

## ***Bartonella henselae*: Nuevo Patógeno en Humanos**

WILLIAM CORNEJO<sup>1</sup> y HUGO VIZCARRA<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Departamento Académico de Microbiología Médica y <sup>2</sup>Programa Especial de Bartonelosis,  
Instituto de Medicina Tropical "Daniel A. Carrión", Facultad de Medicina - UNMSM.

### **RESUMEN**

*Bartonella henselae* ha sido recientemente reconocida como agente infeccioso de cuatro síndromes clínicos: angiomatosis bacilar, peliosis bacilar, fiebre y bacteremia, y la enfermedad del arañazo del gato. La bacteria ha sido aislada y completamente caracterizada. La aplicación de nuevas metodologías que aíslan, amplifican y analizan el ADN de *B. henselae* han ayudado a resolver los problemas de identificación y diagnóstico, así como están redefiniendo nuestra comprensión de algunos de los síndromes ocasionados por la bacteria. En los últimos años se ha reconocido que la población en riesgo para las infecciones por *B. henselae* se ha extendido de los adultos infectados con el virus de la inmunodeficiencia humana a pacientes inmunocomprometidos por trasplante y, luego, a adultos inmunocompetentes y niños. En este artículo se hace una revisión de la microbiología de la bacteria, la epidemiología, la presentación clínica y el tratamiento de los procesos infecciosos ocasionados por *B. henselae*. Además, se presenta información sobre la respuesta inmunitaria del hospedero y sobre los métodos de diagnóstico e identificación de la bacteria. El propósito de esta revisión es suministrar la información necesaria para estimular la búsqueda de *B. henselae* en pacientes peruanos.

*Palabras claves:* *Bartonella*; *Angiomatosis*; *Peliosis Hepática*; *Enfermedad de Arañazo de Gato*.

### ***Bartonella henselae*: A NEW PATHOGEN FOR HUMANS**

#### **SUMMARY**

*Bartonella henselae* has recently been recognized as etiological agent of four clinical syndromes: bacillary angiomatosis, bacillary peliosis hepatis, relapsing fever with bacteremia, and cat-scratch disease. The bacterium has been isolated and fully characterized. Application of newer technologies that isolate, amplify and analyze the *B. henselae* DNA has helped to solve identification and diagnostic problems, and they are redefining our understanding of a few of the clinical syndromes caused by this microorganism. Over the last years, it has been recognized that population at risk for *B. henselae* infections has expanded from adults infected with human immunodeficiency virus to transplant patients and, later, immunocompetent adults and children. This article reviews recent information about bacteriological and epidemiological aspects of *B. henselae*, clinical presentation and treatment of various manifestations of *B. henselae* infections. In addition, it also summarizes the currently available data on the immune response of human host and methods to diagnose and identify the bacterium. The purpose of this review is to supply information for stimulating the search of *B. henselae* among peruvian patients.

*Key words:* *Bartonella*; *Angiomatosis*; *Peliosis Hepatis*; *Cat-scratch Disease*.

---

#### *Correspondencia:*

Biol. William Cornejo Medina  
Departamento Académico de Microbiología Médica  
Facultad de Medicina. UNMSM.  
Av. Grau 755. Lima 1, Perú  
E-mail: d100678@sanfer.unmsm.edu.pe

## NOMENCLATURA

Durante un tiempo los géneros *Bartonella* y *Rochalimaea* estuvieron clasificados en familias diferentes, sin embargo, el análisis de la secuencia del gen del ARNr de 16S, el nuevo estándar de oro para el descubrimiento de las relaciones filogenéticas entre microorganismos <sup>(1)</sup>, llevó a Brenner y col. a proponer la unificación de los dos géneros <sup>(2)</sup>. El análisis de las secuencias nucleotídicas para el citado gen de *Bartonella bacilliformis* y los aislados y especies de *Rochalimaea* demostró una homología mayor al 97% <sup>(3-6)</sup>. Por eso, actualmente en la mayoría de las publicaciones periódicas se reconoce a *Bartonella henselae* como una de las once especies válidas dentro del género *Bartonella* (Tabla Nº 1).

