis centrifugación (Isolator, Laboratorio Wampole)²⁸. La siembra del inóculo hemático obtenido se realizó en placas de agar sangre de cordero y agar chocolate las que fueron incubadas en 10% CO₂ a 37°C, por 6 semanas. A las colonias que morfológicamente tenían las características de *Bartonella henselae* (colonias blancas, pequeñas rugosas, adherentes y de morfología heterogénea), se les realizó tinción de Gram, Ziehl Neelsen y naranja de acridina (Figuras 1 y 2). Ninguna de las colonias seleccionadas logró la visualización de la morfología de sus bacterias al usar tinción de Gram y Ziehl Neelsen, pero sí se pudieron observar bacilos finos, cortos y pleomórficos, con naranja de acridina. Todas estas colonias fueron sembradas en agar chocolate para el estudio con PCR.

Los cultivos positivos fueron enviados al CDC para confirmación de *Bartonella henselae* por técnica de reacción de polimerasa en cadena y análisis de la secuencia del ARN ribosomal de la subunidad 16 S, en búsqueda de un fragmento del gen de la citrato sintetasa (*restriction fragment length polymorphism analysis* (PCR-RFLP)^{19,29,32}.

Estadística. Se utilizaron test no paramétricos (chi cuadrado y test de Fisher) para el análisis de las seroprevalencias y bacteremias con factores asociados como: localización geográfica, edad, sexo, hábito callejero o doméstico y presencia de pulgas.

RESULTADOS

Prevalencia de anticuerpos. La prevalencia global de anticuerpos IgG contra *Bartonella henselae* en gatos fue de 85,6% (160/187). En las tres ciudades analizadas los valores de prevalencia de anticuerpos fueron altos, sin embargo, en Santiago el porcentaje de positividad (95,6%) excede en forma estadísticamente significativa los valores encontrados en Coquimbo y Valdivia (p <0,01) (Tabla 1).

Al analizar la seroprevalencia de *Bartonella henselae* por edad, hábitos y presencia de parási-

Tabla 1. Determinación de anticuerpos IgG anti-*Bartonella henselae* en gatos de tres regiones de Chile

Presencia anticuerpos anti- <i>Bartonella henselae</i>	Nº gatos positivos/total	Porcentaje	Valor p
Prevalencia global	160/187	85,6	
Santiago	88/92	95,6	<0,01
Valdivia	53/71	74,6	NS
Coquimbo	19/24	79,2	NS

tos (pulgas), no se observaron diferencias significativas entre los gatos menores de un año y adultos (93% vs 92%), aunque en esta comparación incluye únicamente los felinos de Santiago y Coquimbo (prevalencia global en ambas ciudades: 92,4%). Tampoco se encontraron diferencias entre los parasitados o no con pulgas (96% vs 83%). Sólo hay diferencia estadísticamente significativa al comparar la prevalencia de anticuerpos del grupo de gatos callejeros con los de hábito doméstico (90,4% vs 72,5%, $p < 0,01$).

Aislamiento de Bartonella henselae desde el reservorio. De los 60 hemocultivos sembrados, 25 fueron positivos (41,7%). Los 11 aislamientos recuperados en la resiembra fueron enviados al CDC, y todos ellos fueron confirmados como *Bartonella henselae* por PCR (Russell Regnery PhD, CDC, Atlanta).

Desde un punto de vista microbiológico, el agar chocolate fue un mejor medio que el agar sangre para el aislamiento bacteriano. El 100% de las cepas creció en agar chocolate, comparado con sólo 50% de recuperación obtenido en agar sangre ($p < 0,0001$). Si bien el tiempo de incubación recomendado para *Bartonella henselae* es de 6 semanas, en esta serie el 95,7% de las muestras (24/25) creció a las dos semanas de incubación.

En los 25 gatos con hemocultivos positivos, la determinación de anticuerpos IgG para *B henselae* en el suero fue positiva.

