

Detección de *Bartonella* spp. en gatos de barrios con necesidades básicas insatisfechas de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires

Detection of *Bartonella* spp. in cats from communities with unmet basic needs from Buenos Aires City

Watanabe, O*^{1,2}; Toytoyndjian, EV*^{1,3}; Staiano, AS¹; Lombardo, MA¹; Dubois, D¹; Leff, FG¹; Simone, M¹; Lugo, MI¹; Pérez Mazzali, MB¹; Pierdomenico, A¹; Zita, A¹; Simonelli, C¹; Díaz Pérez, PM¹; De Salvo, MN¹; Cicuttin, GL¹

¹Instituto de Zoonosis Luis Pasteur- Ministerio de Salud- Gobierno de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires. ²Laboratorio de Leptospirosis, Instituto de Patobiología Veterinaria, CICVyA, INTA-Castelar, Buenos Aires, Argentina. ³Laboratorio de Fisiopatología, Instituto de Fisiología y Biofísica Bernardo Houssay-CONICET, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

*Ambos autores contribuyeron por igual en este trabajo.

RESUMEN

Las especies pertenecientes al género *Bartonella* spp. son importantes patógenos zoonóticos emergentes. A pesar de que algunas de estas especies tienen como principal reservorio al gato, es escasa la información disponible en nuestro país acerca de la circulación de las mismas en estos animales de compañía. En el presente trabajo, se describe la detección molecular de *Bartonella henselae* y *Bartonella clarridgeiae* en muestras de sangre, hisopado oral y pulgas del manto piloso de gatos provenientes de poblaciones con necesidades básicas insatisfechas del sur de la Ciudad de Buenos Aires. El estudio reveló una mayor prevalencia de infección por *B. clarridgeiae* en todas las muestras analizadas. Además, un 31 % de las pulgas muestreadas resultaron positivas, lo que remarca la importancia de su control para impedir la transmisión de esta infección entre estos felinos e indirectamente evitar la enfermedad del arañazo del gato en humanos.

Palabras clave: (*Bartonella*), (gatos), (Ciudad Autónoma de Buenos Aires), (enfermedad del arañazo del gato), (pulgas)

Recibido: 25-08-2020

Aceptado: 11-01-2021

Correspondencia *e-mail*: Gabriel Cicuttin gicuttin@gmail.com

ABSTRACT

Species belonging to the genus *Bartonella* spp. are becoming increasingly important as emerging zoonotic pathogens worldwide. Although many of these species are hosted mainly by cats, there is scarce information about their circulation in these companion animals in Argentina. In this work, we describe the molecular detection of *Bartonella henselae* and *Bartonella clarridgeiae* in different samples (blood, oral swab and fleas) from cats owned by people with unmet basic needs from the southern region of Buenos Aires City. This research revealed a high prevalence of infection by *B. clarridgeiae* in all analyzed samples. Also, 31% of the sampled fleas yielded a positive result, which highlights the importance of their control to prevent the transmission of this infection among cats and indirectly prevent cat-scratch disease in humans.

Keywords: (*Bartonella*), (cats), (Buenos Aires City), (cat-scratch disease), (fleas)

INTRODUCCIÓN

El género *Bartonella* comprende pequeños bacilos polimorfos, gramnegativos, aerobios, intracelulares facultativos y exigentes, con una gran diversidad de reservorios y vectores^{2,16}. Aproximadamente 10 especies y subespecies de *Bartonella* son consideradas patógenas para los humanos. *Bartonella henselae* y *Bartonella clarridgeiae* son agentes causales de la enfermedad por arañazo del gato (EAG) y *Bartonella koehlerae* se ha asociado a endocarditis en humanos²³, y el gato (*Felis catus*) es considerado el reservorio de estas tres especies^{2,23}. La bartonelosis es actualmente considerada una zoonosis emergente de distribución mundial⁸, siendo la zoonosis directa asociada a gatos de mayor frecuencia²⁵.