## ASPECTOS HISTÓRICOS

A principios de 1992, dos grupos de investigadores, dirigido uno por Russell Regnery de los CDC, Atlanta, y el otro por David Welch del Centro Médico de Oklahoma, en la ciudad del mismo nombre, describieron una nueva especie bacteriana patógena para el hombre, a la cual denominaron *Rochalimaea henselae*, que ocasionaba fiebre prolongada con bacteremia y lesiones vasculares proliferativas <sup>(5,6)</sup>. Previamente, en 1990,

David Relman y sus asociados <sup>(3)</sup> utilizando la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) lograron amplificar fragmentos del gen que codifica para el ARNr de 16S bacteriano directamente de material de biopsia de cuatro pacientes con angiomas bacilar (AB). La secuencia de 480 pares de bases obtenida del gen ARNr de 16S de una de las muestras, denominada cepa BA-TF, fue comparada con secuencias similares de otras eubacterias, encontrándose mayor similitud con *Rochalimaea quintana* (98,3%), *Brucella abortus* (95,7%), y *Agrobacterium tumefaciens* (93,5%). La estrecha similaridad entre BA-TF y *R. quintana*, organismo cultivable, sugirió que el nuevo patógeno podría ser cultivado in vitro bajo condiciones apropiadas de cultivo. Simultáneamente con el trabajo de Relman, Leonard Slater y col. <sup>(7)</sup> dieron a conocer el aislamiento de un organismo semejante a *Rochalimaea* a partir de muestras de sangre de pacientes inmunocomprometidos e inmunocompetentes, y Luke Perkocho y sus asociados describieron la presencia de bacilos pleomórficos con la coloración de Warthin-Starry en lesiones hepáticas de pacientes con el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA). Al año siguiente, un estudio colaborativo entre los tres grupos de trabajo demostró que los agentes etiológicos de las tres infecciones fueron indistinguibles cuando se compararon las secuencias parciales del gen que codifica para el ARNr de 16S <sup>(9)</sup>, y se postuló que se trataba del mismo microorganismo.

**Tabla Nº 1.-** Principales especies patógenas de Bartonella.

Especies	Enfermedad	Vector	Reservorio	Distribución geográfica
<i>B. henselae</i>	Angiomatosis bacilar, fiebre con bacteremia, enfermedad del araño del gato, peliosis bacilar.	Pulgas (?)	Gatos, perros (?)	Mundial
<i>B. bacilliformis</i>	Bartonelosis (enfermedad de Carrión, fiebre de La Oroya, verruga peruana).	Lutzomyia ("titira")	Humanos	América del Sur
<i>B. quintana</i>	Fiebre de las trincheras, angiomatosis bacilar, endocarditis, peliosis bacilar.	Piojos	Humanos	América del Norte, Asia, Europa, África, América del Sur (?).

Posteriormente, el aislamiento y subcultivo del microorganismo de lesiones de pacientes con bacteremia, peliosis bacilar y angiomatosis bacilar<sup>(5,6)</sup>, permitió su caracterización como una nueva especie y fue denominada *Rochalimaea* (= *Bartonella*) *henselae* en honor a Diane M. Hensel, microbióloga clínica que ha contribuido mucho al aislamiento e identificación de los aislados de la nueva especie.

### LA BACTERIA

El examen microscópico de *B. henselae* revela bacilos gramnegativos, pequeños, ligeramente curvados, de 0,5 - 0,6 µm de ancho y 2 µm de largo<sup>(5,7)</sup>. Los cultivos primarios se realizan sobre agar BHI, agar tripticosa soya y agar Columbia suplementados con sangre de carnero al 5%, agar infusión de corazón conteniendo sangre de conejo al 5% y agar chocolate preparado con medio base GC<sup>(5,6)</sup>, todos los medios provenientes de la casa Becton Dickinson (BBL). Las placas deben usarse dentro de las siguientes 2-3 semanas de preparadas<sup>(5,6)</sup>. El crecimiento de los aislados sobre los medios de cultivo es de 5 a 15 días, con un promedio de 9 a 10 días de incubación. Las colonias de los cultivos primarios son heterogéneas, rugosas, en forma de coliflor, firmes, adherentes y embebidas en la superficie de agar<sup>(5)</sup>. Luego de varios pasajes de las colonias en los medios de cultivo, el tiempo de incubación para su visualización disminuye a 3-4 días<sup>(5,7)</sup>. La bacteria crece mejor entre 30-37°C en presencia de 5-10% de CO<sub>2</sub>, pero no crece anaeróbicamente o a temperaturas de 25 ó 42°C<sup>(5,6)</sup>.

La bacteria es bioquímicamente inerte, excepto para las peptidasas<sup>(5,6)</sup>. Los sustratos de las peptidasas que resultaron degradados fueron: leucilglicina, prolina, fenilalanina, arginina, serina<sup>(5)</sup>, alanina, lisilalanina, arginilarginina, glicilarginina, glicilglicina<sup>(6)</sup> y glicina<sup>(5,6)</sup>; sin embargo, no todos los aislados de *B. henselae* pudieron ser diferenciados de *B. quintana* sobre la base de especificidad para estos sustratos<sup>(6)</sup>.