DISCUSIÓN

La determinación del reservorio de una zoonosis constituye un paso importante en la comprensión

de su epidemiología y factores de riesgo que pueden incidir en la adquisición por seres humanos. En el caso de la infección por *Bartonella henselae*, la denominación de la enfermedad humana, enfermedad por arañazo de gato, revela tanto su principal reservorio como su mecanismo de transmisión más frecuente. El gato, como animal doméstico desde tiempos antiguos, tiene un frecuente contacto con el hombre. Si bien los felinos tienen diversas enfermedades infecciosas que le son propias y que no se transmiten al hombre, son también un reservorio de microorganismos que pueden constituirse en zoonosis, dentro de las cuales el *Toxoplasma gondii* y *Bartonella henselae* constituyen probablemente las más importantes desde un punto de vista epidemiológico.

En este estudio, la alta seroprevalencia de anticuerpos IgG contra *Bartonella henselae* encontrada en gatos urbanos de 3 ciudades de Chile, indican que existe un importante reservorio natural de la infección en un animal doméstico que comparte el nicho ecológico con el hombre. La universalidad de la infección en felinos urbanos chilenos no permite diferenciar factores de riesgo específicos, a saber edad de los gatos o su parasitación con pulgas, que en estudios anteriores han demostrado constituir factores que aumentan el riesgo^{3,34,35,37}. El único factor en este estudio que muestra diferencias significativas de exposición a la infección es el hábito de los gatos (callejero vs doméstico), fenómeno que ha sido descrito anteriormente^{25,34}, y que se refleja también en nuestro estudio, al comparar la prevalencia de los gatos de Santiago, todos de hábito callejero, con los de Valdivia y Coquimbo, mayoritariamente de hábito doméstico. En términos de

una recomendación para evitar el riesgo de adquisición de la infección, este factor parece carecer de importancia epidemiológica, en la medida que, si bien presenta diferencias significativas, en ambos grupos la prevalencia de anticuerpos es muy alta.

Los estudios microbiológicos realizados en este estudio coinciden con la información obtenida por los métodos serológicos. En este caso, ya no sólo se determina la presencia de anticuerpos, sino que también se aísla e identifica la bacteria en la sangre de una alta proporción de los gatos estudiados. El hallazgo de *Bartonella henselae* en la sangre de casi la mitad de los gatos estudiados en Santiago, y en quienes la presencia de anticuerpos fue prácticamente universal, justifica la recomendación práctica de considerar que un gato tiene 50% de probabilidades de estar cursando con una bacteremia y ser eventualmente causal de transmisión de ella al humano.

La presencia de *Bartonella henselae* en sangre de gatos aparentemente sanos, es intrigante en la medida que esto traduce una alta carga bacteriana. El método de lisis centrifugación y siembra en agar chocolate, de acuerdo a nuestros resultados, sería un método eficiente para el aislamiento desde muestras de sangre de gatos con fines de investigación de las cepas bacterianas, sin embargo no es una técnica validada en seres humanos.

La identificación de *Bartonella henselae* en humanos puede realizarse a través del cultivo, sin embargo, esta técnica ofrece algunas dificultades, dado que las muestras utilizadas (punción ganglionar, sangre) tienen bajo rendimiento³³. Además, es laborioso y requiere 2 a 6 semanas de incubación²³ haciéndolo extemporáneo en la situación clínica en que se necesita³⁸. No existen aún buenos sistemas automatizados de hemocultivos para la recuperación de este agente desde pacientes bacterémicos, situación clínica observada en cuadros de endocarditis bacteriana, peliosis hepática o angiomas bacilar en pacientes inmunodeprimidos. La menor tasa de recuperación de *Bartonella* en humanos, a diferencia de los felinos, puede deberse a la menor carga bacteriana circulante y al uso de tratamientos antibióticos previos a la toma de hemocultivos. La alta frecuencia de aislamiento de *B. henselae* en sangre de gatos es sugerente de una alta tolerancia de estos animales a la infección y una relación

huésped-parásito diferente a la observada en seres humanos. El diseño del presente estudio no nos permite sacar conclusiones respecto a la relación que existe entre la presencia de la bacteria en sangre y la presencia de ésta en otros compartimentos anatómicos (garras) o fluidos corporales (saliva, orina, heces) con las que el hombre tiene contacto más frecuentemente. Representa sí un hallazgo interesante en cuanto a la posibilidad de transmisión de ésta a través de ectoparásitos hematófagos. Si bien nuestra evaluación con hemocultivos representó una evaluación transversal e instantánea de la bacteremia en la población estudiada, se ha descrito que la persistencia de esta bacteria en gatos es prolongada por periodos de 2,5 a 17 meses^{22,37}, en forma continua, intermitente e incluso indefinida.

