

Bartonelose: análise molecular e sorológica em gatos do Rio de Janeiro – Brasil

Bartonellosis: molecular and serological analysis in cats from Rio de Janeiro – Brazil

Aline Moreira de Souza,* Daniele Nunes Peixoto de Almeida,** Alexsandro Guterres,** Rafael Gomes,**
Alexsandra Rodrigues de Mendonça Favacho,** Namir dos Santos Moreira,*** Letícia Mendes Puppio Maia,***
Tatiana Rozental,** Rodolpho de Almeida Torres Filho,**** Aloysio de Mello Figueiredo Cerqueira,*****
Elba Regina Sampaio de Lemos,** Nádia Regina Pereira Almosny*

Resumo

Bartonella henselae e mais recentemente *B. quintana* têm sido apontados como agentes causais de diversas moléstias em humanos, entre as quais a doença da arranhadura do gato, endocardite, meningoencefalite e neuroretinite, podendo levar ao óbito, principalmente os imunocomprometidos. O gato doméstico é considerado o principal animal envolvido na transmissão destes patógenos. Constituiu-se objetivo deste estudo a avaliação da frequência de *Bartonella* spp. em gatos domésticos domiciliados do município de Vassouras (RJ) comparando-se os achados na reação em cadeia pela polimerase (PCR) e na sorologia por imunofluorescência indireta (IFA). Amostras sanguíneas de 37 (100%) gatos de um abrigo da cidade de Vassouras (RJ) foram analisadas, sendo 36 (97,3%) positivas na PCR para *Bartonella* spp. Das amostras PCR positivas, nove (25%) e 27 (75%) apresentaram, respectivamente, reatividade e ausência de reatividade ao IFA. Apenas uma (2,7%) amostra de sangue foi concomitantemente negativa na PCR e IFA para *Bartonella* spp. Este é o primeiro registro de infecção por *Bartonella* spp. em felinos domésticos no estado do Rio de Janeiro (Brasil) identificada por análise molecular e sorológica, o que nos permite concluir que este agente zoonótico está presente em alta frequência em gatos domésticos do município de Vassouras (RJ).

Palavras-chave: bartonelose, frequência, felinos.

Abstract

Bartonella henselae and *B. quintana* have been pointed as causal agents of many diseases in humans, and can lead to death, mainly immunodeficient people. Domestic cat is considered the unique animal in transmission of these pathogens. The purpose of this study was to evaluate the frequency of *Bartonella* spp. in domestic cats from Vassouras city (RJ) by polymerase chain reaction (PCR) and indirect immunofluorescence test assay (IFA) and compare the results. Blood samples from 37 (100%) domestic cats from a shelter of Vassouras city (RJ) were analyzed and 36 (97.3%) were considered positive by polymerase chain reaction (PCR). The indirect immunofluorescence test assay (IFA) revealed 9 (25.0%) and 27 (75.0%) of that PCR positive samples showed, respectively, reaction and absence of reaction to IFA. Only one sample (2.7%) was negative in PCR and IFA. This is the first communication of *Bartonella* spp. infection in domestic cats in Rio de Janeiro State (Brazil) identified by molecular and serological assays, thus it can be concluded that this zoonotic agent is present in high frequencies in domestic cats from Vassouras city (RJ).

Keywords: bartonellosis, frequency, feline.

Introdução

Membros do gênero *Bartonella* são organismos do subgrupo alfa-2 da classe das Proteobacterias, família Bartonellaceae, cujo cultivo é extremamente complexo (Breitschwerdt e

Kordick, 2000; Fenollar e Raoult, 2004; Wikswo et al., 2007). A maioria destas bactérias são bacilos que se aderem a eritrócitos ou células endoteliais (Breitschwerdt e Kordick, 2000). Mais de 23 espécies e subespécies são reconhecidas neste gênero até o momento, sendo que a maioria foi

* Departamento de Patologia e Clínica Veterinária – Faculdade de Veterinária – Universidade Federal Fluminense. Rua Vital Brazil Filho, 64. Niterói, RJ. CEP 24230-340.

** Laboratório de Hantavírus e Rickettsioses – Instituto Oswaldo Cruz/FIOCRUZ

*** Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária – Clínica e Reprodução Animal – Universidade Federal Fluminense.