La composición de ácidos grasos de *B. henselae* ha sido determinada por cromatografía de gases<sup>(5,7)</sup>. Los principales ácidos grasos encontrados fueron: ácido octadecenoico (C<sub>18:1</sub>, 48-58%), ácido octadecanoico (C<sub>18:0</sub>, 18-26%) y ácido hexadecanoico (C<sub>16:0</sub>, 16-23%); un patrón de ácidos grasos muy similar al encontrado en *B. quintana* y *B. vinsonii*, pero diferente al de *B. bacilliformis* y que excluye la posibilidad de identidad con casi todas las otras bacterias, excepto las especies del género *Brucella*.

### EPIDEMIOLOGÍA

Los estudios epidemiológicos han implicado a los gatos, en particular los gatos jóvenes, como el principal reservorio natural de *B. henselae*<sup>(10-15)</sup>. El papel de los gatos en la transmisión de la bacteria que ocasiona la enfermedad del arañazo del gato (EAG) reveló que los pacientes con la enfermedad resultaron tener más probabilidad que los controles de haber sido arañados o mordidos por un gato, tener un gato joven de 12 meses o menos, y tener al menos uno de esos gatos infestados con pulgas<sup>(11)</sup>. El estudio para investigar los factores ambientales de riesgo para la AB demostró una asociación epidemiológica significativa entre una historia reciente de arañazo o mordedura por un gato y el desarrollo de AB<sup>(12)</sup>. No hubo otro factor ambiental asociado con la enfermedad. La relación entre el contacto con gatos y la adquisición de EAG o AB fue confirmada al aislarse e identificarse a *B. henselae* de la sangre de un número significativo de gatos domésticos que tuvieron contacto con los pacientes<sup>(13,14)</sup>. La mayoría de los gatos infectados son asintomáticos, pero en algunos animales la infección ha sido asociada con enfermedad<sup>(13,16)</sup>. Estos y otros estudios<sup>(11,12,15-19)</sup> identifican al gato como el principal reservorio de *B. henselae* y probablemente también como el principal vector (por arañazo o mordedura) de la bacteria para los humanos. Sin embargo, la detección de ADN de *B. henselae* en las pulgas encontradas sobre gatos con bacteremia<sup>(13,20)</sup> y la demostración de la transmisión experimental de la bacteria entre gatos por medio de la pulga del gato *Ctenocephalides felis*, pero no en ausencia de pulgas<sup>(20)</sup>, sugieren que *B. henselae* puede ser transmitida por el gato hacia el hombre a través de las pulgas. Recientemente, se ha demostrado que las subespecies de *B. henselae* encontradas en tres pacientes con AB-peliosis fueron las mismas encontradas en los gatos a los que los pacientes estuvieron expuestos<sup>(21)</sup>, lo cual indicaría una transmisión directa de *B. henselae* por la pulga de los gatos infectados a sus propietarios.

Aunque inicialmente *B. henselae* fue aislada sólo en pacientes norteamericanos, paulatinamente ha ido aumentando el número de países que reportan el aislamiento o la detección de la bacteria<sup>(22-27)</sup>, lo cual sugiere su distribución mundial. En nuestro país aún no se ha reportado la bacteria en casos humanos o en gatos, más probablemente porque no se le ha buscado o por el empleo de técnicas inadecuadas. Recientemente, Arias-Stella y col.<sup>(28)</sup> reportaron el primer caso de

AB en el Perú en un paciente con SIDA que desarrolló lesiones nodulares en piel y conjuntiva bulbar. El diagnóstico se basó en el estudio histopatológico de las lesiones y en la demostración de bacilos con la técnica de Warthin-Starry. Aunque el antecedente de haber estado en contacto con gatos sugiere que la bacteria causante de las lesiones es *B. henselae*, sería necesaria su identificación por técnicas de biología molecular para confirmar la presunción inicial, dado que la AB puede ser ocasionada tanto por *B. henselae* como por *B. quintana* (29).

### INMUNOLOGÍA

La infección por *B. henselae* puede ocasionar una variada presentación clínica que va desde la linfadenopatía hasta la enfermedad sistémica. La severidad y presentación de la enfermedad está relacionada con la competencia inmunológica del individuo. En pacientes inmunocompetentes, la presentación clínica de la infección es EAG (30,31). En pacientes inmunocomprometidos, la infección se manifiesta como AB, peliosis bacilar, bacteremia persistente o endocarditis (8,9,32-36). Sin embargo, hay reportes de enfermedad sistémica en pacientes inmunocompetentes (5-7,12,36-38). Asimismo, la EAG también ha sido posible encontrarla en pacientes con SIDA (39).

