



UNIVERSIDAD DE CHILE



FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS

RELACIÓN ENTRE LA PRESENTACIÓN DE GINGIVITIS
CON LA SEROPOSITIVIDAD A *Bartonella henselae*
EN FELINOS DOMÉSTICOS.

JAVIER ALEJANDRO YACONI URRUTIA

Memoria para optar al Título
Profesional de Médico Veterinario
Departamento de Ciencias Clínicas

Profesor Guía: Dra. Loreto del Carmen Muñoz Arenas

SANTIAGO, CHILE
2010



UNIVERSIDAD DE CHILE



FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS

RELACIÓN ENTRE LA PRESENTACIÓN DE GINGIVITIS CON LA SEROPOSITIVIDAD A *Bartonella henselae* EN FELINOS DOMÉSTICOS.

JAVIER ALEJANDRO YACONI URRUTIA

Memoria para optar al Título
Profesional de Médico Veterinario
Departamento de Ciencias Clínicas

NOTA FINAL:

	NOTA	FIRMA
PROFESOR GUÍA : LORETO MUÑOZ LARENAS
PROFESOR CONSEJERO: ALICIA VALDÉS OLGUÍN
PROFESOR CONSEJERO: CONSUELO BORIE POLANCO

DEDICATORIA

Quiero dedicar este gran logro principalmente a mi mujer, Paola, quien me apoyo en cada momento para lograr esta meta. A mi hijo Matías, quien junto a Paola, son la base solida para todos mis proyectos y son también la razón para lograrlos.

Dedico también, este gran triunfo a mis padres y hermanos, que aún desde la distancia, sentí su apoyo incondicional.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco en forma muy especial a mi profesora guía, Dra. Loreto Muñoz L. por su apoyo y paciencia que brindo en la realización de este trabajo. Además, agradezco los consejos de mis profesoras consejeras, Dra. Alicia Valdez O. y Dra. Consuelo Borie P.

Agradezco a la Dra. Marcela Ferrés del Laboratorio de Infectología y Virología Molecular, Departamento de Pediatría, Pontificia Universidad Católica de Chile, quien dono reactivos para poder realizar este estudio.

Agradezco al Laboratorio Asipro, quienes donaron reactivos para poder realizar este estudio.

Agradezco a mi Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile, por entregarme y enseñarme a utilizar las herramientas para mi futuro.

INDICE

RESUMEN.....	6
SUMMARY.....	7
1. REVISION BIBLIOGRAFICA.....	8
1.1. Complejo Gingivitis-Estomatitis.....	8
1.2. <i>Bartonella henselae</i>	11
2. OBJETIVOS.....	24
2.1. Objetivos generales.....	24
2.2. Objetivos específicos.....	24
3. MATERIAL Y METODOS.....	25
3.1. Material.....	25
3.1.1. Animales.....	25
3.1.2. Prueba de Inmunofluorescencia indirecta para <i>Bartonella henselae</i>	25
3.2. Método.....	26
4. RESULTADOS.....	28
5. DISCUSIÓN.....	30
6. CONCLUSIÓN.....	35
7. BIBLIOGRAFÍA.....	36
8. ANEXOS.....	43

RESUMEN

Con el propósito de conocer si existe asociación entre la presentación de gingivitis con la seropositividad a *Bartonella henselae* en felinos domésticos, se analizaron 144 gatos en la ciudad de Santiago, provenientes de los Hospitales Clínicos Veterinarios de la Universidad de Chile, de ambos sexos, mayores de un año, negativos a las pruebas de Inmunodeficiencia Viral Felina y Leucemia Viral Felina. Todos los gatos fueron clasificados, según la presencia o ausencia de gingivitis, en dos grupos de 72 gatos cada uno. Para la determinación clínica de gingivitis se utilizó una adaptación del índice descrito por Loe y Silness. Para el diagnóstico serológico de *Bartonella henselae* se utilizó una prueba comercial de inmunofluorescencia indirecta (SLIDE®).

De los todos gatos analizados, el 73,6% fue seropositivo a *Bartonella henselae* y de los 72 gatos con gingivitis, el 87,5% de ellos fueron seropositivos. Mediante la prueba de Chi cuadrado, se determinó que no hay independencia entre la presentación de gingivitis y la seropositividad a *Bartonella henselae* ($p \leq 0,05$).

SUMMARY

In order to know if there is an association between the presence of gingivitis with seropositivity to *Bartonella henselae* in domestic cats in the city of Santiago, 144 patients from the Veterinary Hospital of University of Chile were analyzed. The cats were of both sexes, older than a year and negative for Feline Immunodeficiency and Feline Leukemia Virus. The cats were classified into two groups according to the presence or absence of gingivitis and 72 cats were at each group. To classify the presence or absence of gingivitis the method used was the adaptation of the index described by Loe and Silness and for the serologic diagnosis of *Bartonella henselae* the indirect immunofluorescence, SLIDE ® test was utilized.

Of the cats analyzed, the 73.6% was seropositive for *Bartonella henselae* and cats with gingivitis approximately 87.5% were seropositive for this bacteria. In addition, a chi-square statistical analysis was applied and determined that there is no independence between the submission of gingivitis and seropositivity to *Bartonella henselae*.

1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1.1 Complejo Gingivitis-Estomatitis.

La gingivitis es una enfermedad de presentación frecuente en gatos de todas las edades y razas, cursa con dolor e inflamación de las encías, pero generalmente se presenta como el complejo gingivitis-estomatitis o periodontitis, que puede afectar a todos los tejidos de la mucosa oral (Anderson, 2003; Gorrel, 2004). Es así como en el estudio realizado por Von Schlup (1982, citada por Sims *et al.*, 1990) con 200 gatos, el 57% presentaba signos de patología oral moderados a graves.

Los gatos con gingivitis-estomatitis llegan a la consulta veterinaria con anorexia, pérdida ponderal de peso, dificultad para alimentarse, ptialismo, pelaje hirsuto, halitosis, signos de dolor, linfadenopatía submandibular y deshidratación, guiando el diagnóstico clínico (Anderson, 2003).

Durante la exploración de la cavidad oral se encuentran lesiones ulcerosas y/o granulomatosas en encías, que se pueden extender a toda la mucosa oral, arcos palatinos y faringe, pudiendo haber sangrado espontáneo al examen (Anderson, 2003). Las piezas dentales pueden presentar sarro, retracción gingival, pérdida de hueso alveolar, incluso pérdida de dientes (Anderson, 2003; Gorrel, 2004).

Aunque los pacientes con gingivitis rara vez presentan compromiso general, es importante para el diagnóstico, descartar la acción de enfermedades sistémicas que actúen como causal o contribuyendo al cuadro, como por ejemplo uremia o diabetes *mellitus* (Anderson, 2003; Gorrel, 2004). Además, un protocolo diagnóstico debe incluir una inspección de la cavidad oral, evaluación radiográfica e histopatológica (Anderson, 2003; Gorrel, 2004).

Durante la inspección oral es importante realizar una clasificación de las lesiones en la cavidad, para lo cual existen variados métodos. Uno de ellos es el índice periodontal de Loe y Silness (Holmstron, 2002) que es de fácil aplicación y se basa en 4 grados (0 a 3), partiendo en 0 para encías sanas y diferenciando en los otros 3, de acuerdo a la gravedad de las lesiones presentes. Anderson (2003), describe un índice similar, el cual además del grado de lesiones, lleva un registro de la evolución de esta

enfermedad y respuesta al tratamiento, incorporando variables de peso del paciente y evaluación subjetiva del dueño.

No hay una etiología precisa para el cuadro inflamatorio de la cavidad oral, al parecer existiría una asociación de varios agentes, por lo que es difícil llegar a una cura clínica (Anderson, 2003).

Dentro de los factores etiológicos que juegan un rol importante en la presentación de gingivitis-estomatitis se describen disfunción de neutrófilos, alteraciones inmunológicas, enfermedades dentales, además de infecciones virales y bacterianas, tanto de acción local como sistémica (Anderson, 2003).

Las alteraciones inmunológicas específicas que participan en el desarrollo de esta enfermedad se desconocen y es probable que actúen de manera similar que en humanos. Se propone que el aumento de los valores de inmunoglobulinas en gatos con gingivitis-estomatitis se debería a una falla en la función de los linfocitos B, facilitando con esto la presentación de esta enfermedad oral (Anderson, 2003).

Harley *et al.* (1999), estudiaron los niveles de citoquinas presentes en el tejido de la cavidad oral, en cuadros de gingivitis felina, mediante la prueba de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), en 15 gatos sanos y 30 enfermos. En el primer grupo encontraron presencia de IFN γ , IL-2, IL-10 e IL-12 y en el grupo de enfermos se detectó, además, la presencia de IL-4, IL-5 e IL-6. En los cuadros agudos hubo mayor cantidad de IL-6, a diferencia de lo encontrado en procesos crónicos, donde dominó la presencia IL-4.

Harley *et al.* (2003), realizaron un estudio comparando los niveles séricos y salivales de inmunoglobulinas en un grupo de 32 gatos sanos y otro de 30 con presentación de gingivitis, encontrando que los pacientes enfermos, a nivel sérico presentaron una mayor concentración de inmunoglobulinas IgA, IgM e IgG, en comparación con los gatos sanos. En la saliva de los gatos enfermos se hallaron mayores concentraciones de IgM, IgG y albúmina, en comparación con el grupo control sano. En cambio, los niveles de IgA encontrados en la saliva del grupo enfermo, fueron significativamente más bajos en comparación al grupo sano. Esto último toma importancia porque la IgA actúa en la cavidad oral neutralizando patógenos y sus

toxinas, inhibiendo la adherencia y crecimiento de los microorganismos en la mucosa o al tejido dental, por lo que los bajos niveles de esta inmunoglobulina predisponen la acción de patógenos en cuadros crónicos (Harley *et al.*, 2003).