**** Departamento de Zootecnia – Faculdade de Veterinária – Universidade Federal Fluminense.

***** Departamento de Microbiologia – Instituto Biomédico – Universidade Federal Fluminense.

A quem enviar a correspondência: Aline Moreira de Souza – alinemoireiras@gmail.com

reclassificada recentemente (Brenner et al., 1993), saindo dos gêneros *Rochalimea* e *Granhamella*. Entre elas, *B. bacilliformis*, *B. quintana*, *B. vinsonii* subsp. *berkhoffii*, *B. henselae*, *B. elizabethae*, *B. grahamii*, *B. washoensis*, *B. koehlerae*, *B. clarridgeiae*, *B. rochalimae* e *B. tamiiae* são apontadas como agentes causais de moléstias em seres humanos (Chomel et al., 2006; Lamas et al., 2008a; Breitschwerdt, 2008; Mogollon-Pasapera, 2009).

Infecções por *Bartonella* spp. em humanos podem determinar inúmeras moléstias, entre as quais doença da arranhadura do gato (DAG), endocardite, encefalopatia e meningite asséptica. *Bartonella henselae* é o principal agente causal, mas *B. quintana* também tem sido apontada com frequência como agente causal destas moléstias em humanos. Algumas destas doenças podem ser letais, principalmente em pacientes imunocomprometidos (Chomel et al., 2006; Lamas et al., 2008a; Mogollon-Pasapera, 2009).

Felinos domésticos e selvagens são considerados o principal reservatório de *B. henselae*, *B. koehlerae* e *B. clarridgeiae* por vários autores (Kordick et al., 1999; Breitschwerdt e Kordick, 2000; Lamas et al., 2008 a; Breitschwerdt, 2008; Mogollon-Pasapera, 2009), sendo ainda apontados como reservatório potencial de *B. quintana* (Breitschwerdt et al., 2007).

A transmissão de *B. henselae* ocorre através de arranhadura, mordedura ou contato com a saliva do gato doméstico portador. Pulgas da espécie *Ctenocephalides felis* são descritas como vetores naturais, pois, quando infectadas, eliminam a bactéria viável nas fezes, que contaminarão as patas e dentes do felino, possibilitando a transmissão (Breitschwerdt e Kordick, 2000; Zanutto et al., 2001; Lappin et al., 2006). No entanto, comprovando a complexidade da sua manutenção na natureza, o material genético de *Bartonella* spp. também já foi isolado de carrapatos de vários gêneros (Wikswa et al., 2007; Mogollon-Pasapera, 2009).

A bacteremia em gatos domésticos infectados pode ocorrer por um período variável ou ser intermitente. Gatos portadores apresentam-se assintomáticos ou com poucos sinais clínicos. Experimentalmente, febre, letargia, anorexia, linfadenopatia regional e miocardite, entre outras, já foram observados e a gravidade dos sinais clínicos foi determinada pela cepa de *B. henselae* inoculada (Zanutto et al., 2001; FÉRRES et al., 2005; BREITSCHWERDT, 2008).

O diagnóstico de infecção por *Bartonella* spp. pode ser realizado através de cultura, microscopia eletrônica, teste sorológico e molecular. O diagnóstico através de cultura é laborioso e pode demorar de uma semana a 56 dias, além de requerer condições adequadas de biossegurança, o que dificulta a sua utilização na prática clínica. (Breitschwerdt e Kordick, 2000; Zanutto et al., 2001; Fenollar e Raoult, 2004). Quanto aos testes sorológicos, a IFA é o método mais frequentemente utilizado e, assim como o ensaio imunoenzimático (ELISA), se encontra comercialmente disponível, embora não seja possível através desta técnica discriminar a espécie de *Bartonella* que causou a infecção (Zanutto et al., 2001). A reação em cadeia pela polimerase (PCR) permite o diagnóstico rápido e seguro de infecções causadas por organismos para os quais a cultura pode ser extremamente difícil, como é o caso da *Bartonella* spp., além de permitir a diferenciação entre as espécies (Fenollar e Raoult, 2004).