Numerosos reportes dan cuenta en forma anecdótica de la relación que hay entre la gravedad de la presentación clínica y el estado inmunitario de los pacientes (5-7,13,29,40-45). Sin embargo, son pocos los estudios sistemáticos sobre la enfermedad y la respuesta inmunitaria del hospedero. En un estudio de 16 niños diagnosticados con EAG, se observó un aumento de la transformación linfocitaria al antígeno bacteriano cuando su respuesta fue comparada con los controles (46). Este hallazgo, así como la histología granulomatosa y la reacción cutánea positiva al antígeno bacteriano (30,47), sugiere un papel importante de la inmunidad mediada por células en la EAG. Sin embargo, estos resultados no excluyen el papel potencial que pueden jugar otros mecanismos de la respuesta inmunitaria. Se ha reportado (48) un predominio de la IgG<sub>1</sub> contra *B. henselae* en pacientes con EAG, lo cual sugiere una actividad opsonizante aumentada, así como la capacidad de activación del sistema del complemento. Asimismo, la detección de IgA secretoria en el suero de los pacientes con EAG podría indicar una inmunidad local contra la bacteria (48).

En un extenso estudio del tipo casos y controles llevado a cabo para identificar signos, síntomas y datos de laboratorio significativos asociados con la AB, se reveló que pacientes infectados con el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) con la enfermedad bacteriana estuvieron más inmunocomprometidos (mediana del número de CD4+: 21/mm<sup>3</sup>) que los controles (mediana de CD4+: 186/mm<sup>3</sup>), y sólo dos (6%) de los pacientes tuvieron recuentos de linfocitos CD4+ menores de 200/mm<sup>3</sup> (49), lo cual sugiere que la AB se presenta más frecuentemente en los estadios tardíos de la infección por VIH. Otro estudio reportó la ausencia de diferencias significativas en el recuento de linfocitos CD4+ (<200/mm<sup>3</sup>) entre los pacientes VIH positivos infectados con *B. henselae* que desarrollaron AB y sus controles (VIH positivos sin AB) (21). Las diferencias en los resultados de los dos estudios podrían deberse a que incluyeron pacientes con SIDA en diferente estado de evolución de la enfermedad, evidenciado por el número de linfocitos CD4+/mm<sup>3</sup> [21/mm<sup>3</sup> (49) en comparación con 55/mm<sup>3</sup> (21)].

La capacidad de *B. henselae* de causar enfermedad en pacientes sanos e inmunocompetentes revela que su capacidad patológica no sólo depende de la competencia inmunológica de los afectados. En un estudio de 5 pacientes infectados con *B. henselae* (4 desarrollaron AB y 1 desarrolló esplenitis), la evaluación inmunológica reveló una respuesta inmunitaria humoral y celular normal (37), lo cual indicaría que la diferencia de virulencia entre las cepas de *B. henselae* podría ser también responsable de la variada presentación clínica. Algunos estudios han aportado alguna evidencia que apoyan esta hipótesis. Mediante el empleo de técnicas de biología molecular se obtuvo sólo dos variantes de *B. henselae* provenientes de 27 muestras de pacientes con EAG (23), mientras que otro reporte reveló hasta seis variantes de *B. henselae* provenientes de un paciente con AB (50), lo cual indica que las cepas de *B. henselae* que causan AB en personas inmunocomprometidas son más heterogéneas que las cepas que causan EAG en pacientes inmunocompetentes.

### MANIFESTACIONES CLÍNICAS

Recientes avances en el desarrollo de nuevas técnicas han permitido conocer que *B. henselae* es la causa de una gran diversidad de síndromes clínicos como: AB, peliosis bacilar del hígado (*peliosis hepatis* bacilar) y del bazo, bacteremia, endocarditis y EAG.

### Angiomatosis bacilar

La AB es una enfermedad vascular proliferativa a menudo asociada a la piel, pero que también puede diseminarse a otros órganos. La enfermedad se presenta más comúnmente en los pacientes infectados con VIH (32,33,40,51,52), y en receptores de órganos trasplantados (7), pudiendo afectar también a pacientes inmunocompetentes (12,13,21,37).