El principal vector implicado en la transmisión de *B. henselae* y *B. clarridgeiae*, principalmente entre la población felina, es la pulga común del gato *Ctenocephalides felis*. Las bartonelas son capaces de replicar en el tracto digestivo de las pulgas y sobrevivir hasta 3 días en su materia fecal. La principal fuente de infección parece ser la materia fecal de pulgas, la cual es inoculada a través de heridas causadas por el rascado². La transmisión del gato al humano ocurre mayormente a través de mordeduras o arañazos⁷. Los gatos suelen ser asintomáticos, pero permanecen bacteriémicos durante semanas a meses o incluso años, siendo los animales menores de 1 año y callejeros los que tienen mayor probabilidad de presentar bacteriemia.

En caso de cursar con enfermedad clínica, *B. henselae* en los gatos suele asociarse a fiebre, linfadenopatías, estomatitis, signos neurológicos, letargia, gingivitis, uveítis, lesiones renales y cardíacas, entre otros signos⁹.

En Argentina el conocimiento sobre infección por *Bartonella* en animales y vectores es limitado. Se ha descrito *B. henselae* y *Bartonella vinsonii* subsp. *berkhoffii* en perros con valvulopatías⁴ y *B. henselae* y *B. clarridgeiae* en muestras de sangre de gatos de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires (CABA)¹⁰. También se ha detectado *Bartonella* en pulgas *C. felis* colectadas de gatos y perros del noreste argentino y en pulgas *Neotlyphloceras crackensis* colectadas de roedores sigmodontinos de la Patagonia^{12,22,26}. Además se hallaron *Bartonella* spp. en murciélagos *Tadarida brasiliensis* y en distintas especies de roedores de CABA^{11,13}.

El objetivo del presente trabajo fue detectar *Bartonella* spp. en gatos y en pulgas *C. felis* de barrios con necesidades básicas insatisfechas de CABA.

MATERIALES Y MÉTODOS

Durante los años 2015 a 2018, se muestrearon gatos cuyos propietarios accedieron a participar en el estudio (mediante firma del consentimiento informado) que acudieron al servicio de esterilización quirúrgica brindado por la Residencia de Veterinaria en Salud Pública (Instituto de Zoonosis Luis Pasteur).

Los animales procedían de dos áreas con necesidades básicas insatisfechas del sur de CABA ubicadas en los barrios de Villa Lugano y Villa Soldati (34°41'S 58°28'O y 34°40'S 58°27'O, respectivamente). Estas poblaciones se caracterizan por una alta densidad poblacional, tanto de personas como de animales de compañía, lo cual implica un estrecho contacto entre los mismos y los vectores como son los ectoparásitos de los caninos y felinos.

Se obtuvieron los siguientes datos sobre los gatos: sexo (macho/hembra), edad y hábitos de vida (domiciliarios/peridomiciliarios/vagabundos). Se definió como animal domiciliario a aquel que no tenía acceso al exterior, como peridomiciliario al que salía esporádicamente del domicilio y como vagabundo al que habitaba permanentemente en el exterior de la vivienda. Durante el período periquirúrgico, se consignó también el dato de presencia o no de pulgas sobre el manto piloso. Todos los animales intervenidos se encontraban clínicamente sanos.

De cada animal se obtuvo 1 ml de sangre entera por flebotomía yugular (en tubo con anticoagulante EDTA y se conservó a 4 °C), se realizó hisopado de uñas y de cavidad oral, y colecta de pulgas. Los hisopados se conservaron en 200 µl de buffer PBS a 4 °C y las pulgas en etanol al 70 %. Las pulgas se identificaron bajo lupa estereoscópica según las claves taxonómicas¹⁹.

El ADN se extrajo mediante el High Pure PCR Template Preparation Kit (Roche, Mannheim, Germany), según protocolo del fabricante. Las pulgas fueron procesadas de manera individual. El templado de ADN obtenido se sometió a una PCR anidada para la amplificación de un fragmento de 300 pb del gen *gltA* del género *Bartonella*¹⁴. Se utilizó ADN de *B. henselae* como control positivo y agua libre de nucleasas como control negativo.