Nos últimos 20 anos, estudos sobre a prevalência de *Bartonella* spp. em humanos, felinos e outras espécies animais têm aumentado em diferentes regiões do mundo (Case et al., 2006; Lappin et al., 2006; Solano-Gallego et al., 2006; Diniz et al., 2007; Lamas et al., 2008 a). No Brasil, embora existam poucos estudos sobre o assunto, pesquisa realizada no município de São Paulo por Silhessarenko e colaboradores (1996) mostrou que 46% dos gatos domésticos testados pelo IFA foram positivos para anticorpos contra *B. henselae*. Loureiro (1999), utilizando IFA, identificou, respectivamente, 16% e 26,5% de positividade nas amostras analisadas de gatos domésticos de São Paulo para anticorpos de *B. henselae* e de *B. quintana*. Desconhecemos a existência de estudos de prevalência através da PCR em gatos domésticos, até o momento, no Brasil.

Constituiu objetivo deste estudo a avaliação da frequência de *Bartonella* spp. em gatos domésticos domiciliados do Município de Vassouras (RJ), através da PCR e sorologia, comparando-se os achados e considerando o crescimento da população felina e a sua importância na epidemiologia das bartoneloses.

Material e métodos

Amostras

Após consentimento dos proprietários e aprovação no Comitê de Ética de Pesquisa com Animais (CEPA), amostras de sangue de 37 (100%) gatos domésticos de um abrigo do município de Vassouras (RJ) foram analisadas neste estudo preliminar. Todos os animais eram adultos, 18 machos e 19 fêmeas, sem raça definida, clinicamente sadios e não apresentavam ectoparasitas, embora tivessem histórico anterior de ectoparasitismo. Os animais não tinham acesso ao exterior do abrigo. Após contenção mecânica, 3,0 mL de sangue foram coletados assepticamente por venipunção jugular ou cefálica de cada animal. Dois mililitros de sangue foram acondicionados em tubo estéril contendo anticoagulante EDTA e um mL em tubo estéril sem anticoagulante. As amostras de soro e sangue total foram armazenadas a - 20°C até o processamento.

Análise molecular – PCR

A análise molecular foi realizada no Laboratório de Hantavírus e Rickettsioses do Instituto Oswaldo Cruz (LHR), seguindo os protocolos previamente estabelecidos e validados (Anderson et al., 1994; Avidor et al., 1997; Lamas et al., 2007), descritos brevemente a seguir. O DNA foi obtido a partir de 0,1 mL de sangue com EDTA usando um *kit* comercial (*GFX Genomic blood DNA purification kit, GE Healthcare, Piscataway, NJ, EUA*), de acordo com o protocolo descrito pelo fabricante. O DNA extraído foi amplificado com o par de *primers* CAT-1 (GATTC AATTGGTTTGAAGGAGGCT) e CAT-2 (TCACATCACCAGGACGTATTC), para amplificação de um fragmento de 414 pares de base da proteína de choque térmico de 60-kDa para *B. henselae* e *B. quintana*. A mistura para a PCR (volume total de 25 µL) foi composta por 5 µL de DNA, 2,5 µL de tampão de PCR 10X, 0,8 µM de cada *primer* (IDT/ Prodinol, Belo Horizonte, MG), 200 µM de cada nucleotídeo, e 0,65 U de *Taq* polymerase (Platinum *Taq*, Invitrogen, Carlsbad, CA, EUA). O termociclador automático

2400 (Applied Biosystem, Foster City, CA, EUA) foi programado para desnaturação de 95°C por 5 minutos (min), seguida por 40 ciclos de 94°C por 1 min, anelamento a 50°C por 1 min, e extensão a 72°C por 1 min. A amplificação foi completa na temperatura de 72°C por 7 min para permitir a total extensão dos produtos da PCR. Cada PCR incluiu DNA extraído de *B. henselae* como controle positivo e água nucleasase free (Promega, Madison, WI, EUA) como controle negativo para verificar a ausência de contaminação pelo DNA. Para confirmar a amplificação, os produtos obtidos foram separados através de eletroforese em gel de agarose a 1% corado com 3µL de solução de brometo de etídio (10mg/ml para 100ml de gel). A eletroforese foi realizada em tampão TBE 1X a 5V/cm e os produtos de amplificação foram visualizados em gel, sob luz ultravioleta, utilizando sistema de fotodocumentação Universal Hood II, programa Quantity one 4.6 (BioRad, Segrate, Itália). Para permitir o cálculo do tamanho dos fragmentos foi utilizado o padrão de tamanho de DNA 100 pb (Invitrogen, Carlsbad, CA, EUA) em cada gel. A PCR foi considerada positiva a partir da identificação de uma banda de 414 pares de base.