La principal dificultad en el diagnóstico de la angiomatosis bacilar cutánea (ABC) es la diversa presentación de las lesiones (29,53). Las lesiones cutáneas son papulares y rojas, de superficie lisa o corroída (32-34,53,54) y las pápulas pueden aumentar poco a poco de tamaño hasta formar nódulos, los cuales pueden llegar a ser pedunculados (33,53) y tienden a sangrar profusamente cuando son traumatizados. El número de lesiones puede ser único pero más generalmente son múltiples (35,53). El diagnóstico clínico diferencial de las lesiones cutáneas debe incluir el sarcoma de Kaposi, granuloma piógeno, tumores subcutáneos, angiosarcoma, verruga peruana e infecciones causadas por *Mycobacterium kansasii* y por hongos como *Coccidioides immitis*, *Histoplasma capsulatum* y *Sporothrix schenckii* (33,35,53,55). La distinción clínica entre el sarcoma de Kaposi y la AB puede ser muy difícil en los pacientes infectados con el VIH, por lo que debería emplearse la biopsia para distinguir ambas entidades (35). En cambio, la manifestación cutánea crónica de la infección por *B. bacilliformis*, llamada verruga peruana, origina lesiones cutáneas que clínica e histológicamente semejan aquellas de la AB (56), lo que no permite diferenciarlas entre sí (53) (Figura Nº 1). Sin embargo, la AB se diferencia de la bartonelosis en que generalmente no incluye fiebre o ésta es moderada (29,33,40,51) y no provoca anemia hemolítica similar a la ocasionada por la fiebre de la Oroya (primera fase de la bartonelosis) (21,32).

La AB puede tener manifestaciones extracutáneas, afectando las mucosas respiratoria y gastrointestinal (33), así como órganos que incluyen hígado y bazo (3,6,8,41), médula ósea y nódulos linfáticos (39), músculos, huesos (29,34) y el sistema nervioso central (35). La enfermedad diseminada generalmente se presenta con síntomas constitucionales tales como fiebre y pérdida de peso.

### Peliosis bacilar del hígado

Esta enfermedad se caracteriza por una proliferación de espacios hepáticos llenos de sangre rodeados



**Fig. Nº 1.-** Apariencia clínica de la angiomatosis bacilar cutánea ocasionada por *Bartonella henselae* (o *B. quintana*) (derecha) y de la verruga peruana producida por *Bartonella bacilliformis* (izquierda).

Nótese la gran similitud en ambos procesos angioblásticos.

de estroma fibromixoideo, en el que se puede observar bacterias bacilares (53,54). La enfermedad puede presentarse como una condición aislada o puede desarrollarse concomitantemente con la ABC o una bacteremia (35). Clínicamente se presenta con síntomas gastrointestinales (náuseas, vómitos, diarrea o distensión abdominal), fiebre, escalofríos y hepatoesplenomegalia (8,53,54). La asociación entre peliosis bacilar hepática y *B. henselae* ha sido documentada mediante el cultivo de la bacteria de la sangre de un paciente con probada peliosis hepatis (9).

### Bacteremia

Esta manifestación de la infección por *B. henselae* se caracteriza por el desarrollo de una prolongada sintomatología que incluye malestar, fatiga, anorexia, pérdida de peso y fiebre recurrente (6,7,57). Los síntomas se pueden presentar por semanas a meses antes que el diagnóstico se realice por el aislamiento de la bacteria en cultivos de sangre. Se ha descrito este tipo de enfermedad en pacientes con SIDA (46), pacientes con otro tipo de inmunosupresión (6,7) y en pacientes inmunocompetentes (6,7,44).

### Endocarditis

*B. quintana* (58), *B. henselae* (57) y *B. elizabethae* (59) son las tres especies de *Bartonella* que han sido asociadas con endocarditis bacteriana; sin embargo,

la endocarditis más frecuente se debe a *B. quintana* en pacientes sin infección por VIH<sup>(53)</sup>. Recientemente, se ha aislado un nuevo serotipo de *B. henselae* de un paciente con endocarditis<sup>(60)</sup>.

### Enfermedad del arañazo del gato

La presentación clínica más frecuente es la linfadenopatía, usualmente precedida por una pápula eritematosa o una pústula en el lugar de inoculación<sup>(35)</sup>. La linfadenopatía se resuelve espontáneamente en 2-4 meses<sup>(54)</sup>, aunque los nódulos linfáticos involucrados pueden supurar en el 15% de los pacientes<sup>(54)</sup>. Las complicaciones más frecuentes son el síndrome oculoglandular de Parinaud o la conjuntivitis granulomatosa con adenopatía preauricular, eritema nodoso, encefalopatías, tonsilitis, osteolitis y enfermedad diseminada con compromiso visceral<sup>(30,35,54)</sup>.