En gatos con gingivitis crónica, es común encontrar lesiones de resorción y fragmentos de raíces retenidas, pero al extraer estos dientes y residuos de éstos, se reduce la inflamación del tejido de encías y mucosa alveolar, por lo que es evidente que este tipo de lesiones son un cofactor importante en la inducción y mantenimiento de esta enfermedad. Sin embargo, todavía se desconoce si la inflamación gingival precede, contribuye o es el resultado del proceso de resorción dental (Anderson, 2003).

Harvey *et al.* (1995), cultivaron los microorganismos presentes en el surco gingival de perros y gatos, encontrando en estos últimos, un 39% de bacterias anaerobias gram negativas y un 29% de aerobios gram positivos.

Los patógenos orales, como *Prevotella spp.* y *Porphyromonas spp.*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans* y varias especies de *Bacteroides* tienen una acción clara en la enfermedad periodontal en humanos, pero su rol en gatos no está completamente definido (Anderson, 2003). Sin embargo, Sims *et al.* (1990) compararon los niveles de IgG contra *Bacteroides*, a partir de un grupo de gatos sanos y otro con gingivitis, encontrando mayores títulos de anticuerpos para esta bacteria en los gatos enfermos. Estos elevados niveles de IgG en el suero del grupo afectado, indicaría la acción de esta bacteria en el inicio y la perpetuación de la enfermedad, aunque se especula que las células plasmáticas producirían anticuerpos con baja capacidad de unión al antígeno.

Entre los agentes virales más comúnmente asociados a la presentación de gingivitis-estomatitis se encuentran los virus de la inmunodeficiencia felina (VIF), virus de la leucemia felina (ViLeF), calicivirus y herpesvirus (Anderson, 2003).

El virus de la inmunodeficiencia felina, es un potencial contribuidor en la presentación de gingivitis-estomatitis crónica, aunque su mecanismo de acción todavía es incierto (Knowles *et al.*, 1989). Harley *et al.* (2003), indican en su estudio, que este virus podría facilitar la infección con otros microorganismos, al producir una disminución en los niveles de IgA salivales. Aunque los resultados del estudio realizado

por Harley *et al.* (2003), demuestran que gatos con gingivitis-estomatitis crónica no presentan deficiencia de los niveles de IgG, IgM e IgA en sangre, no pueden descartar una alteración selectiva sobre una subclase de estos anticuerpos, que facilite la presentación de esta enfermedad.

Knowles *et al.* (1989) evaluaron la prevalencia de calicivirus en 78 gatos con gingivitis de Inglaterra (36 hospitalizados y 42 ambulatorios) y 18 de EE.UU con gingivitis-estomatitis. En Inglaterra se encontró una prevalencia de 92% en los gatos hospitalizados, un 79% en los ambulatorios y 19% en el grupo control. En EE.UU se encontró una prevalencia de un 50% y en el grupo control sano un 0%. Los resultados obtenidos en ambos países tienen diferencias estadísticas, por lo que se concluyó que calicivirus se asocia en la presentación de gingivitis-estomatitis. Sin embargo, en un estudio posterior, donde se inoculó calicivirus a pacientes libres de esta patología, sólo se logró reproducir la fase aguda de esta enfermedad, con descarga nasal y ocular, más ulceraciones orales, por lo que se cree que calicivirus por sí solo, no es causante de gingivitis crónica (Knowles *et al.*, 1991).

Bartonella henselae produce una reacción inflamatoria crónica en tejidos bien vascularizados, como la cavidad oral, es por esto que se cree que tendría importancia en la presentación de gingivitis (Anderson, 2003). Sin embargo, Quimby *et al.* (2007), realizaron un estudio donde buscaban correlacionar la presentación de gingivitis con la infección de varios agentes, entre ellos el virus de la inmunodeficiencia felina, virus de la leucemia felina, calicivirus y *Bartonella spp.*; y no obtuvieron resultados estadísticamente significativos para ninguno de los agentes, por lo que no pudieron confirmar la asociación con gingivitis-estomatitis.

1.2 *Bartonella henselae.*

Bartonella henselae es una bacteria que tiene potencial zoonótico, capaz de producir la Enfermedad del Arañazo del Gato (EAG) y Angiomatosis Bacilar (AB), entre otras patologías. La EAG se describió en 1950, por Debré y Mollaret (Maturana, 1997) pero sólo 33 años más tarde se estableció como causa de esta patología a un pequeño bacilo gram negativo (Wear *et al.*, 1983). Recién en 1995 y después de una larga controversia por establecer el agente causal de EAG, Bergmans *et al.* (1995), encontraron en su estudio, que el 96% de las muestras tomadas desde nódulos linfáticos

de pacientes humanos, con diagnóstico de EAG (Test cutáneo positivo), fueron positivas a *Bartonella spp.*, mediante la prueba de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

Bartonella henselae pertenece a la familia *Bartonellaceae*, género *Bartonella* y se describe como un bacilo gram negativo, pequeño, ligeramente curvado, de 0,5 - 0,6 μm de ancho y 2 μm de largo, intraeritrocitario y aeróbico (Murray *et al.*, 2002) (Figura N°1). Es una bacteria de difícil cultivo, siendo el medio ideal para ser cultivado, sangre de conejo, oveja o caballo en una concentración del 5 al 10%, en presencia de un 5% CO_2 y a una temperatura de 37°C. Se debe cultivar durante 12 a 14 días, aunque pueden ser necesarios sobre 45 días (Brunt *et al.*, 2006). Las colonias que crecen en el cultivo se observan de color blanco, pequeñas, rugosas y adherentes en el primer aislamiento, pero en los siguientes pasajes de aislamiento se van volviendo menos rugosas y adherentes (Murray *et al.*, 2002).



Figura N°1: *Bartonella henselae*. (Fuente: http://www.regmed.uni-tuebingen.de/files/bartonella_henselae_authenrieth3_338x348.jpg).

Se describen 2 genotipos de *Bartonella henselae*, Houston o tipo I, con mayor prevalencia en Asia, y tipo II o Marseille, más prevalente en el oeste de Estados Unidos, Europa y en Australia. El genotipo Marseille presenta mayor prevalencia a nivel mundial, pero el tipo I es más virulento en humanos (Anderson y Neuman, 1996; Pressler, 2005; Brunt *et al.*, 2006; Chomel *et al.*, 2006).

El género *Bartonella* está formado por 15 especies, siendo las de mayor importancia clínica en el hombre *B. bacilliformi*, *B. quintana*, *B. elizabethae*, *B. vinsonii* y *B. henselae* (Abarca, 1996, Maturana, 1998; Pressler, 2005; Brunt *et al.*, 2006; Chomel *et al.*, 2006).

Bartonella henselae está ampliamente distribuida a nivel mundial en gatos, con una seroprevalencia promedio de 20 a 30%, siendo más elevada en países más cálidos y húmedos, coincidente con áreas de mayor presencia del vector, la pulga del gato, *Ctenocephalides felis felis* (Pressler, 2005). Los valores de prevalencia pueden variar, dependiendo de las condiciones climáticas de cada zona geográfica. Así, Guptill *et al.* (2004), describen en 271 gatos, de 4 regiones distintas de EE.UU, prevalencias de 62, 67, 28 y 12%, en California del sur, Florida, Washington D.C. y Chicago, respectivamente, zonas con 4 distintas condiciones climáticas dentro de Estados Unidos de Norteamérica.

En Santiago de Chile, la seroprevalencia de *Bartonella henselae*, en gatos, es de 70% según el estudio de Muñoz (2005) donde se analizaron 198 muestras, valor semejante (71%) a lo descrito por Ballesteros (2000) en 76 gatos de la ciudad de Valdivia.

El 2006, Ferrés *et al.*, realizaron un estudio a 181 niños y adolescentes, mediante Inmunofluorescencia directa (IF) para *Bartonella henselae*, encontrando una prevalencia de 13,3%, con mayor incidencia entre los 14 y 17 años (20%), valores similares a los descritos en Grecia y Canadá. Además, estos autores realizaron un estudio similar con personas con riesgo de contagio de esta bacteria, tal como Médicos Veterinarios, auxiliares técnicos, personas con lesiones por rasguños o mordidas de gatos y pacientes con linfadenopatía sugerente de EAG, obteniendo una prevalencia promedio de 10,6%, similar a otros países. Estos resultados sugieren, según los autores, que la infección por *Bartonella henselae* es endémica en Chile. Además, es concordante con la alta prevalencia de anticuerpos encontrados en gatos (75-95%) de tres regiones de Chile, por Ferrés *et al.*, el 2005.

La forma de transmisión entre los gatos es principalmente a través de la pulga *Ctenocephalides felis felis* (Figura N°2) (Chomel, 1996), describiéndose un rol de

menor importancia en la transmisión, a la garrapata del genero *Ixodes pacificus* (Chomel *et al.* 2001 y Chomel *et al.* 2002). Hasta la fecha, ha sido imposible realizar la transmisión de *Bartonella henselae* entre gatos en un ambiente libre de pulgas (Pressler, 2005, Brunt *et al.*, 2006).



Figura N°2: *Ctenocephalides felis felis* (Fuente:

http://www.bayergarden.es/export/sites/es_bayergarden/es/_galleries/images/problems/katzenfloh1.jpg).