Análise sorológica – IFA

A análise sorológica foi realizada no LHR, utilizando IFA com antígeno *B.henselae* (Bion™, USA), seguindo o protocolo do referido laboratório de acordo com as recomendações do fabricante, com um ponto de corte para considerar a amostra reagente ou não reagente de 1:64. Uma única amostra foi analisada, uma vez que o objetivo foi analisar exposição ao micro-organismo. Amostras apresentando reações fortes, após uma triagem de 1:64, foram progressivamente diluídas a 1:64, 1:128, 1:256, 1:512, e 1:1024 em tampão salina fosfato até seu “end-point”. A intensidade da fluorescência específica foi avaliada subjetivamente (com escores de 1 a 4) e o título de anticorpos foi definido pela principal diluição com escore 2.

Análise estatística

Os dados foram submetidos a análise descritiva, onde foram calculados os percentuais de positividade obtidos por cada método de diagnóstico. O índice *Kappa* (k) de concordância foi aferido entre as técnicas de PCR e IFA.

Resultados e discussão

Das 37 (100%) amostras analisadas, 36 (97,3%) foram positivas na PCR (Figura 1). Destas 36 (100%) amostras positivas pela PCR, nove (25%) foram positivas também no IFA, 27 (75%) não apresentaram anticorpos anti-*Bartonella* e apenas uma amostra foi concomitantemente negativa na PCR e na IFA.

As frequências de amostras PCR positivas encontradas neste estudo foram elevadas em relação às frequências encontradas para *Bartonella* spp. em felinos domésticos utilizando-se a mesma técnica diagnóstica em outras regiões do mundo. A altíssima frequência encontrada (97,3%) provavelmente é resultante do fato de os animais estarem confinados no mesmo recinto / abrigo. Assim, a proximidade faz aumentar o risco de contágio, seja direto (através da inoculação do agente por arranhaduras ou mordeduras entre

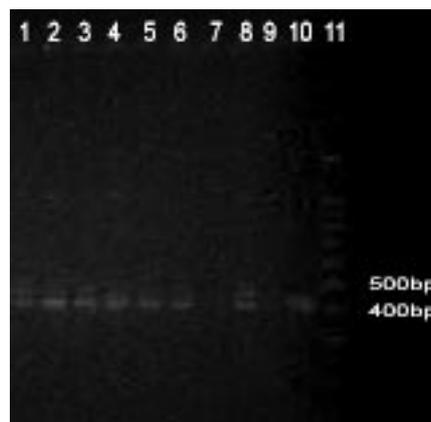


Figura 1: Gel de agarose a 1,5% corado por brometo de etídio, de amostras de gatos domésticos do estado do Rio de Janeiro – Brasil, utilizando pimer Cat 1 e Cat 2 para a detecção da proteína de choque térmico de 60 kDa para *B. henselae* e *B. quintana* com banda esperada de 414 pares de base (bp). Poços de 1 a 6 e 8 amostras positivas; poço 7 amostra negativa; poço 9 controle negativo e poço 10 controle positivo para *Bartonella* spp. Poço 11 padrão de peso molecular (100 bp Invitrogen).

os animais) ou indireto (através de vetores artrópodes) (Al-Majali et al., 2004; CASE et al., 2006). Entretanto, esta alta frequência para *Bartonella* spp. em animais de abrigos não foi encontrada por Bergmans et al. (1997) em felinos na Holanda e isto foi relacionado com o clima temperado do país, que torna difícil a propagação do vetor. Embora os animais estivessem utilizando ectoparasiticida no momento da coleta, todos tinham histórico anterior de infestação por pulgas, o que aumentaria o risco de infecção.

A frequência de 25% de sororreagentes para *Bartonella* spp. encontrada em gatos domésticos neste estudo é semelhante à descrita por Loureiro (1999) em felinos domésticos de São Paulo (16% para *Bartonella henselae* e 26,5% para *B. quintana*). Al-Majali et al (2004) encontraram valores de soroprevalência próximos aos encontrados neste estudo para *B. henselae* em felinos domésticos da Jordânia (32%), assim como Luria et al. (2004) de 33,6% em felinos domésticos da Flórida (EUA) e Case et al. (2006), de 14,7% em felinos domésticos da Califórnia.