Los amplicones obtenidos se purificaron usando el Wizard® SV Gel and PCR Clean-Up System (Promega) y se remitieron para su secuenciación en un secuenciador 3500 Genetic Analyzer sequencer (Applied Biosystems, Foster City, USA) en el Servicio de Neurovirosis del Instituto Nacional de Enfermedades Infec-

ciosas-ANLIS Dr. Carlos G. Malbrán. Las secuencias obtenidas se editaron con el programa BioEdit¹⁷ y se compararon con secuencias disponibles en GenBank mediante la herramienta bioinformática BLASTn.

La estadística descriptiva se calculó para todas las variables. La asociación entre dos variables cualitativas dicotómicas se midió mediante chi-cuadrado de Pearson y, en los casos con frecuencias esperadas menores a 5, con el estadístico exacto de Fisher. La estimación de riesgo se realizó mediante la razón de momios *-odds ratio-* (OR). Para estimar la asociación entre dos variables cualitativas politómicas u ordinales se utilizó chi-cuadrado de Pearson y, en los casos con frecuencias esperadas menores a 5, la razón de verosimilitudes. La significación estadística se basó en un valor de $p < 0,05$.

El presente estudio se realizó conforme a los principios emanados de la ley nacional 25.326/2000 (Protección de los datos personales) (69), la ley de CABA 3.301/2009 (Protección de Derechos de Sujetos en Investigaciones en Salud) y la Declaración de Helsinki (1964) de la Asociación Médica Mundial y actualizaciones posteriores. También estuvo conforme a los “Principios rectores internacionales aplicables a las investigaciones biomédicas con animales” del Consejo de Organizaciones Internacionales de las Ciencias Médicas aprobado por el Comité Consultivo de Investigaciones Médicas de la Organización Mundial de la Salud (1985), las “Normas Internacionales para la investigación biomédica con animales” de la Organización Panamericana de la Salud (1990) y el Título 7: “Bienestar de los animales” del Código Sanitario para los Animales Terrestres de la Organización Mundial de Sanidad Animal (2011). El proyecto contó con la aprobación del Comité de Docencia e Investigación del Instituto de Zoonosis Luis Pasteur.

RESULTADOS

Se muestrearon 52 gatos entre 6 meses y 5 años de edad, 40,4 % fueron machos, 94,2 % de raza común europeo, 59,6 % presentaba hábitos peridomiciliarios y 19,2 % hábitos domiciliarios

(en 17,4 % de los casos no se obtuvo ese dato). El 57,7 % de los animales presentó infestación por pulgas al momento del muestreo y se logró colectar 32 pulgas de 20 animales (38,5 %). Todas las pulgas fueron identificadas como *C. felis*.

Ocho gatos (15,4 %) resultaron positivos a la PCR de la sangre para *Bartonella* spp., mientras que sólo un animal (1,9 %) arrojó un resultado positivo en el hisopado oral. Además, 10 pulgas (31,2 %) colectadas de 9 animales fueron positivas para *Bartonella* spp. (Tabla 1). Se logró secuenciar el 100 % de las muestras amplificadas. La comparación de las secuencias obtenidas reveló que 2/8 positivos en sangre tenían un 100 % de identidad entre sí y con *B. henselae* cepa Houston (KF133830), mientras que 6/8 presentaban 100 % de identidad entre sí y con *B. clarridgeiae* cepa Kyoto (AB674237). La secuencia obtenida de la muestra positiva al hisopado oral fue idéntica a *B. clarridgeiae* cepa Kyoto (AB674237). En las secuencias obtenidas desde las pulgas se encontró 9/10 idénticas entre sí y con *B. clarridgeiae* cepa Kyoto (AB674237) y 1/10 idéntica a *B. henselae* cepa Houston (KF133830) (Tabla 1).

Un solo animal resultó positivo en sangre, hisopado oral y pulgas colectadas (aunque con distintas especies de *Bartonella*), mientras que 4 gatos fueron positivos en sangre y en sus pulgas (todos a *B. clarridgeiae*). Por otra parte, cinco gatos que tenían pulgas positivas, resultaron negativos en sangre e hisopados (Tabla 2).