La pulga, *Ctenocephalides felis felis*, es vector mecánico de la bacteria, la cual es eliminada a través de sus heces. El gato se inocular la bacteria al rascarse en las zonas contaminadas con las heces de pulgas (Brunt *et al.*, 2006; Pressler, 2005). Foil *et al.* (1998), inocularon gatos, vía intradérmica con heces de pulgas infectadas con *Bartonella henselae*, comprobando a las 2 semanas, la presencia de bacteremia en ellos. Además del ingreso de la bacteria a través de la piel, se sugiere la infección por consumo de las heces de pulgas con *Bartonella henselae* (Foil *et al.*, 1998; Pressler, 2005; Brunt *et al.*, 2006).

La vía iatrogénica de transmisión de *Bartonella henselae*, a través de transfusiones sanguíneas, se debe considerar, debido al elevado número de gatos infectados que permanecen asintomáticos (Pressler, 2005).

Se ha descartado la diseminación de la bacteria por vía urinaria, como también por vía calostrual (Brunt *et al.*, 2006; Pressler, 2005).

Chomel *et al.* (1995), realizaron un estudio, con 205 muestras de gatos de la ciudad de California (EE.UU), con el objetivo de determinar los factores de riesgo para la infección con *Bartonella henselae* en felinos. Encontraron que los animales con

infestación de pulgas, presentaban mayores porcentajes de bacteremia y seropositividad a esta bacteria. Estos mismos resultados se obtuvieron para los gatos de vida callejera. Case *et al.* (2006), determinaron que la presencia de pulgas en los gatos sería un factor importante para la presentación de bacteremia, en cambio, si el gato vive dentro o fuera de la casa no tendría mayor relevancia.

En cuanto a la edad, Chomel *et al.* (1995), encontraron mayores porcentajes de bacteremia en gatos menores de un año, observando un 55,5% en ellos y en los adultos sólo un 33,8%, diferencia también encontrada con inmunofluorescencia indirecta para esta bacteria en ambos grupos, con un 90,7% y 70,5%, respectivamente.

No se han encontrado diferencias significativas de infección a *Bartonella henselae* por sexo (Pressler, 2005). Al-Majali (2004), realizó un estudio con la prueba de Inmunofluorescencia indirecta (IFI) en 153 muestras de sueros de gatos de 3 regiones distintas de Jordania, donde incluyó esta variable como factor de riesgo, obteniendo un 39,7% en hembras y 32,5% para los machos, valores sin diferencia estadística. Leibovitz *et al.* (2008), en un estudio con 100 gatos, utilizando ELISA para IgG y PCR para el diagnóstico de esta bacteria, tampoco encontraron diferencias significativas entre machos y hembras. Glaus *et al.* (1997), no encontraron diferencias estadísticamente significativas para la seropositividad a *Bartonella henselae* entre gatos de vida hogareña o libre, como tampoco entre gatos de hogares con una sola mascota y casas con más de un gato en Suiza.

Luria *et al.* (2004), realizaron un estudio para determinar la prevalencia de varios agentes (VIF, ViLeF, Coronavirus, *Dirofilaria immitis*, *Toxoplasma gondii*, *Bartonella henselae*, *Mycoplasma haemofelis* y *haemomnutum*, *Ehrliquia spp.*, *A. phagocytophilum*) en el norte de Florida (EE.UU.), con 553 gatos callejeros, determinando que *Bartonella henselae* se encuentra con la mayor prevalencia (33,6%) y fue el único agente que no se logró asociar con la coinfección con otros organismos.

La forma como los gatos infectarían a humanos, es a través de rasguños e inoculando heces de pulgas desde sus garras; aunque no se descarta el traspaso desde la saliva, a través de mordidas y lamido de heridas (Pressler 2005; Brunt *et al.*, 2006).

El cuadro clínico causado por *Bartonella henselae* en humanos, varía según el estado inmunitario de los pacientes. En personas inmunocompetentes, esta bacteria es responsable de la enfermedad del arañazo del gato, la cual cursa con el crecimiento de una pápula de lenta cicatrización en la zona de inoculación, posteriormente se desarrolla una adenopatía regional de resolución lenta y espontánea (Abarca, 1996; Maturana, 1997; Chomel *et al.*, 2003a; Chomel *et al.*, 2004). Además, puede producir síndrome oculoglandular de Parinaud, osteomielitis, encefalitis, granulomas hepáticos y/o esplénicos, hepatitis, neumonía con efusión pleural, endocarditis, síndrome febril prolongado, púrpura trombocitopénica, corioretinitis, uveítis, eritema nodoso y vasculitis leucocitoclástica (Abarca, 1996; Anderson y Neuman *et al.*, 1996; Maturana, 1997; Chomel *et al.*, 2003a; Chomel *et al.*, 2004).

En personas inmunocomprometidas, esta bacteria produce cuadros de mayor gravedad (Abarca, 1996; Maturana, 1997; Chomel *et al.*, 2003a; Chomel *et al.*, 2004). La enfermedad de mayor importancia en este tipo de pacientes es la angiomasitosis bacilar, cuadro que se caracteriza por la formación de tumores o granulomas en la piel, hígado (Peliosis hepática), huesos y encéfalo, entre otros (Abarca, 1996; Anderson y Neuman, 1996; Chomel *et al.*, 2003a).

El gato puede manifestar diferentes signos clínicos, como también desarrollar un cuadro subclínico dependiendo de la virulencia de la cepa de *Bartonella henselae* que lo afecte (Chomel *et al.*, 2003a; Chomel *et al.*, 2004; Pressler, 2005).

De Souza *et al.* (2001), realizaron un estudio con 5 gatos sanos, de 2 meses de edad, todos con el calendario de vacunas al día (Panleucopenia, Herpesvirus, Calicivirus y Rabia) y libre de parásitos. A los 6 meses de edad se inocularon con una cepa de *Bartonella henselae* tipo I (Houston) y durante 2 años se tomaron muestras de sangre, para hemocultivo, PCR e inmunofluorescencia indirecta, obteniendo cultivos positivos, incluso en un gato hasta 24 meses después.

O'Reilly *et al.* (1999), aislaron *Bartonella henselae* desde una hembra de 10 meses, infectada naturalmente antes de las 16 semanas de edad. Posteriormente esta cepa fue inoculada en nueve gatos vía intradérmica. En las primeras 72 horas, todos los individuos presentaron una inflamación eritematosa en la zona de inoculación, llegando

a su mayor tamaño en el día 14 post-infección, pero para el día 28, ya no se palpaba la lesión en ningún gato. Todos los pacientes presentaron fiebre entre los días 6 y 16 post-infección, la que duró entre 1 y 8 días. A su vez, en este mismo periodo de tiempo, todos los gatos presentaron letargo, que se extendió entre 5 y 18 días. Siete de los nueve gatos, se encontraban bacterémicos al día 7 y para el día 14, los nueve individuos del estudio presentaban la bacteria en la sangre. El máximo nivel de *Bartonella henselae* en la sangre se alcanzó en todos los gatos entre los días 14 y 28 post-infección. En la séptima semana, a seis gatos ya no se les detectó esta bacteria en la sangre y en la semana 18 sólo un animal presentaba cultivo sanguíneo positivo para *Bartonella henselae*. Todos los individuos desarrollaron una elevada respuesta de anticuerpos IgG a las 4 semanas post-infección, coincidiendo esta respuesta humoral, con el descenso de la bacteremia. Posteriormente se inoculó, vía intradérmica, a 3 gatos con sangre de los animales del experimento anterior con cultivo positivo, además se inocularon 5 gatos con fecas de pulgas que se habían alimentado de esos mismos gatos, durante la cuarta semana. Los 8 gatos presentaron signos similares a los 9 anteriores, pero de presentación más tardía, luego a las 8 semanas fueron eutanasiados, mientras los primeros seguían permaneciendo con cultivos positivos a *Bartonella henselae*. Con esto se demostró la vía de transmisión y además, que los gatos pueden permanecer bacterémicos por periodos prolongados de tiempo.

En otro estudio, O'Reilly *et al.* (2001), trataron de determinar la acción de la inmunidad activa y pasiva sobre la infección con *Bartonella henselae*. Para ello en un primer experimento obtuvieron suero de 6 gatos con cultivos negativos, 3 de ellos ELISA positivos para anticuerpos Anti-*Bartonella* y los otros 3 con este examen negativo. Estos sueros fueron inyectados en gatitos de 10 meses de edad, en 2 grupos, los sueros con anticuerpos a 3 gatos y los sueros sin anticuerpos a otros 3. Luego, a 2 gatos con anticuerpos y a los 3 del segundo grupo se les inoculó, vía intravenosa, con *Bartonella henselae* 30 minutos después de la administración de los sueros. El tercer gato del grupo con anticuerpos, se inoculó vía subcutánea en varios puntos, debido a su difícil manejo. En la segunda semana post-inoculación de la bacteria, sólo un gato del grupo con anticuerpos presentó bacteremia, en cambio en el grupo sin anticuerpos, los 3 la presentaron. Para la tercera semana ambos grupos presentaban niveles similares de esta bacteria en la sangre, pero sólo el grupo tratado con sueros negativos a anticuerpos presentó signos clínicos, lo que determinaría que los anticuerpos contra *Bartonella*

henselae, sólo protegerían y reducirían la bacteremia en la primera semana post-infección. Por lo tanto, gatos con altos títulos de anticuerpos contra esta bacteria, pueden presentar bacteremias recurrentes después de 7 días de la infección. En este mismo trabajo para determinar la acción de la inmunidad pasiva contra *Bartonella henselae*, se estudiaron 12 gatitos nacidos de 3 hembras distintas, la primera infectada a las 12 semanas de edad (infección crónica), la segunda inoculada en la mitad de la gestación y una tercera gata libre de esta bacteria. Al momento del nacimiento y a las 6 semanas de edad, los 12 gatitos resultaron con cultivos negativos a *Bartonella henselae*. Los niveles de anticuerpos, al momento de nacer de los gatitos de hembras infectadas, eran altos, pero al momento del experimento (6 semanas de edad), presentaban bajos títulos. Los gatitos nacidos de la hembra control presentaron pruebas negativas de anticuerpos al nacimiento y al momento del inicio del estudio. A las 6 semanas de edad los 12 gatos fueron inoculados con una cepa virulenta. Al término del experimento a las 7 semanas, sólo los gatos de la madre control presentaron signos clínicos, pero 11 de los 12 presentaron bacteremia, obteniéndose como conclusión que la inmunidad pasiva sólo previene los signos clínicos producidos por *Bartonella henselae*, pero no su bacteremia.