Entretanto, a frequência observada neste estudo é inferior à prevalência de 46% encontrada por Shessarenko et al., (1996) também em felinos domésticos de São Paulo e à prevalência encontrada por outros autores referenciados em felinos domésticos sadios, como 85,6% no Chile (Férres et al., 2005), 71,4% na Espanha (Solano-Gallego et al., 2006) e 70,1% nos EUA (Pearce et al., 2006).

A baixa concordância entre os resultados obtidos com a IFA e com a PCR neste estudo ($k=0,0177$) mostra a baixa eficiência de um método em relação ao outro. Apesar de amplamente utilizada como ferramenta diagnóstica, a IFA pode ser negativa em casos de infecção recente na qual não seja possível a detecção de anticorpos, por tempo insuficiente para indução da síntese destes (Lamas et al., 2008b), o que pode ter ocorrido com os animais avaliados. Apesar de pouco provável e de não ter sido objetivo deste estudo, não se pode descartar a possibilidade também de uma imunossupressão com conseqüente deficiência na síntese de anticorpos contra a bactéria, conforme sugerido por Molia et al. (2004) e Hackett et al. (2006).

Estudos realizados por autores nos Estados Unidos e África do Sul reforçam os resultados obtidos (Pretorius et al., 1999; Hackett et al., 2006). Considerando que a amplificação do DNA de *Bartonella* spp. do sangue de felino através de PCR prova que este animal estava infectado pelo micro-organismo no momento da coleta (Hackett et al., 2006), Pretorius et al. (1999) descreveram em seu estudo com felinos domésticos da África do Sul que, enquanto nenhum dos animais apresentou anticorpos para *B. henselae*, uma sequência idêntica à *B. henselae* (Houston-1) foi identificada em um destes animais. Posteriormente, Molia et al. (2004) também reportaram ausência de anticorpos para *Bartonella* spp. em três felídeos selvagens com bacteremia confirmada por cultura e PCR. Os autores relataram como possíveis razões para a ausência de resposta sorológica a imunossupressão, especialmente pelo vírus da imunodeficiência felina, a coleta do soro em estágios iniciais de infecção ou a ausência de reação cruzada entre as espécies. Hackett et al (2006) afirmaram que resultados sorológicos falso-negativos para *Bartonella* spp. podem ocorrer, principalmente no início da infecção.

Agradecimentos

À FAPERJ e CAPES, pelo auxílio financeiro, e à Maria Angélica Monteiro de Mello Mares-Guia (LHR – FIOCRUZ) pelo auxílio na edição da fotografia.

Referências

AL-MAJALI, A.M. Seroprevalence of and risk factors for *Bartonella henselae* and *Bartonella quintana* infections among pet cats in Jordan. *Prev. Vet. Med.*, v. 64, p. 63-71, 2004.

ANDERSON, B.; SIMS, K.; REGNER, R.; ROBINSON, L.; SCHMIDT, M.J.; GORAL, S.; HAGER, C.; EDWARDS, K. Detection of *Rochalimaea henselae* DNA in Specimens from Cat Scratch Disease Patients by PCR. *J. Clin. Microbiol.*, v. 32, n. 4, p. 942-948, 1994.

AVIDOR, B.; KLETTER, Y.; ABULAFIA, S.; GOLAN, Y.; EPHROS, M.; GILADI, M. Molecular Diagnosis of Cat Scratch Disease: a Two-Step Approach. *J. Clin. Microbiol.*, v. 35, n. 8, p. 1924-1930, 1997.

BERGMANS, A.M.; de JONG, C.M.; van AMEROGEN, G.; SCHOT, C.S.; SCHOLUS, L.M. Prevalence of *Bartonella* species in domestic cats in The Netherlands. *J. Clin. Microbiol.*, v. 35, n. 9, p. 2107-2113, 1997.

BREITSCHWERDT, E.B.; KORDICK, D.L. *Bartonella* infection in animals: carriership, reservoir potential, pathogenicity, and zoonotic potential for human infection. *Clin. Microbiol. Reviews*, v. 13, n. 3, p. 428-438, 2000.

BREITSHWERDT, E.B.; MAGGI, R.G.; SIGMON, B.; NICHOLSON, W.L. Isolation of *Bartonella quintana* from a human and a cat following putative bite transmission. *J. Clin. Microbiol.*, v. 45, n. 1, p. 270-272, 2007.

BREITSCHWERDT, E.B. Feline bartonellosis and cat scratch disease. *Vet. Immun. Immunopat.*, v. 15, n. 123 (1-2), p.167-171, 2008.