Los hallazgos descritos representan en términos epidemiológicos la documentación de un importante reservorio felino de *Bartonella henselae* en Chile, capaz de mantener una transmisión eficiente de este agente entre gatos y como zoonosis a humanos que los acogen como mascotas. De este modo, *Bartonella henselae* puede estar presente como agente zoonótico en forma endémica en los grupos de la población que se expone a estos animales. Este riesgo es de especial importancia en pacientes inmunodeprimidos primarios y secundarios (especialmente inmunodepresión por virus de inmunodeficiencia humano), en los que la historia epidemiológica de contacto con gatos es un antecedente importante a recabar ante cuadros infecciosos o febriles de origen no determinado, de tal manera de orientar su búsqueda hacia sus manifestaciones más frecuentes (endocarditis, angiomas bacilar, peliosis hepática). Al mismo tiempo, el antecedente de contacto con gatos es de alta importancia en pacientes inmunocompetentes con linfadenopatías regionales, síndrome febril prolongado, y otras manifestaciones atípicas (encefalitis, retinitis, osteomielitis, granulomas hepatoesplénicos, espondilitis).

Para estos efectos, en la actualidad el diagnóstico de laboratorio se realiza con la ayuda de técnicas, como la serología específica (IgM o IgG titulada) y con reacción de la polimerasa en cadena (PCR), que es hoy el método de elección en la identificación directa de la bacteria desde sangre o tejidos^{1,32}. Ambas técnicas reportan

buenas sensibilidades en el diagnóstico de EAG: 90% sensibilidad de la serología en EAG típica y 97% la PCR en endocarditis bacteriana^{10,38}. Adicionalmente, en tejidos biopsiados la bacteria puede identificarse presuntamente con tinción de Warthin Starry.