Por lo general, los gatos son portadores sanos, presentando bacteremias persistentes por meses o años (Pressler, 2005). En un estudio realizado por Kabeya *et al.* (2002), con el propósito de explicar los mecanismos de *Bartonella henselae* para lograr una infección persistente, determinaron que bacteremias crónicas y recidivantes, pueden ser explicadas por la acción de la coinfección de distintas variaciones genéticas de esta bacteria, por lo que son capaces de evadir la respuesta inmune y mantenerse en el tiempo, produciendo nuevas bacteremias.

En el caso de las cepas virulentas como la LSU16, pueden producir en el gato un estado febril que resuelve espontáneamente en 48 a 72 horas. Conjuntamente con esto, se observa aparición de una lesión eritematosa en el sitio de la inoculación intradérmica. Además, se puede presentar anorexia, letargía, baja en la fertilidad y disminución de funciones neurológicas inespecíficas, con una duración aproximada de 2 semanas. Otros signos que se pueden presentar son linfadenopatía regional, gingivitis, uveítis, glomerulonefritis y endocarditis (Chomel *et al.*, 2003a; Chomel *et al.*, 2004; Pressler, 2005).

En el caso de infecciones con cepas de *Bartonella henselae* de baja virulencia, se pueden producir cuadros asintomáticos, que frente a eventos estresantes, pueden expresarse con signología clínica (Pressler, 2005). En la infección con cepas *Bartonella henselae* de alta y baja virulencia se puede producir una alteración en la fertilidad, con una disminución en el tamaño de las camadas (Brunt *et al.*, 2006).

Frente a la infección con *Bartonella henselae*, el sistema inmune de los gatos responde produciendo en primera instancia anticuerpos IgM, los cuales se pueden detectar desde la primera semana posterior a la inoculación. Una a dos semanas más tarde, se comienzan a producir anticuerpos IgG, los cuales tienen su título más alto, entre la quinta y décima semana. Estos anticuerpos IgG, son los que pueden ser detectados por pruebas serológicas en la sangre y permanecer por años. Además, son capaces de producir reacciones cruzadas con otras especies de *Bartonella* (Pressler, 2005).

En la respuesta inmune celular participan los linfocitos T CD4:CD8 en circulación, desarrollando una reacción intradérmica en la zona de inoculación, para luego producir hiperplasia de los órganos del sistema linfático (Pressler, 2005). Se ha demostrado el traspaso de anticuerpos maternos en la lactancia, los cuales pueden permanecer hasta los 60 días de edad, por lo que pruebas serológicas podrían dar positivas en este periodo (O'Reilly *et al.*, 2001; Pressler, 2005).

Se describe que existe una alta frecuencia de seropositivos para *Bartonella henselae* en gatos con cuadros neurológicos y uveítis. Además, se ha asociado esta bacteria con la presencia de gingivitis en gatos, al detectar *Bartonella henselae*, mediante PCR desde la saliva de un paciente con esta signología, lo que sería importante para explicar la forma de transmisión al humano (Brunt *et al.*, 2006).

Muñana *et al.* (2001), realizaron un estudio con la finalidad de explicar la acción de *Bartonella henselae* en el desarrollo de cuadros neurológicos en gatos con esta infección. Tomaron muestras de tejido cerebral, aislando células microgliales y astrocitos, de 13 fetos felinos entre 40 y 60 días de gestación. Estos tejidos fueron preparados en un medio de cultivo e infectados con *Bartonella henselae*, aislada desde un gato con signología neurológica, cuyo dueño presentó la enfermedad del arañazo del

gato. Estas muestras fueron enfrentadas con un grupo control, con el mismo tejido cerebral, pero sin estar inoculado con esta bacteria. En el grupo infectado se encontró presencia del microorganismo en el citoplasma de sólo células microgliales, desde el día 14 post-infección mediante PCR y microscopía electrónica. En los astrocitos no se observó presencia de microorganismos al término del experimento en el día 28 post-infección. Sin embargo, al comparar con el grupo control, si bien se confirmó la infección, ésta no produjo daños o alteraciones morfológicas en la células, por lo que no se pudo demostrar la acción de esta bacteria en alteraciones del sistema nervioso central, pero sí, su capacidad de infectar este tejido y permanecer periodos prolongados, provocando infecciones latentes en gatos.

Leibovitz *et al.* (2008), realizaron un estudio retrospectivo en 100 gatos cuyos propietarios presentaron la enfermedad del arañazo del gato. Este estudio se realizó a partir de muestras de líquido cefalorraquídeo de todos los gatos, se hizo la prueba de ELISA a estas muestras y 36 fueron positivas a la presencia de anticuerpos IgG para *Bartonella henselae*; lo que sugiere, según los autores, la producción de anticuerpos por el sistema nervioso. Sin embargo, estos resultados deben analizarse con cuidado, ya que ellos carecían de un grupo control.

A *Bartonella henselae* se le ha relacionado con la presentación de cuadros de uveítis (Pressler, 2005). Fontanelle *et al.* (2008), realizaron un trabajo con el objetivo de comprobar esta asociación, midiendo mediante ELISA, la presencia de anticuerpos para esta bacteria en 3 grupos de gatos. El primero con 113 gatos con uveítis, un segundo grupo con 152 pacientes enfermos, pero sin afecciones oculares y un control sano con 97 gatos. No encontraron diferencias estadísticas entre los 3 grupos, incluso, el tercero, con gatos sanos, presentó mayores títulos de anticuerpos en comparación con los otros 2. Los autores sugieren que pruebas serológicas, por si solas, no son útiles para comprobar esta asociación.

Chomel *et al.* (2003b), reportaron un caso de endocarditis fatal en un gato de 8 años que se presentó a consulta tras 2 episodios de síncope. Al paciente se le realizó hemocultivos para detectar *Bartonella henselae*, los cuales resultaron negativos, mientras que la serología realizada por inmunofluorescencia indirecta resultó positiva, para anticuerpos contra esta bacteria. Los hemocultivos negativos no sorprenden a los

autores de la publicación, debido a la baja cantidad de bacteria y escaso tejido obtenido desde la válvula del corazón, algo similar se describe en humanos (Fournier *et al.*, 2001). Además, este gato fue tratado con antibióticos desde un mes antes de la necropsia. En el estudio histopatológico del corazón, se evidenció una severa hipertrofia concéntrica ventricular izquierda, dilatación auricular izquierda con una marcada estrechez de la válvula aórtica. Además se detectó ADN de *Bartonella henselae* mediante PCR, desde una muestra de esta válvula, con lo cual se evidenció la capacidad de esta bacteria, para causar endocarditis bacteriana en gatos.

Berryessa *et al.* (2008), con el objetivo de determinar si *Bartonella henselae* desempeña un rol en la presentación de rinosinusitis en gatos, realizaron un estudio con un total de 59 pacientes. Un primer grupo con rinosinusitis, un segundo con otras enfermedades nasales, un tercer con enfermedades sistémicas y un cuarto grupo con pacientes sanos, con 19, 10, 15 y 15 gatos, respectivamente. En el grupo 1 se detectaron 9 de ellos positivos a *Bartonella henselae*, con la prueba de inmunofluorescencia indirecta; sin embargo, tanto los hemocultivos y biopsias realizadas a este grupo, resultaron negativas. Al comparar los resultados con el grupo de gatos controles, no se observaron diferencias significativas entre ellos, por lo que no se pudo asociar esta bacteria a la presentación clínica de rinosinusitis. Sin embargo, cabe destacar que los propios autores reconocieron el bajo tamaño muestral, el que debió ser de mínimo de 118 gatos, para tener valor estadístico.

Lappin *et al.*, (2009), se plantearon como objetivo, a partir de la presentación clínica de fiebre en gatos, obtener un valor predictivo para la infección a *Bartonella henselae*, para esto, realizaron un estudio, donde se compararon resultados de un grupo control sin fiebre contra otro febril, con 93 y 81 gatos respectivamente. Con las muestras de sangre de todos los individuos del estudio, realizaron pruebas de ELISA, Western Blot y PCR. Los resultados del estudio no permitieron relacionar ambas variables, por lo cual, cuadros febriles no tendrían valor predictivo para la infección a *Bartonella henselae*.

Anderson (2003), señala que en su práctica clínica, aproximadamente el 75% de sus pacientes felinos con gingivitis, son positivos a *Bartonella sp.*, pero todavía no existen suficientes estudios para confirmar esto.

Glaus *et al.*, en 1997, buscaban correlacionar a *Bartonella henselae* con varias patologías, entre ellas gingivitis y con los virus de inmunodeficiencia y leucemia felina; sin encontrar diferencia serológicas entre los gatos enfermos y los sanos. Además, los gatos seropositivos a esta bacteria presentaron mayor frecuencia de estomatitis y patologías renales y urinarias.