BRENNER, D.J.; O'CONNOR, S.; WINKLER, H.H.; STEIGERWALT, A.G. Proposals to unify the genera *Bartonella* and *Rochalimaea*, with descriptions of *Bartonella quintana* comb. nov., *Bartonella vinsonii* comb. nov. and to remove the family Bartonellaceae from the order Rickettsiales. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, v. 43, p. 777-786, 1993.

CASE, J.B.; CHOMEL, B.B.; NICHOLSON, W.; FOLEY, J.E. Serological survey of vector-borne zoonotic pathogens in pet cats and cats from animal shelters and feral colonies. *J. Fel. Med. Surg.*, v. 8, n. 2, p. 111-117, 2006.

Este é o primeiro estudo no Brasil a utilizar a técnica molecular para identificar a infecção por *Bartonella* spp. em felinos domésticos. No entanto, maiores estudos são necessários com diferentes populações de gatos e em diferentes regiões do estado do Rio de Janeiro para, entre outros objetivos, possibilitar a identificação das espécies de *Bartonella* circulantes assim como as taxas de prevalência e contribuir com a vigilância desta zoonose desconhecida e subestimada no Brasil e no mundo.

Conclusão

Os resultados apresentados confirmam a elevada frequência de infecção por *Bartonella* spp. em felinos domésticos mantidos em abrigo no município de Vassouras/RJ. Devido à baixa associação entre os resultados dos métodos diagnósticos utilizados, recomendamos o uso da PCR em vez da sorologia para diagnóstico da exposição/infecção por *Bartonella* spp.

CHOMEL, B.B.; BOULOUIS, H.J.; MARUYAMA, S.; BREITSHWERDT, E.B. *Bartonella* spp. in pets and effect on human health. *Emerg. Infect. Dis.*, v. 12, n. 3, p. 389-394, 2006.

COSTA, P.S.G.; BRIGATTE, M.E. & GRECO, D.B. Antibodies to *Rickettsia rickettsii*, *Rickettsia typhi*, *Coxiella brunetti*, *Bartonella henselae*, *Bartonella quintana*, and *Ehrlichia chaffeensis* among healthy population in Minas Gerais, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v. 100, n. 8, p. 853-859, 2005.

DINIZ, P.P.; MAGGI, R.G.; SCHWARTZ, D.S.; CADENAS, M.B.; BRADLEY, J.M.; HE-GARTY, B.; BREITSCHWERDT, E.B. Canine bartonellosis: serological and molecular prevalence in Brazil and evidence of co-infection with *Bartonella henselae* and *Bartonella vinsonii* subsp. *berkhoffii*. *Vet. Res.*, v. 38, p. 697-710, 2007.

FÉRRES, M.G.; ABARCA, K.V.; GODOY, P.M.; GARCIA, P.C.; PALAVECINO, E.R.; MENDEZ, G.R.; VÁLDES, A.O.; ERNST, S.M.; THIBAUT, J.L.; KOBERG, J.; CHANQUEO, L.C.; VIAL, P.A.C.; Presencia de *Bartonella henselae* en gatos: cuantificación del reservorio natural y riesgo de exposición humana de esta zoonosis en Chile. *Rev. Méd. Chile*, v. 133, p. 1465-1471, 2005.

FENOLLAR, F.; RAOULT, D. Molecular genetic methods for the diagnosis of fastidious microorganisms. *A.P.M.I.S.*, v. 112, p. 785-807, 2004.

HACKETT, T.B.; JENSEN, W.A.; LEHMAN, T.L.; HOHENHAUS, A.E.; CRAWFORD, P.C.; GIGER, U.; LAPPIN, M.R. Prevalence of DNA of *Mycoplasma haemofelis*, *Candidatus Mycoplasma haemominutum*, *Anaplasma phagocytophilum*, and species of *Bartonella*, *Neorickettsia* and *Ehrlichia* in cats used as blood donors in the United States. *J. Am. Med. Assoc.*, v. 229, n. 5, p. 700-705, 2006.

KORDICK, D.L.; BROWN, T.T.; SHIN, K.; BREITSCHWERDT, E. B. Clinical and pathologic evaluation of chronic *Bartonella henselae* or *Bartonella clarridgeiae* infection in cats. *J. Clin. Microbiol.*, v. 37, n. 5, p. 1536-1547, 1999.