La histopatología de los nódulos linfáticos afectados se caracteriza por granulomas, microabscesos e hiperplasia folicular<sup>(35,54)</sup>. Aunque ninguna de estas reacciones es específica, su presencia en el mismo espécimen sugiere la EAG. La coloración de plata de Warthin-Starry puede revelar la presencia de bacilos<sup>(61)</sup>. Los estudios epidemiológicos, serológicos y moleculares<sup>(10,11,31)</sup> indican que el principal agente etiológico de la EAG es *B. henselae*, aunque existen otros agentes de la enfermedad como *Afipia felis*, un bacilo gramnegativo<sup>(62,63)</sup>.

### DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

Los procedimientos de laboratorio para el diagnóstico de las enfermedades ocasionadas por *B. henselae* son: cultivo, pruebas serológicas, PCR (Figura Nº 2) y el examen histopatológico de lesiones, especialmente en el caso de AB. Probablemente el método más práctico de confirmar la infección por *B. henselae* sea la serología, aunque las reacciones cruzadas con otras bartonelas y otros géneros bacterianos sean una limitación no resuelta completamente.

#### Cultivo

El cultivo de las muestras de sangre representa el método más sencillo de aislar *B. henselae* de pacientes con fiebre recurrente, endocarditis, AB o peliosis bacilar<sup>(5-7,29,57)</sup>; sin embargo, no todos los pacientes son bacterémicos. En esos casos se debe aislar la bacteria

de los tejidos u órganos afectados<sup>(29,64)</sup>. Para pacientes con la EAG sin compromiso sistémico, se prefiere las muestras de nódulos linfáticos a las de sangre<sup>(31)</sup>.

*B. henselae* ha sido aislada de sangre utilizando tubos comerciales de lisis-centrifugación (Isostat System, Wampole Lab., Cranbury, NJ)<sup>(6,7)</sup>. En este medio la sangre inoculada es lisada y centrifugada, y el sedimento obtenido es inoculado en otros medios. Este método ha revelado ser más sensible que el método de la inoculación directa para el aislamiento de *B. henselae* de sangre<sup>(57)</sup>. Los medios de cultivo inoculados con sangre deben ser incubados a 35°C por al menos 3 semanas, bajo una atmósfera de CO<sub>2</sub> al 5% y una elevada humedad.

La inoculación directa de tejido homogenizado sobre el medio de cultivo ha incrementado la recuperación de *B. henselae* de tejidos<sup>(31,64)</sup>. Asimismo, si la sangre de gatos bacterémicos es colectada en EDTA, su posterior congelación a -65°C puede aumentar la sensibilidad de la detección de la bacteria<sup>(65)</sup>.

El empleo de cultivos celulares y medios líquidos definidos también ha permitido aislar *B. henselae* de muestras de sangre y de tejidos<sup>(29,66)</sup>.

#### Identificación de *B. henselae*

Las colonias de *B. henselae* cultivadas sobre agar sangre o agar chocolate son rugosas, en forma de coliflor y a menudo embebidas en el agar<sup>(5)</sup>. El subcultivo del microorganismo origina la pérdida de la propiedad de autoadherencia y el desarrollo de colonias en un tiempo menor. El diagnóstico diferencial de *B. henselae* debe incluir principalmente a *B. quintana* y *B. bacilliformis*, las colonias de la primera son lisas, planas, pequeñas y no penetran el agar<sup>(29)</sup>; mientras que las colonias de *B. bacilliformis* son pequeñas, transparentes y lisas<sup>(67)</sup>. Las condiciones de cultivo para *B. henselae* y *B. quintana* son similares, crecen a 35°C en presencia de CO<sub>2</sub>, pero *B. bacilliformis* crece entre 25 y 28°C, y en ausencia de CO<sub>2</sub><sup>(68,69)</sup>.

El examen microscópico de las colonias de *B. henselae* revela bacilos pequeños (0,5-2 µm), ligeramente curvados y que se tiñen mejor con la coloración de Gimenez<sup>(5)</sup> que con la coloración Gram. Sin embargo, las características microscópicas señaladas son comunes al género *Bartonella*, por lo que se ha descrito varios métodos para confirmar la identidad de la colonia sospechosa de ser *B. henselae*, que van desde las pruebas bioquímicas hasta el análisis genotípico.