Existen varias técnicas diagnósticas para *Bartonella henselae*, pero sólo el cultivo sanguíneo y PCR detectan la infección por esta bacteria. Sin embargo, las pruebas para detectar anticuerpos (IFI y ELISA) son las más utilizadas, por ser más rápidas y fáciles de realizar (Anderson y Neuman, 1997; Pressler, 2005; Brunt *et al.*, 2006). La prueba de inmunofluorescencia indirecta sirve para realizar un *screening* rápido, ya que puede dar como negativos algunos gatos, a pesar de estar infectados (Pressler, 2005).

La prueba de IFI detecta anticuerpos (IgG) contra *B. henselae* en el suero sospechoso; a través de antígenos de esta bacteria que se encuentran adheridos al portaobjetos, donde se producen las reacciones de la prueba. Si el suero sospechoso presenta anticuerpos, se forma un complejo antígeno-anticuerpo, unión que es reconocida a su vez, por una globulina antigato que se encuentra marcada con fluoresceína, la visualización de esta unión se detecta en un microscopio de fluorescencia (VIRCELL, 2010)

Otra técnica diagnóstica utilizada para detectar anticuerpos contra esta bacteria, son el *Western blot* y el inmunoensayo enzimático (ELISA), que detecta anticuerpos anti *B. henselae* del tipo IgG e IgM. Las pruebas de ELISA e IFI tienen la ventaja de ser rápidas y de bajo costo, pero sólo detectan presencia de anticuerpos contra esta bacteria, indicando exposición a *Bartonella*, pero no, si el paciente sospechoso se encuentra cursando con bacteremia. Además, pueden existir reacciones cruzadas con otras especies de *Bartonella*, entregando falsos positivos (Brunt *et al.*, 2006).

A través del hemocultivo se puede detectar la presencia de esta bacteria. En relación al hemocultivo, un paciente se considera negativo cuando 4 a 6 cultivos, resultan negativos en un periodo mayor a los 4 a 6 meses. Este método presenta la desventaja de ser muy lento, requerir de laboratorios especializados, además, puede dar

falsos negativos al presentar esta *Bartonella henselae* bacteremias intermitentes (Brunt *et al.*, 2006).

La reacción en cadena de la polimerasa o PCR, es otra técnica para detectar la presencia de *Bartonella henselae* en gatos. Es una alternativa más rápida y sensible, comparado con los hemocultivos (Anderson y Neuman, 1997; Pressler, 2005; Brunt *et al.*, 2006). Esta técnica amplifica a partir de una molécula, el ADN del organismo a identificar, a través de una enzima, la polimerasa reversa, obtenida desde una muestra sanguínea u otro tejido del paciente sospechoso (Brunt *et al.*, 2006). Si bien el PCR tiene una mayor sensibilidad y es más rápida que el cultivo sanguíneo, tiene como desventaja su alto costo, requerir de laboratorios muy especializados y de un riguroso control de calidad en su proceso para evitar falsos negativos (Brunt *et al.*, 2006).

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo general:

. Relacionar la presentación de gingivitis con la seropositividad a *Bartonella henselae* en gatos.

2.2. Objetivos específicos:

. Determinar el porcentaje de gatos seropositivos a *Bartonella henselae* con gingivitis.

. Determinar la asociación entre la presentación de gingivitis y la seropositividad a *Bartonella henselae*.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1 Material

3.1.1 Animales:

Se utilizaron 144 gatos mayores a un año, de ambos sexos, provenientes de los Hospitales Clínicos Veterinarios de la Universidad de Chile. Todos los gatos que ingresaron al estudio eran negativos a las pruebas de Inmunodeficiencia Viral Felina y Leucemia Viral Felina.

Los individuos seleccionados para el estudio constituyeron dos grupos, de 72 gatos cada uno, según la presencia o ausencia de gingivitis. El tamaño muestral se calculó con un 5% de error.

Para el diagnóstico clínico de gingivitis se utilizó una ficha de clasificación adaptada (anexo 1) para este estudio, basándose en el índice periodontal de Loe y Silness descrito por Holmstron (2002). Considerándose negativo al grado 0 de dicha clasificación y positivo los grado 1 a 3. Las características clínicas a observar fueron la presencia de cualquier lesión de las encías, desde irritación y/o enrojecimiento del borde dental de ellas hasta pérdidas dentales e inflamación de las fauces. Los gatos sin presencia de gingivitis y con cavidad oral sana, constituyeron el grupo control.

3.1.2. Prueba de Inmunofluorescencia indirecta para *Bartonella henselae*:

Se utilizó la prueba de inmunofluorescencia anti IgG de *Bartonella henselae* IFI SLIDE[®] Fuller Laboratorios (Fullerton, CA, USA), que tiene una sensibilidad de 100% y una especificidad de 96,8% (Chamberlin *et al.*, 2000).

Esta prueba diagnóstica consta de: 10 portaobjetos (con 10 pocillos cada uno), cuyos pocillos contienen células Vero infectadas con *Bartonella henselae* cepa Houston-1 (ATCC 49882), una solución anti-IgG anti-gato, marcada con fluoresceína; Solución Amortiguadora (Buffer) Fosfato Salina (PBS) y una solución de montaje (que permite la observación en el microscopio para la técnica). Los sueros controles negativos y positivos se obtuvieron del Laboratorio de Infectología y Virología de la

Pontificia Universidad Católica, Santiago de Chile.

Esta prueba se realizó en el Laboratorio de Anatomía Patológica del Departamento de Patología Animal de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile. La lectura se realizó con el Microscopio Nikon de Fluorescencia, modelo Eclipse E600, del mismo laboratorio.

3.2. Métodos

Se realizó una revisión de la base de datos de pacientes de los Hospitales Clínicos Veterinarios de la Universidad de Chile, seleccionando los gatos que cumplieran los requisitos para el estudio (negativos a las pruebas de VIF y ViLeF). A estos gatos se les realizó un examen clínico de la cavidad oral, para determinar la presencia o ausencia de gingivitis e incorporarlos a un grupo del estudio. Una vez clasificados se les tomó en forma aséptica, una muestra de sangre de un ml, desde la vena yugular o safena. Luego mediante centrifugación (2000 g por 5 minutos), se obtuvieron los sueros, que fueron congelados, hasta la realización de la prueba de inmunofluorescencia indirecta.

Para realizar esta prueba, los reactivos y portaobjetos se dejaron a temperatura ambiente durante una hora. En tubos Eppendorf rotulados con el número de la muestra correspondiente, se mezcló 1 μ L de suero y 68 μ L de PBS. Luego, se depositaron 20 μ L de la solución en cada pocillo. En cada portaobjeto se incluyó un control positivo y negativo. Cada portaobjeto fue incubado a 37°C, por 30 minutos en una cámara húmeda. Terminado este proceso, se lavó cada portaobjeto con PBS, luego se sumergieron en PBS por 10 minutos, para después lavarlos con agua bidestilada. Una vez secos, a cada pocillo se le adicionó 20 μ L de suero anti IgG anti-gato marcado con fluoresceína, incluyendo los pocillos controles positivos y negativos. Los portaobjetos fueron nuevamente incubados en la cámara húmeda, repitiendo el proceso de lavado inmersión y secado descrito anteriormente. Una vez secos, se les adicionó una gota de solución de montaje, se cubrieron con cubreobjetos y se almacenaron a temperatura ambiente, en una cámara oscura hasta el momento de la observación, la que se realizó antes de 24 horas.

En la lectura de los portaobjetos, se consideraron reacciones positivas todas las muestras donde se observó fluorescencia de estructura bacilar, color verde manzana (Figura 3).

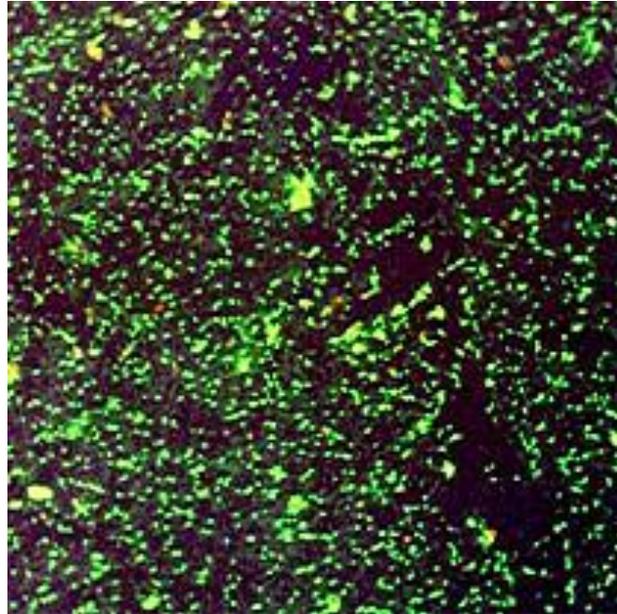


Figura N° 3: Reacción de fluorescencia en una muestra positiva a *B. henselae* mediante IFI.

Análisis estadístico:

Se utilizó el análisis estadístico de Chi cuadrado para determinar si hubo independencia entre seropositividad a *Bartonella henselae* y la presentación de gingivitis.

4. RESULTADOS

De un total de 144 gatos muestreados, 106 gatos, que equivalen al 73,6% del total, resultaron positivos a la prueba de inmunofluorescencia indirecta para *Bartonella henselae* (Figura N°4).