No se encontró asociación estadística entre los factores de riesgo analizados (edad, sexo, hábitos, presencia de pulgas) y positividad a *Bartonella* en sangre. Tampoco se encontró asociación estadística entre tener pulgas positivas y positividad a *Bartonella* en sangre.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

En este trabajo reportamos la circulación de *B. henselae* y *B. clarridgeiae* en los gatos y sus pulgas en poblaciones de bajos recursos socioeconómicos de CABA.

Las prevalencias obtenidas son similares a las encontradas por otros autores^{10,15,21,24}, aunque se encontró mayor cantidad de muestras sanguíneas positivas a *B. clarridgeiae* que a *B. henselae* (5 y 3, respectivamente). En un estudio previo realizado en CABA en gatos se detectó *B. henselae* (11,9 %) y *B. clarridgeiae* (5,9 %)¹⁰. En Brasil, se ha descrito la presencia de *B. henselae*, *B. clarridgeiae* y *B. vogeli*, en orden decreciente de abundancia, en gatos a lo largo de todo el territorio^{3,6,20}. No se encontró infección mixta en el mismo tipo de muestra del mismo animal, pero sí en distintos tipos de muestras del mismo animal (ID F31), lo cual coincide con la descripción de otros autores^{5,7,8,23}.

Es importante resaltar que la mayor prevalencia fue obtenida en las muestras de *C. felis* (31,2 %), lo cual remarca el papel que juegan las pulgas en la diseminación y mantenimiento de esta enfermedad entre los felinos. A su vez,

Tabla 1. Infección por *Bartonella* spp. según tipo de muestra analizada.

Tipo de muestra	n	Muestras positivas (%)	Especie de <i>Bartonella</i> (n)
Sangre entera	52	8 (15,4)	<i>B. henselae</i> (2) ^a y <i>B. clarridgeiae</i> (6) ^b
Hisopado oral	52	1 (1,9)	<i>B. clarridgeiae</i> ^c
Hisopado ungueal	52	0 (0)	-
Pulgas <i>Ctenocephalides felis</i>	32*	10 (31,2)	<i>B. henselae</i> (1) ^d y <i>B. clarridgeiae</i> (9) ^e

*Colectadas de 20 animales.

Las secuencias representativas obtenidas para el fragmento *gluA* del género *Bartonella* fueron depositadas en la base de datos GenBank con los siguientes números de acceso: a) MT892677; b) MT892679; c) MT892680; d) MT892681; e) MT892678.

Tabla 2. Detalle de resultados positivos para cada felino muestreado y especies de *Bartonella* spp. identificadas en cada muestra.

ID Felino	Sangre entera	Hisopado oral	Hisopado ungueal	Pulgas <i>Ctenocephalides felis</i>	
				n	Resultado
F2	<i>B. clarridgeiae</i>	Negativo	Negativo	4	Negativo
F12	<i>B. henselae</i>	Negativo	Negativo	0	-
F17	<i>B. henselae</i>	Negativo	Negativo	0	-
F25	<i>B. clarridgeiae</i>	Negativo	Negativo	1	Negativo
F29	Negativo	Negativo	Negativo	1	<i>B. clarridgeiae</i>
F30	<i>B. clarridgeiae</i>	Negativo	Negativo	2	<i>B. clarridgeiae</i> (1)
F31	<i>B. henselae</i>	<i>B. clarridgeiae</i>	Negativo	2	<i>B. clarridgeiae</i> (2)
F33	Negativo	Negativo	Negativo	3	<i>B. clarridgeiae</i> (1)
F40	<i>B. clarridgeiae</i>	Negativo	Negativo	0	-
F42	<i>B. clarridgeiae</i>	Negativo	Negativo	1	<i>B. clarridgeiae</i>
F45	Negativo	Negativo	Negativo	2	<i>B. clarridgeiae</i> (1)
F46	Negativo	Negativo	Negativo	1	<i>B. clarridgeiae</i>
F47	Negativo	Negativo	Negativo	1	<i>B. clarridgeiae</i>
F52	Negativo	Negativo	Negativo	1	<i>B. henselae</i>

se logró detectar la presencia tanto de *B. henselae* como de *B. clarridgeiae*, lo cual aumenta el rango de especies detectadas en estos insectos en Argentina. Esto pone de manifiesto que el control de estos ectoparásitos es la mejor forma de prevenir la infección en los gatos^{8,23} y, por ende, la exposición de los humanos. Actualmente, el tratamiento antibiótico de los gatos asintomáticos es controversial en su eficacia para eliminar el estado de bacteriemia, por lo que no es recomendado^{7,25}.