REFERENCIAS

1. ANDERSON B, NEUMAN M. *Bartonella* spp as emerging human pathogens. *Clin Microbiol Rev* 1997; 2: 203-19.
2. CHOMEL B, CARLOS E, KASTEN R, YAMAMOTO K, CHANG C, CARLOS R ET AL. *Bartonella henselae* and *Bartonella clarridgeiae* infection in domestic cats from The Philippines. *Am J Trop Med Hyg* 1999; 60: 593-7.
3. GUPTILL L, WU CC, HOGEN ESCH H, SLATER LN, GLICKMAN N, DUNHAM A ET AL. Prevalence, risk factors, and genetic diversity of *Bartonella henselae* infections in pet cats in four regions of the United States. *J Clin Microbiol* 2004; 42: 652-9.
4. LARRAÍN C, PAREDES L, ROJAS R. Enfermedad por arañazo de gato: linforreticulosis benigna de inoculación, una causa de adenitis subaguda a menudo inadvertida. *Rev Méd Chile* 1963; 91: 286-9.
5. GARCÍA C, VARELA C, ABARCA K, FERRES M, PRADO P, VIAL P. Regional lymphadenopathy in cat-scratch disease: ultrasonographic findings. *Pediatric Radiol* 2000; 30: 640-3.
6. ABARCA K, VIAL P, RIVERA M, GARCÍA C, ODDÓ D, PRADO P ET AL. Infección por *Bartonella henselae* en pacientes inmunocompetentes: enfermedad por arañazo de gato. *Rev Méd Chile* 1996; 124: 1341-9.
7. WOLFF E, MUÑOZ M, ZAPATA C, LEDERMANN W. Enfermedad por arañazo de gato complicada con compromiso sistémico, osteomielitis osteovertebral y absceso paravertebral. *Rev Chil Infect* 2000; 17: 332-9.
8. BASS J, VINCENT J, PERSON D. Expanding spectrum of Bartonella infections: Cat Scratch Disease. *Pediatric Infect Dis* 1997; 16: 163-9.
9. METZKOR-COTTER E, KLETTER Y, AVIDOR B, VARON M, GOLAN Y, EPHROS M ET AL. Long-Term Serological Analysis and Clinical Follow-Up of Patients with Cat Scratch Disease. *Clin Infect Dis* 2003; 37: 1149-54.
10. CHANG C, CHOMEL B, KASTEN R, TAPPERO J, SÁNCHEZ M, KOEHLER J. Molecular epidemiology of *Bartonella henselae* infection in human immunodeficiency virus-infected patients and their cat contacts, using pulsed-field gel electrophoresis and genotyping. *J Infect Dis* 2002; 186: 1733-9. Epub 2002 Nov 22.
11. CHOMEL B, KASTEN R, SYKES J, BOULOUIS H, BREITTSCHWERDT E. Clinical Impact of Persistent *Bartonella* Bacteremia in Humans and Animals. *Ann NY Acad Sci* 2003; 990: 267-78.
12. CHOMEL B, KASTEN R, FLOYD-HAWKINS K, CHI B, YAMAMOTO K, ROBERTS-WILSON J ET AL. Experimental transmission of *Bartonella henselae* by the cat flea. *J Clin Microbiol* 1996; 34: 1952-6.
13. KORDICK D, BROWN T, SHIN K, BREITTSCHWERDT E. Clinical and pathologic evaluation of chronic *Bartonella henselae* or *Bartonella clarridgeiae* infection in cats. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 1536-47.
14. BREITTSCHWERDT E, KORDICK D. *Bartonella* Infection in Animals: Carriership, Reservoir Potential, Pathogenicity, and Zoonotic Potential for Human Infection. *Clin Microbiol Rev* 2000; 13: 428-38.
15. GREENE C, McDERMOTT M, JAMESON P, ATKINS C, MARKS A. *Bartonella henselae* infection in cats: evaluation during primary infection, treatment, and rechallenging infection. *J Clin Microbiol* 1996; 34: 1682-5.
16. O'REILLY K, BAUER R, FREELAND R, FOIL L, HUGHES K, ROHDE K ET AL. Acute clinical disease in cats following infection with a pathogenic strain of *Bartonella henselae* (LSU16). *Infect Immun* 1999; 67: 3066-72.
17. KORDICK D, WILSON K, SEXTON D, HADFIELD T, BERKHOFF H, BREITTSCHWERDT E. Prolonged *Bartonella* bacteremia in cats associated with cat-scratch disease patients. *J Clin Microbiol* 1995; 33: 3245-51.
18. KORDICK D, BREITTSCHWERDT E. Intraerythrocytic presence of *Bartonella henselae*. *J Clin Microbiol* 1995; 33: 1655-6.
19. CLARRIDGE J, REICH T, PIRWANI D, SIMON B, TSAI L, RODRIGUES-BARRADAS C ET AL. Strategy to detect and identify *Bartonella* species in routine clinical