LAMAS C.; FAVACHO A.; ROZENTAL T.; BÓIA M.N.; RAMOS R.G.; SANTOS M.S.; FERRAIUOLI G.I.; WEKSLER C.; LEMOS E.R.S. *Bartonella* native valve endocarditis: the first brazilian case alive and well. *Braz. J. Infect. Dis.*, v. 11, n.6, p.591-594, 2007.

- LAMAS, C.; CURI, A.; BÓIA, M.N.; LEMOS, E.R.S. Human bartonellosis: seroepidemiological and clinical features with an emphasis on data from Brazil - A Review. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v. 103, n. 3, p. 221-235, 2008a.
- LAMAS C.; FAVACHO A.; RAMOS R.G.; SANTOS M.S.; KIRSTEN, A.H.; GUTERRES, A.; BARREIRA, J.D.; LEMOS E.R.S. Characterization of *Rickettsia rickettsii* in a case of fatal spotted fever in the city of Rio de Janeiro. *Braz. J. Infect. Dis.*, v. 12, n. 2, p. 149-151, 2008b.
- LAPPIN, M.R.; GRIFFIN, B.; BRUNT, J.; RILEY, A.; BRUNEY, D.; HAWLEY, J.; BREWER, M.M.; JENSEN, W.A. 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.*, v. 8, n. 2, p. 85-90, 2006.
- LOUREIRO, V.S. *Pesquisa de anticorpos anti-Bartonella henselae e anti-Bartonella quintana em felinos domiciliados na cidade de São Paulo, através da técnica de imunofluorescência indireta*. 1999. 69 f. Dissertação (mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Universidade de São Paulo, 1999.
- LURIA, B.J.; LEVY, J.K.; LAPPIN, M.R.; BREITSCHWERDT, E.B.; LEGENDRE, A.M.; HERNANDEZ, J.A.; GORMAN, S.P.; LEE, I.T. Prevalence of infectious diseases in feral cats in northern Florida. *J. Fel. Med. Surg.*, v. 6, p. 287-296, 2004.
- MOGOLLON-PASAPERA, E.; OTVOS JR, L.; GIORDANO, A.; CASSONE, M. *Bartonella*: emerging pathogen or emerging awareness? *Int. J. Inf. Dis.*, v. 13, p. 3-8, 2009.
- MOLIA, S.; CHOMEL, B.B.; KASTEN, R.W.; LEUTENEGGER, C.M.; STEELE, B.R.; MARKER, L.; MARTENSON, J.S.; KEET, D.F.; BENGIS, R.G.; PETERSON, R.P.; MUNSON, L. O'BRIEN, S.J. Prevalence of *Bartonella* infection in wild African lions (*Panthera leo*) and cheetahs (*Acynonyx jubatus*). *Vet. Microbiol.*, v. 10, p. 31-41, 2004.
- PRETORIUS, A.M.; KELLY, P.J.; BIRTLES, R.J.; RAOULT, D. Isolation of *Bartonella henselae* from a serologically negative cat in Bloemfontein, South Africa. *J.S. Afr. Vet. Assoc.*, v. 70, n. 4, p.154-155, 1999.
- SLHESSARENKO, N.; CAMARGO, M.C.G.O.; DÀURIA, S.R.N. Soroprevalência de *Bartonella henselae* em gatos do município de São Paulo. *Rev. Soc. Bras. Med. Tropic.*, v. 29; p.104,1996.
- SOLANO-GALLEGO, L.; HEGARTY, B.; ESPADA, Y.; LIULL, J.; BREITSCHWERDT, E. Serological and molecular evidence of exposure to arthropod-borne organisms in cats from northeastern Spain. *Vet. Microbiol.*, v. 16, 2006.
- WIKSWO, M.E.; HU, R.; METZGER, M.E.; EREMEEVA, M.E. Detection of *Rickettsia rickettsii* and *Bartonella henselae* in *Rhipicephalus sanguineus* ticks from California. *J. Med. Entomol.*, v. 11, n. 1, p. 158-162, 2007.
- ZANUTTO, M.S.; MAMIZUKA, E.M.; RAIZ-JÚNIOR, R.; LIMA, T.M.; DIOGO, C.L.; OKAY, T.S.; HAGIWARA, M.K. Experimental infection and horizontal transmission of *Bartonella henselae* in domestic cats. *Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo*, v. 43, n. 5, p. 257-261, 2001.