Todas las muestras ungueales resultaron negativas mientras que 1 muestra oral resultó positiva. Trabajos realizados en España y Estados Unidos encontraron *B. henselae* y *B. clarridgeiae* tanto en hisopados orales como ungueales; en estos dos estudios los gatos muestreados eran adultos y de hábitos callejeros o de refugio, es decir, animales sin tenedor responsable^{1,18}.

La detección de *B. henselae* y *B. clarridgeiae* en gatos y pulgas de poblaciones vulnerables resalta la importancia de monitorear la circulación de este tipo de patógenos zoonóticos en las poblaciones animales y en los artrópodos vectores que conviven tan estrechamente con las po-

blaciones humanas. Resulta necesario concienciar a los tenedores de animales de compañía sobre el tratamiento y control de ectoparásitos de sus animales y del ambiente, para prevenir ésta y otras zoonosis.

BIBLIOGRAFÍA

1. Alamán Valtierra, M.; Valencia, M.M.; Fuertes Negro, H.; *et al.* Epidemiología molecular de *Bartonella henselae* en gatos callejeros y de albergue en Zaragoza, España. *Revista Española de Salud Pública*. 2016; 90:e1-e11.
2. Anda, P.; Blanco R.R.; Jado, I.; *et al.* Diagnóstico microbiológico de las infecciones por patógenos bacterianos emergentes: *Anaplasma*, *Bartonella*, *Rickettsia*, *Tropheryma whipplei*. En <https://seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia27.pdf> consultado 15 de agosto 2019.
3. André, M.R.; Dumler, J.S.; Herrera, H.M.; *et al.* Assessment of a quantitative 5' nuclease real-time polymerase chain reaction using the nicotinamide adenine dinucleotide dehydrogenase gamma subunit (nuoG) for *Bartonella* species in domiciled and stray cats in Brazil. *Journal of Feline Medicine and Surgery*. 2016; 18(10):783–90.