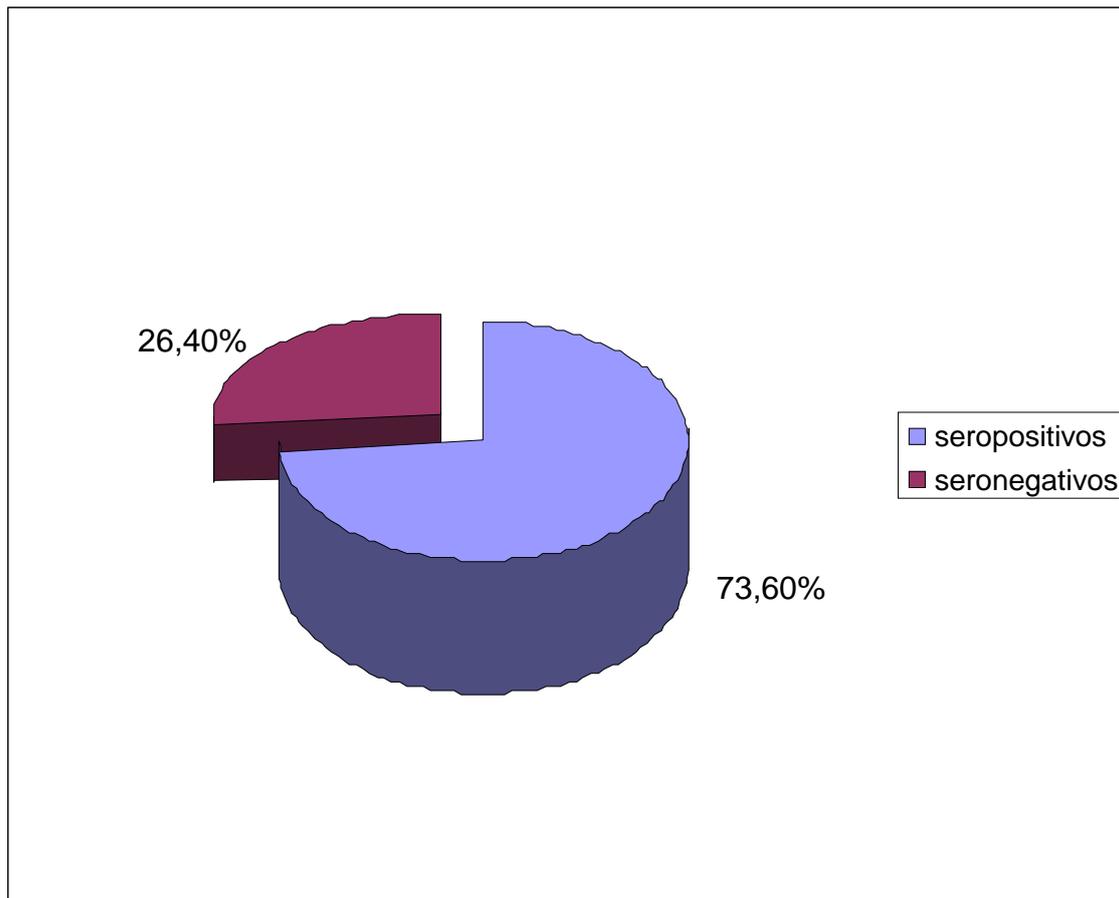


Figura N°4: Gatos positivos y negativos a la prueba de inmunofluorescencia indirecta para *Bartonella henselae*.

De los 72 gatos con gingivitis, el 87,5% de ellos fueron positivos a la prueba de inmunofluorescencia indirecta para *Bartonella. henselae*.

De los 72 gatos sin gingivitis, el 59,72% de ellos fueron positivos a la prueba de inmunofluorescencia indirecta para *Bartonella henselae*.

Con los datos recopilados se realizó una prueba de independencia de Chi cuadrado entre la presentación de gingivitis y la seropositividad a *Bartonella henselae*. Se obtuvo un $X^2 = 14,3$ ($p \leq 0,05$). Con el valor obtenido se determinó que hay asociación entre estas dos variables (Cuadro N°1).

Cuadro N°1: Gatos seropositivo y seronegativos a *Bartonella henselae*, con y sin gingivitis.

Valores Observados	Seropositivos a <i>Bartonella henselae</i>	Seronegativos a <i>Bartonella henselae</i>	Total
	N (%)	N (%)	
Sin Gingivitis	43 (59,72)	29 (40,28)	72
Con Gingivitis	63 (87,5)	9 (12,5)	72
Total	106 (73,6)	38 (26,4)	144

5. DISCUSIÓN

El valor de prevalencia de seropositividad a *Bartonella henselae* encontrado en este estudio, fue de 73,6%, semejante a lo descrito por Baracatt (2007), en la ciudad de Santiago (70%) y por Ballesteros (2000) en la ciudad de Valdivia (71%). Estos valores difieren de otras partes del mundo, como por ejemplo 15,1% encontrado en Japón, por Ueno *et al.*, (1995), el 41% en San Francisco (1994) por Koehler *et al.*, o por Glaus *et al.* (1997), en Suiza, donde obtuvieron una prevalencia de 8,3% para anticuerpos contra *Bartonella henselae*.

Estas variaciones se pueden explicar por las diferencias en los factores climáticos de cada zona geográfica, lo que afecta en la presencia y multiplicación de la pulga del gato, vector de *Bartonella henselae*; siendo éstos, muy favorables en países con alta humedad y temperaturas medias promedio (Pressler, 2005; Brunt, 2006; Chomel, 2006), como en nuestro país.

Sin embargo, Lappin *et al.* (2006), con el objetivo de establecer la prevalencia de ADN de *Bartonella sp*, *Haemoplasma sp*, *Ehrlichia sp*, *Anaplasma phagocytophilum* y *Neorickettsia risticii*, estudiaron 92 gatos y sus pulgas, en 3 regiones de Estados Unidos (Alabama, Maryland y Texas), mediante PCR; encontrando que el 69,6% de los gatos y el 80,4% de sus pulgas reaccionaron positivamente a la prueba para *Bartonella henselae*, valores muy cercanos a los encontrados en los gatos de Santiago de Chile en el presente estudio.

Ferrés *et al.* (2005) describen en su estudio una prevalencia de anticuerpos IgG mediante IFI, a *Bartonella henselae*, del 95,6%, valor que se eleva muy por encima respecto a este estudio y al de Baracatt (2007). Esto puede deberse, a que todos los gatos estudiados en Santiago, en el trabajo de Ferrés *et al.*, eran de hábitos callejeros. Sin embargo, Baracatt que estudió la diferencia entre vida callejera y hogareña, no encontró diferencias significativas entre ambos grupos.

Sólo recientemente se han realizado estudios con el objetivo de encontrar patologías causadas por *Bartonella henselae* en gatos, tales como fiebre, lesiones cutáneas, alteraciones neurológicas, uveítis, enfermedades urinarias, alteraciones

cardiacas y gingivitis entre otras. Hasta la fecha, los únicos trabajos que sugieren como causas de gingivitis a la infección de *Bartonella henselae* en gatos son estudios serológicos realizados en Japón y Europa (Ueno *et al.*, 1996; Glaus *et al.*, 1997).

A pesar de ello, existen estudios que no han logrado encontrar valores con significancia estadística que asocien a *Bartonella henselae* con gingivitis (Dowers y Lappin, 2005; Quimby *et al.*, 2007; Lappin *et al.*, 2009).

En el presente estudio, de los 72 gatos del grupo con gingivitis el 87,5% presentó seroposividad a *Bartonella henselae*, resultado con significancia estadística respecto al grupo control sin gingivitis, por lo tanto se puede concluir que si existe asociación entre la presencia de anticuerpos para esta bacteria y gingivitis en estos pacientes.

Estos resultados concuerdan con lo publicado por Anderson (2003), quien realiza un análisis retrospectivo de sus pacientes con gingivitis, encontrando un 75% de seroposividad a *Bartonella henselae*.

Ueno *et al.* (1996), estudiaron la presencia de linfadenopatía y gingivitis, en gatos con infección mixta de *Bartonella henselae* y el virus de inmunodeficiencia felina (VIF), en 170 gatos, separados en 4 grupos. En el primer grupo con gatos negativos a anticuerpos para ambas enfermedades, obtuvieron un porcentaje de presencia de gingivitis de 5,5%. En el segundo grupo, sólo seropositivo a VIF, la gingivitis se presentó en un 3% de los gatos. En el tercer grupo sólo positivo a anticuerpos *Bartonella henselae* se encontró un 13,6% de gingivitis. En el cuarto grupo con ambas pruebas de anticuerpos positivas, el 42,9% tenía esta enfermedad oral. La comparación de los resultados del 1º y 2º grupos, respecto al 3º, sugieren asociación entre *Bartonella henselae* y la presentación de gingivitis. Si bien, se ha sugerido una mayor seroprevalencia de *Bartonella henselae* en gatos infectados con VIF, en este estudio no se encontró diferencia significativa entre estas variables. Si se observó que en los gatos con pruebas de anticuerpos positivas para ambos microorganismos, existió una mayor presencia de signos clínicos, entre ellos gingivitis. Por lo que se sugiere que *Bartonella henselae* se multiplica más activamente, en el tejido de encías, al estar presente también VIF.

Además, en este estudio de Ueno *et al.* (1996), se observó que en el grupo 3, gatos sólo positivos a la prueba de anticuerpos para *Bartonella henselae*, presentaron un valor más alto de presencia de linfadenopatía y gingivitis (13,6%), en comparación al grupo negativo a los 2 microorganismos y positivo sólo a VIF. A pesar que estos resultados carecen de diferencia estadística, los autores sugieren asociación entre ellos, debido a los mayores porcentajes de signos clínicos encontrados en el grupo positivo a anticuerpos para *Bartonella henselae* y en el grupo seropositivos para ambos microorganismos.