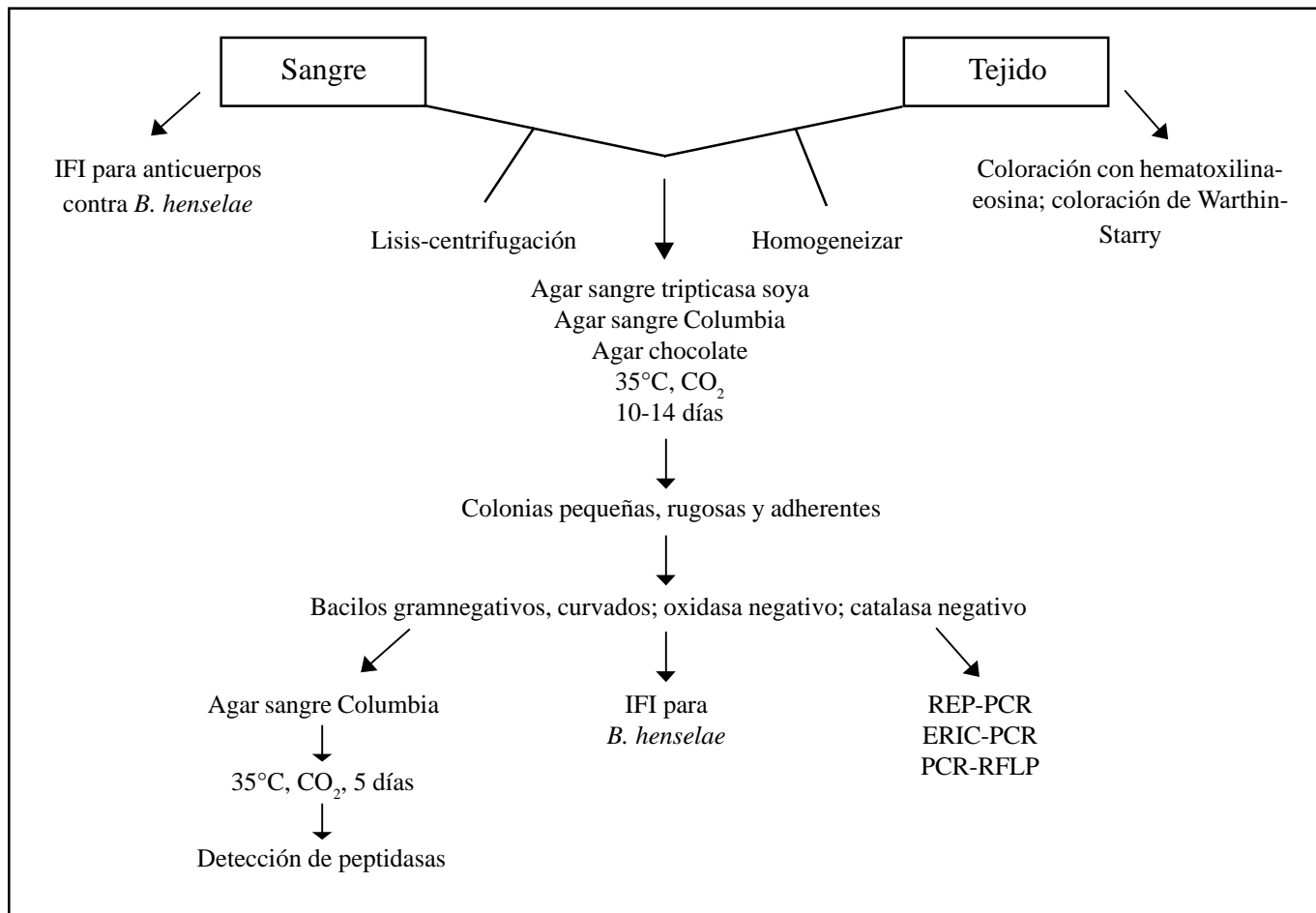


Fig. Nº 2.- Diagnóstico de laboratorio de *B. henselae*. Adaptado de Welch y col. (43)

*B. henselae* es bioquímicamente inerte (5,6), excepto para las peptidasas. Se ha descrito que el sistema comercial MicroScan Rapid Anaerobe Panel (Baxter Diagnostics, Deerfield, Ill.), diseñado para la detección de enzimas preformadas, puede distinguir entre *B. henselae* y *B. quintana* (43). Sin embargo, más recientemente, dos estudios independientes encontraron que *B. henselae* y *B. quintana* tuvieron similares perfiles con el Rapid Anaerobe Panel (17,45).

La composición de ácidos grasos de *B. henselae* reveló un perfil similar al encontrado para *B. quintana* y *B. vinsonii* (5), pero diferente de aquel para *B. bacilliformis* (6).