4. Belerenian, G.; Pucheta, C.; Hall, P.; *et al.* Primer reporte en Latinoamérica de coinfección por *Bartonella henselae* y *Bartonella vinsonii* subespecie *berkhoffi* en lesión valvular aórtica por endocarditis canina: XII Congreso Nacional de la Asociación de Veterinarios Especializados en Animales de Compañía de Argentina. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Agosto 22-24, 2012. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Asociación de Veterinarios Especializados en Animales de Compañía de Argentina.
5. Bergmans, A.M.; de Jong, C.M.; van Amerongen, G.; *et al.* Prevalence of *Bartonella* species in domestic cats in The Netherlands. *Journal of Clinical Microbiology*. 1997; 35(9):2256-61.
6. Braga, M.S.C.; Diniz, P.P.V.P; André, M.R.; *et al.* Molecular characterisation of *Bartonella* species in cats from São Luís, state of Maranhão, north-eastern Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*. 2012; 107(6):772-7.
7. Breitschwerdt, E.B. Feline bartonellosis and cat scratch disease. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 2008; 123(1-2):167-71.
8. Chomel, B.B.; Boulouis, H.J.; Breitschwerdt, E.B. Cat scratch disease and other zoonotic *Bartonella* infections. *J Am Vet Med Assoc*. 2004; 224(8):1270-9.
9. Chomel, B.B.; Boulouis, H.J.; Maruyama, S.; *et al.* *Bartonella* spp. in pets and effect on human health. *Emerg Infect Dis*. 2006; 12(3):389-94.
10. Cicuttin, G.L.; Brambati, D.F.; De Gennaro, M.F.; *et al.* *Bartonella* spp. in cats from Buenos Aires, Argentina. *Veterinary Microbiology*. 2014; 168(1):225-8.
11. Cicuttin, G.L.; De Salvo, M.N.; La Rosa, I.; *et al.* *Neorickettsia risticii*, *Rickettsia* sp. and *Bartonella* sp. in *Tadarida brasiliensis* bats from Buenos Aires, Argentina. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*. 2017; 52:1-5.
12. Cicuttin G.L.; De Salvo M.N.; Sánchez J.; *et al.* Molecular detection of *Bartonella* in fleas (Hexapoda, Siphonaptera) collected from wild rodents (Cricetidae, Sigmodontinae) from Argentina. *Medical and Veterinary Entomology*. 2019; 33(4):541-545.
13. De Salvo M.N.; Hercolini C.; Arístegui E.; *et al.* *Bartonella* spp. associated with rodents in an urban protected area, Buenos Aires (Argentina). *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*. 2020; 72.
14. Gil H.; García-Esteban C.; Barandika J.F.; *et al.* Variability of *Bartonella* genotypes among small mammals in Spain. *Appl. Environ. Microbiol*. 2010; 76:8062-70.
15. Gurfield, A.N.; Boulouis, H.J.; Chomel, B.B.; *et al.* Epidemiology of *Bartonella* infection in domestic cats in France. *Veterinary Microbiology*. 2001; 80(2):185-98.
16. Gutiérrez, R.; Krasnov, B.; Morick, D.; *et al.* *Bartonella* infection in rodents and their flea ectoparasites: an overview. *Vector borne and zoonotic diseases*. 2015; 15(1):27-39.
17. Hall T.A. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucl. Acids Symp. Ser.* 1999; 41:95-8.
18. Lappin M.; Hawley J. Presence of *Bartonella* species and *Rickettsia* species DNA in the blood, oral cavity, skin and claw beds of cats in the United States. *Veterinary dermatology*. 2009; 20(5-6):509-14.
19. Lareschi M.; González A.; de Villalobos C. Capítulo 12: Siphonaptera – Pulgas. En: Artrópodos de Interés Médico en Argentina. Fundación Mundo Sano. Buenos Aires, 2005: 85-9.
20. Malheiros, J.; Costa, M.M.; do Amaral, R.B.; *et al.* Identification of vector-borne pathogens in dogs and cats from Southern Brazil. *Ticks and Tick-borne Diseases*. 2016; 7(5):893-900.
21. Müller, A.; Walker, R.; Bittencourt, P.; *et al.* Prevalence, hematological findings and genetic diversity of *Bartonella* spp. in domestic cats from Valdivia, Southern Chile. *Parasitology*. 2017; 144(6):773-82.
22. Oscherov, E.; Milano, A.; Lobo, B.; *et al.* Detection of *Anaplasma platys* and other pathogens in ectoparasites from urban hosts in Northeast Argentina. *Rev. Ibero-Latinoam. Parasitol*. 2011; 70(1):42-8.
23. Regier, Y.; O'Rourke, F.; Kempf, V.A.J. *Bartonella* spp. - a chance to establish One Health concepts in veterinary and human medicine. *Parasites Vectors*. 2016; 9:261.
24. Sander, A.; Bühler, C.; Pelz, K.; *et al.* Detection and identification of two *Bartonella henselae* variants in domestic cats in Germany. *Journal of Clinical Microbiology*. 1997; 35(3):584-7.
25. Tuzio, H.; Edwards, D.; Elston, T.; *et al.* Feline zoonoses guidelines from the American Association of Feline Practitioners. *Journal of Feline Medicine and Surgery*. 2005; 7(4):243-74.
26. Urdapilleta, M.; Cicuttin, G.L.; De Salvo, M.N.; *et al.* Molecular detection and identification of *Bartonella* in the cat flea *Ctenocephalides felis felis* collected from companion animals in a border area in northeastern Argentina. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*. 2020; 19.