Los resultados obtenidos por Ueno *et al.* (1996), en el grupo 3, gatos sólo positivos a anticuerpos para *Bartonella henselae*, se pueden comparar el grupo con gingivitis y negativos a las pruebas de VIF y ViLeF del presente estudio, el que presentó una seropositividad de 87,5%, valor mucho más alto que el encontrado por Ueno *et al.*, (1996) (13,6%). Esto se puede explicar porque en ese estudio se recolectaron muestras de todo Japón, con diferentes condiciones climáticas, en cambio, en el presente estudio, sólo se muestreó gatos en la ciudad de Santiago de Chile, ciudad con un clima mediterráneo.

Glaus *et al.* (1997), realizaron un estudio en Suiza donde buscaban correlacionar la seropositividad, mediante IFI, a *Bartonella henselae* con la infección de ViLeF, VIF, coronavirus felino y Spumavirus felino. Utilizaron 728 muestras de gatos de diversas regiones de ese país, divididos en 2 grupos: un grupo sano de 304 individuos y uno de 424 gatos enfermos. En este estudio tampoco se logró correlacionar la seropositividad de esta bacteria con la infección de ViLeF y VIF. Además, no encontraron diferencia estadísticamente significativa en la seroprevalencia a esta bacteria entre ambos grupos.

Glaus *et al.* (1997), encontraron que los gatos seropositivos a *Bartonella henselae*, del grupo de gatos con alguna enfermedad, presentaban como patologías más frecuentes gingivitis, problemas renales y urinarios. En este grupo también se encontró una mayor incidencia de coronavirus y Spumavirus felino, por lo que los autores piensan que las anomalías clínicas encontradas podrían explicarse por la coinfección de esta bacteria con uno o más de los virus estudiados.

Dowers y Lappin (2005), realizaron un estudio donde trabajaron con 2 grupos de 34 gatos cada uno, el primer grupo control sano y otro con individuos con gingivitis, ocupando una clasificación para la enfermedad oral similar a la de este estudio. Las muestras se analizaron mediante PCR para identificar la presencia de *Bartonella spp.* y mediante ELISA para determinar la seroprevalencia de anticuerpos para esta bacteria. Los autores de ese estudio encontraron mediante la primera prueba, un valor 8,89% en ambos grupos y con la prueba de ELISA un 58,8% en el grupo control y 67,6% en los gatos con gingivitis. Estos resultados, a diferencia del presente estudio, no presentan diferencia significativa entre las 2 variables, lo que determinó que no había asociación.

Al comparar el estudio de Dowers y Lappin (2005) con el presente trabajo, se encuentra que la prevalencia de anticuerpos para esta bacteria en el grupo de gatos sin gingivitis es muy similar (58,8% y 59,76% respectivamente). En cambio, el grupo con esta enfermedad oral, la diferencia es de 20 puntos porcentuales (67,6% y 87,5% respectivamente), lo que podría explicarse a que el estudio realizado el 2005, trabajó con gatos de diferentes partes de Estados Unidos, con diferentes condiciones climáticas. En cambio en el presente estudio se obtuvieron muestras solo de una zona climática, la ciudad de Santiago de Chile. Además, Dowers y Lappin agregaron similares criterios de distribución geográfica y etaria para la formación de los grupos, a diferencia de la presente investigación, donde sólo se seleccionó a individuos con las pruebas de VIF y ViLeF negativas y mayores de un año de edad.

Quimby *et al.* (2007) realizaron un estudio con 45 gatos, separado en 2 grupos, un grupo con 9 individuos que presentaban gingivitis y el otro con 36 gatos sanos. Los autores buscaban correlacionar la presentación de esta patología con varios agentes etiológicos (*Bartonella spp.*, herpes virus tipo I, calicivirus, leucemia viral felina e inmunodeficiencia viral felina). En el grupo con gingivitis, se encontró mediante ELISA y *Western blot* valores positivos a *Bartonella spp.*, de 44,4% y 22,2%, respectivamente. Estos valores no tuvieron significancia estadística, descartando así, la asociación entre ambas variables. Sin embargo, estos resultados deben ser analizados cuidadosamente, según los propios autores, debido al bajo tamaño de la muestra, sobre todo en el grupo de gatos con gingivitis, a las dificultades de envío y almacenamiento de las muestras, las que fueron tomadas en el día y debieron esperar hasta la noche para se enviadas al centro de almacenamiento, lo que constituye una gran diferencia con este estudio que

trabajó con una muestra mucho mayor y de tamaños equivalentes entre grupos, además de un rápido envío y adecuado almacenaje de las muestras.

Dowers *et al.* (2010), con el propósito de comprobar la asociación entre la presentación de gingivitis en gatos y la infección con calicivirus felino, herpesvirus felino tipo 1 y *Bartonella henselae*, realizaron un trabajo con 2 grupos, el primero con 70 gatos con gingivitis y el segundo con 60 individuos sanos. Sin embargo, dicho estudio no tuvo éxito en demostrar la asociación entre la bacteria y el síndrome oral. En el grupo enfermo se obtuvo un mayor porcentaje (8,8%) de gatos positivo a PCR para *Bartonella henselae*, que el grupo control (0%), pero no hubo diferencias estadísticamente significativas.

Al no ser *Bartonella henselae* la única causa de la gingivitis, en gatos, sino más bien, es uno de los tanto agentes etiológicos que actúan en conjunto para la presentación clínica de esta patología, es necesario, tener en cuenta la posibilidad de infección con esta bacteria, en el momento de instaurar el tratamiento (Anderson, 2003; Gorrel, 2004, Dowers y Lappin, 2005).

A pesar de que existe la sospecha que *Bartonella henselae* es parte de la etiología de varias enfermedades en los gatos, todavía no se encuentra evidencia suficiente como para asociarla a éstas, así como tampoco se puede establecer que la seropositividad a esta bacteria en gatos, sea factor de riesgo de transmisión a humanos (Brunt *et al.*, 2006)

6. CONCLUSIÓN

- La seropositividad encontrada para *Bartonella henselae* en los 72 gatos con gingivitis, mediante la técnica de inmunofluorescencia indirecta, fue de 87,5%.
- En los gatos de este estudio se observó asociación ($p \leq 0,05$) entre las variables gingivitis y seropositividad a *Bartonella henselae*.

7. BIBLIOGRAFÍA

- **Abarca, K.** 1996. Enfermedad del arañazo del gato. Rev Chil Infect. 13: 78-70.

- **Al-Majali, A.** 2004. Seroprevalence of and risk factors for *Bartonella henselae* and *Bartonella quintana* infections among pet cats in Jordan. J Prev Med. 64: 63-71.

- **Anderson, B; Neuman, M.** 1997. Bartonella spp. as emerging human pathogens. Clin Microbiol Rev. 10: 203-219.

- **Anderson, J.** 2003. Diagnósticos y tratamiento de la gingivo-estomatitis en los gatos. WALTHAM Focus. 13: 4-10.

- **Ballesteros, A.** 2000. Detección serológica de *Bartonella henselae* en gatos y sus propietarios en la ciudad de Valdivia. Tesis de grado de Licenciatura en Medicina Veterinaria. Valdivia, Chile. Universidad Austral de Chile, Fac. de Medicina, Instituto de Microbiología Clínica. 31p.

- **Baracatt, P.** 2007. Pesquisa serológica de *Bartonella henselae* en gatos. Memoria para optar al título profesional de Médico Veterinario. Santiago, Chile. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Departamento de Ciencias Clínicas

- **Bergmans, L; Groothedde, J; Schellekens, J; Van Edem, J; Ossewaarde, J; Schouls, L.** 1995. Etiology of cat scratch disease: comparason of polymerase chain reaction detection of *Bartonella* (formely *Rochalimaea*) and *Afipia felis* DNA with serology and skin test. Abstrac **In:** J Infec Dis. 171: 916-923.

- **Berryessa, N; Johnson, L; Kasten, R; Chomel, B.** 2008. Microbial culture of blood samples and serologic testing for bartonellosis in cats with chronic rhinosinusitis. JAVMA. 233: 1084-1089.

- **Brunt, J; Guptill, L; Kordick, D; Kudrak, S; Lappin, M.** 2006. American Association of Feline Practitioners 2006 Panel report on diagnosis, treatment, and prevention of *Bartonella* spp. Infections. J Fel Med Surg. 8: 213-226.

- **Case, J; Chomel, B; Nicholson, W; Foley, J.** 2006. Serological survey of vector-borne zoonotic pathogens in pet cats and cats from animal shelters and feral colonies. *J Feline Med Surg.* 8: 111-117.

- **Chamberlin, J; Laughlin, L; Gordon, S; Romero, S; Solo´rzano, N; Regner R.** 2000. Serodiagnosis of *Bartonella bacilliformis* infection by indirect fluorescence antibody assay: Test development and application to a population in an area of bartonellosis endemicity. *J Clin Microbiol.* 38: 4269-4271.

- **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.

- **Chomel, B; Kasten, R; Floyd-Hawkins, K; Chi, B; Yamamoto, K; Roberts-Wilson, J; Gurfield, A; Abbott, R; Pedersen, N; Koehler, J.** 1996. Experimental Transmission of *Bartonella henselae* by the Cat Flea. *J Clin Microbiol.* 34: 1952-1956.

- **Chomel, B, Chang, C, Kasten, R, Romano, V, Tietze, N.** 2001. Molecular Evidence of *Bartonella* spp. in Questing Adult *Ixodes pacificus* Ticks in California. *J Clinl Microbiol.* 39: 1221-1226.

- **Chomel, B; Chang, C; Hayashidani, H; Pusterla, N; Kasten, R; Madigan, J.** 2002. Investigation of *Bartonella* infection in ixodid ticks from California. *Comp Immunol Microb* 25: 229-236.