- laboratory yields *Bartonella henselae* from HIV positive patients and unique *Bartonella* strains from his cat. *J Clin Microbiol* 1995; 33: 2107-13.
20. ZANGWILL KM, HAMILTON DH, PERKINS BA, REGNERY RL, PLIKAYTIS BD, HADLER JL ET AL. Cat scratch disease in Connecticut: epidemiology, risk factors and evaluation of a new diagnostic test. *N Engl J Med* 1993; 329: 8-13.
 21. HOUIPIKIAN P, RAOULT D. Blood Culture negative endocarditis in a reference center. *Medicine* 2005; 84: 3.
 22. BREITSCHWERDT EB, KORDICK DL. *Bartonella* infection in animals: carriership, reservoir potential, pathogenicity, and zoonotic potential for human infection. *Clin Microbiol Rev* 2000; 13: 428-38.
 23. JAMESON P, GREENE C, REGNERY R, DRYDEN M, MARKS A, BROWN J ET AL. Prevalence of *Bartonella henselae* antibodies in pet cats throughout regions of North America. *J Infect Dis* 1995; 172: 1145-9.
 24. NASIRUDEEN A, THONG M. Prevalence of *Bartonella henselae* immunoglobulin G antibodies in Singaporean cats. *Pediatr Infect Dis J* 1999; 18: 276-8.
 25. MARUYAMA S, KABEYA H, NAKAO R, TANAKA S, SAKAI T, XUAN X ET AL. Seroprevalence of *Bartonella henselae*, *Toxoplasma gondii*, FIV and FeLV infections in domestic cats in Japan. *Microbiol Immunol* 2003; 47: 147-53.
 26. ZAROR L, ERNST S, NAVARRETE M, BALLESTEROS A, DOROSCHECK D, FERRÉS M ET AL. Detección serológica de *Bartonella henselae* en gatos en la ciudad de Valdivia, Chile. *Arch Med Vet* 2002; 1: 103-10.
 27. VIRAL AND RICKETTSIAL ZOONOSES BRANCH, Centers for Disease Control and prevention. *Serodiagnosis of Emerging Infectious Diseases. Bartonella and Ehrlichia Infections*. Workshop, February 1-4, 1999.
 28. SLATER IN, WELCH DF, MURRAY PR, BARON EJ, PFALLER MA, TENOVER FC, YOLKEN RH, EDITORS. *Manual of Clinical Microbiology*, seven edition. American Society for Microbiology. Washington DC; 1999, p. 638-46.
 29. NORMAN A, REGNERY R, JAMESON P, GREENE C, KRAUSE D. Differentiation of *Bartonella*-like isolates at the species level by PCR-restriction fragment length polymorphism in the citrate synthase gene. *J Clin Microbiol* 1995; 33: 1797-803.
 30. DALTON MJ, ROBINSON L, COOPER J, REGNERY R, OLSON J. Use of *Bartonella* antigens for serologic diagnosis of cat scratch disease at a national reference center. *Arch Intern Med* 1995; 155: 1670-6.
 31. REGNERY R, OLSON J, PERKINS B, BIBB W. Serological response to *Rochalimaea henselae* antigen in suspected cat scratch disease. *Lancet* 1992; 339: 1443-5.
 32. AVIDOR B, KLETTER Y, ABULAFIA S, GOLAN Y, EPHROS M, GILADI M. Molecular diagnosis of cat scratch disease: a two-step approach. *J Clin Microbiol* 1997; 35: 1924-30.
 33. DOERN G. Detection of selected fastidious bacteria. *Clin Infect Dis* 2000; 30: 166-73.
 34. CHOMEL B, ABBOTT R, KASTEN R, FLOYD-HAWKINS K, KASS P, GLASER C ET AL. *Bartonella henselae* prevalence in domestic cats in California: risk factors and association between bacteremia and antibody titers. *J Clin Microbiol* 1995; 33: 2445-50.
 35. SANDER A, BUHLER C, PELZ K, VON CRAMM E, BREDT W. Detection and identification of two *Bartonella henselae* variants in domestic cats in Germany. *J Clin Microbiol* 1997; 35: 584-7.
 36. KOEHLER J, GLASER C, TAPPERO J. *Rochalimaea henselae* infection. A new zoonosis with the domestic cat as reservoir. *JAMA* 1994; 271: 531-5.
 37. HELLER R, ARTOIS M, XEMAR V, DE BRIEL D, GEHIN H, JAULHAC B ET AL. Prevalence of *Bartonella henselae* and *Bartonella clarridgeiae* in stray cats. *J Clin Microbiol* 1997; 35: 1327-31.
 38. LA SCOLA B, RAOULT D. Culture of *Bartonella quintana* and *Bartonella henselae* from human samples: a 5 years experience (1993 to 1998). *J Clin Microbiol* 1999; 37: 1899-905.

Agradecimientos

Agradecemos el apoyo y consejo de Rusell Regnery PhD, del Centro de Control de Enfermedades de Atlanta Estados Unidos, quien junto con proporcionar los antígenos de *Bartonella henselae* para la técnica de inmunofluorescencia indirecta, realizó la confirmación por técnica de PCR de las cepas aisladas en Chile.