- **Chomel, B; Kasten, R; Sykes, J; Boulouis, H; Breitschwerdt, E.** 2003a. Clinical impact of persistent *bartonella* bacteremia in humans and animals. *Ann NY Acad Sci* 990: 267–278.

- **Chomel, B; Wey, A; Kasten, R; Stacy, B; Labelle, P.** 2003b. Fatal Case of Endocarditis Associated with *Bartonella henselae* Type I Infection in a Domestic Cat. *J Clin Microbiol.* 11: 5337-5339.

- **Chomel, B; Boulouis, H; Breitschwerdt, E.** 2004. Cat scratch disease and other zoonotic *Bartonella* infections. JAVMA. 224:1270-1279.

- **Chomel, B; Boulouis, H; Maruyama, S; Breitschwerdt, E.** 2006. *Bartonella spp.* in pets and effect on human health. Emerg Infect Dis, 12:389-394.

- **De Souza, M; Mamizuka, E; Raiz-Júnior, R; Martins de Lima, T; Diogo, C; Okay, T; Hagiwara, M.** 2001. Experimental infection and horizontal transmission of *Bartonella henselae* in domestic cats. Rev Inst Med Trop S Paulo. 43: 257-261.

- **Dowers, K; Lappin, M.** 2005. The association of *Bartonella spp.* infection with chronic stomatitis in cats. Abstract **In:** J Vet Intern Med. 19: 471.

- **Dowers, K; Hawley, J; Brewer, M; Morris, A; Radecki, S; Lappin, M.** 2010. Association of *Bartonella henselae*, feline calicivirus, and feline herpesvirus 1 infection with gingivostomatitis in cats. J Feline Med Surg. 12: 314321.

- **Ferrés, M.; Abarca, K.; Godoy, P.; García, 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 Méd Chile. 133: 1465-1471.

- **Ferrés, M; Abarca, K; Prado, P; Montecinos, L; Navarrete, M; Vial, P.** 2006. Prevalencia de anticuerpos contra *Bartonella henselae* en niños, en adolescentes y en una población de riesgo ocupacional en Chile. Rev Méd Chile. 134: 863-867.

- **Foil, L; Andress, E; Freeland, R; Roy, A; Rutledge, R; Triche, P; O'Reilly, K.** 1998. Experimental infection of domestic cats with *Bartonella henselae* by inoculation of *Ctenocephalides felis* (*Siphonaptera: Pulicidae*) feces. J Med Entomol. 35: 625-628.

- **Fontanelle, J; Powell, C; Hill, A; Radecki, S; Lappin, M.** 2008. Prevalence of serum antibodies against *Bartonella* species in the serum of cats with or without uveitis. J Feline Med Surg. 10: 41-46.

- **Fournier, P; Lelievre, E; Eykyn, S; Mainardi, J; Marrie, T; Bruneel, J; Roure, C; Nash, J; Clave, D; James, E; Benoit-Lemercier, C; Deforges, L; Tissot-Dupont, H; Raoult, D.** 2001. Epidemiologic and clinical characteristics of *Bartonella quintana* and *Bartonella henselae* endocarditis—a study of 48 patients. *Medicine* 80:245–251.

- **Glaus, T; Hofmann-Lehmann, R; Greene, C; Glaus, B; Wolfensberger, C; Lutz, H.** 1997. Seroprevalence of *Bartonella henselae* infection and correlation with disease status in cats in Switzerland. *J Clin Microbiol.* 35: 2883–2885

- **Gorrel, C.** 2004. Periodontal disease. **In:** 21th World Small Animal Veterinary Association. Rhodes, Grecia. Octubre 2004.

- **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.

- **Harley, R; Helps, C; Harbour, D; Gruffydd-Jones, T; Day, M.** 1999. Cytokine mRNA expression in lesions in cats with chronic gingivostomatitis. *Clin Diagn Lab Immunol*, 6: 471-478.

- **Harley, R; Gruffydd-Jones, T; Day, M.** 2003. Salivary and serum immunoglobulin levels in cats with chronic gingivostomatitis. *Vet Rec*, 152: 125-129.

- **Harvey, C; Thornsberry, C; Miller, B.** 1995. Subgingival bacteria-comparison of culture results in dogs and cats with gingivitis. **Abstrac In:** *J Vet Dent.* 12: 147-150.

- **Holmstrom, S; Frost, P; Eisner, E.** 2000. **In:** Técnicas dentales en perros y gatos. 2a edición. McGraw-Hill Interamericana. 2000. México, D.F. Pp 4-16.

- **Kabaya, H; Maruyama, S; Irei, M; Takahashi, R; Yamashita, M; Mikami, T.** 2002. Genomic variations among *Bartonella henselae* isolates derived from naturally infected cats. *Vet Microbiol.* 89: 211-221.

- **Knowles, J; Gaskell, R; Gaskell, C; et al.** 1989. Prevalence of feline calicivirus, feline leukemia virus and antibodies to FIV in cats with chronic stomatitis. *Vet Rec.* 124: 336-338.

- **Knowles, J; McArdle, F; Dawson, S; et al.** 1991. Studies on the role of feline calicivirus in chronic stomatitis in cats. *Abstract In: Vet Microbiol.* 27: 205-219.

- **Koehler, J; Glaser, C; Tappero, J.** 1994. *Rochalimaea henselae* infection: A new zoonosis with the domestic cat as reservoir. *J Am Med Assoc.* 271: 531-535.

- **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.

- **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.

- **Leibovitz, K; Pearce, L; Brewer, M; Lappin, M.** 2007. *Bartonella* species antibodies and DNA in cerebral spinal fluid of cats with central nervous system disease. *J Fel Med Surg.* 10: 332-337.

- **Luria, B; Levya, J, Lappin, M; Breitschwerdt, E; Legendree, A; Hernandezb, J; Gormana, S; Lee, I.** 2004. Prevalence of infectious diseases in feral cats in Northern Florida. *J Feline Med Surg.* 6:287-296.

- **Maturana, M.** 1997. Enfermedad por arañazo de gato. *Rev. Chil Infect.* 166: 101-104.

- **Muñana, R; Vitek, S; Hegarty, B; Kordick, D; Breitschwerdt, E.** 2001. Infection of fetal feline brain cells in culture with *Bartonella henselae*. *Infect Immun.* 1: 564-569.

- **Muñoz, L.** 2005. Pesquisa serológica de *Bartonella henselae* en gatos de Santiago. **In:** XI Congreso Nacional de Medicina Veterinaria. Valdivia, Chile. 25-27. Octubre 2005.

- **Murray, P; Rosenthal, K; Kobayashi, G; Pfaller, M.** 2002. Otros bacilos gramnegativos. **In:** Microbiología Médica. 4ª edición. ELSEVIER. 2002. Madrid. Pp: 320-328.

- **O'Reilly, K; Bauer, R; Freeland, R; Foil, L; Hughes, K; Rohde, K; Roy, K; Stout, R; Triche, P.** 1999. Acute clinical disease in cats following infection with a pathogenic strain of *Bartonella henselae* (LSU16). Infect Immun. 67: 3066-3072.

- **O'Reilly, K; Parr, K; Brown, T; Tedder-Ferguson, B; Scholl, D.** 2001. Passive antibody to *Bartonella henselae* protects against clinical disease following homologous challenge but does not prevent bacteremia in cats. Infect Immun. 69: 1880-1882.

- **Pressler, B.** 2005. *Bartonellosis*. **In:** August, J. Consultations in feline internal medicine. 5ª edición. Intermedica. 2005. Estados Unidos. Pp. 29-37.

- **Quimby, J; Elston, T; Hawley, J; Brewer, M; Miller, A; Lappin, M.** 2007. Evaluation of the association of *Bartonella species*, feline herpesvirus 1, feline calicivirus, feline leukemia virus and feline immunodeficiency virus with chronic feline gingivostomatitis. J Feline Med Surg 10: 66-72.

- **Sims, T; Moncla, B. Page, R.** 1990. Serum antibody responses to antigens of oral gram-negative bacteria by cats with plasma cell gingivitis-pharyngitis. J Dent Res. 69: 877-882.

- **Ueno, H; Muramatsu, Y; Chomel, B; Hohdatsu, T; Koyama, H; Morita, C.** 1995. Seroepidemiological survey of *Bartonella (Rochalimaea) henselae* in domestic cats in Japan. Microbiol Immunol, 39: 339-341.

- **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.

- **VIRCELL, S.L.** *Bartonella henselae* IFA IgG [en línea] <<http://bibliotecas.uchile.cl/servicios/referencias-bibliograficas.pdf>> [consulta: 03 Mayo 2010].

- **Wear, D; Margileth, A; Hadfield, T; Fischer, G; Schlagel, C; King, F.** 1983. Cat scratch disease: a bacterial infection. *Science*, 221: 1403-1405.

8. Anexos

ANEXO 1

Ficha gingivitis:

Fecha: _____

Clínica Veterinaria de procedencia de la muestra:

Nombre paciente: _____

Nº Ficha: _____ Nº Tubo: _____

Dueño: _____

Fono: _____

Grado de gingivitis	Examen clínico oral
Negativo	Sin inflamación de borde gingival ni otros signos de gingivitis
Positivo	Borde gingival completo rojo, inflamado, con edema y leve dolor. Halitosis, ptialismo, Progresión de los signos leves en la encía, incluyendo otras caras (lingual, bucal y palatina) o Inflamación generalizada de la mucosa oral, incluyendo faucitis, anormalidad de las comisuras labiales, se pueden observar ulceraciones de la mucosa, zonas de hemorragia en las encías y restos de alimento en borde de encías y borde interno de labios.

Prueba IFI para *Bartonella henselae* + -

Clasificación: _____

Adaptación índice de Loe y Silness para gingivitis.