Entre los métodos genéticos que permiten la identificación de *B. henselae* a nivel de especie se ha descri-

to el secuenciamiento de ADNr 16S (3,5,23,29,57), hibridación del ADN (6) y el análisis del polimorfismo de longitud de los fragmentos de restricción del gen de la citrato sintasa amplificado por PCR (PCR-RFLP) (5,29,31). Esta última técnica también ha sido aplicada a la región intergénica que codifica el ARNr de 16S y ARNr de 23S, habiéndose obtenido patrones de bandas característicos y diferenciales para *B. henselae*, *B. quintana*, *B. vinsonii* y *B. bacilliformis* (23,50,70). Asimismo, se ha reportado que el análisis de RFLP de los productos obtenidos por PCR de la región intergénica y de una porción del gen que codifica para el ARNr de 23S, puede ser útil para la subtipificación de *B. henselae* (50). La principal desventaja de las técnicas mencionadas es su largo procedimiento, lo que las hace inviables para su implementación en los laboratorios de microbiología clínica.

Recientemente se ha descrito un método que genera "huellas dactilares" de ADN (*DNA fingerprints*) que permite discriminar entre especies y cepas bacterianas. El método se basa en la obtención de múltiples productos de amplificación por la técnica de PCR de secuencias extragénicas repetitivas altamente conservadas, entre las cuales se incluyen elementos palindrómicos extragénicos repetitivos (REP) y secuencias de consenso intergénicas repetitivas de enterobacterias (ERIC). Tanto la técnica de REP-PCR como la de ERIC-PCR han sido usadas para la identificación de *B. henselae* a nivel de especie y de cepas (<sup>17,26,71</sup>). La relativa facilidad de su ejecución, el empleo no sólo de ADN genómico purificado sino también el uso de pequeñas cantidades de bacterias enteras no procesadas, y la disponibilidad de los resultados en pocas horas, hacen de estas técnicas candidatas firmes para su adopción en los laboratorios de microbiología clínica.

El análisis de macrorrestricción del ADN genómico con endonucleasas usando la electroforesis en gel de campo pulsado, ha demostrado ser un buen método para la diferenciación de *Bartonella* a nivel de especie (<sup>70,72</sup>) y para la subtipificación de *B. henselae* (<sup>26</sup>); tiene un poder discriminatorio mayor que las técnicas de REP-PCR y ERIC-PCR, pero es más costoso y demora más tiempo (<sup>26</sup>).

La identificación de *B. henselae* por métodos serológicos ha sido ensayada con anticuerpos policlonales específicos de ratón mediante inmunofluorescencia indirecta (IFI) (<sup>72,73</sup>). Se ha reportado la diferenciación de *B. henselae* de *B. quintana* (cepa Fuller), *B. bacilliformis* y *A. felis*, detectándose reactividad cruzada con *B. quintana* sólo en la dilución más baja del suero (<sup>73</sup>). Estos resultados fueron corroborados posteriormente, lográndose no sólo diferenciar entre *B. henselae*, *B. quintana* y *B. vinsonii*, sino que se identificó un aislado de *B. quintana* proveniente de un paciente con AB (<sup>72</sup>). La aplicación de la inmunoelectrotransferencia (Western blot) para la identificación de *B. henselae* ha sido escasamente evaluada (<sup>72</sup>). El uso de anticuerpos monoclonales dirigidos contra antígenos específicos de especie podría ser de gran valor en la simplificación de la identificación de *B. henselae* y de las otras bartonelas.

### Pruebas serológicas

Las pruebas serológicas usadas en el diagnóstico de las infecciones causadas por *B. henselae* detectan

anticuerpos y comprenden la IFI y el inmunoensayo enzimático (ELISA). De estos dos métodos, la IFI ha sido el más usado para el diagnóstico de infecciones por *B. henselae* y por otras bartonelas (<sup>10,11,74</sup>). La principal limitación de las pruebas serológicas en uso es su aparente falta de especificidad para distinguir entre las especies de *Bartonella* y entre *Bartonella* y otras bacterias relacionadas. De particular interés es la reacción cruzada, encontrada mediante IFI, entre *B. henselae* y *B. quintana* (<sup>38,74</sup>), dado que ambas bacterias han sido asociadas a la misma enfermedad (AB, endocarditis y bacteremia). En cambio, la reacción cruzada entre *B. henselae* y *B. elizabethae* es escasa (<sup>38,74</sup>). También ha sido reportada la reacción cruzada entre *B. henselae* y otras bacterias, como *Coxiella burnetii* (<sup>75</sup>). Otra limitación de las pruebas serológicas es que no se puede determinar si los títulos de anticuerpos representan infecciones activas o pasadas (<sup>10,11</sup>), sea porque hay ausencia de seroconversión, los títulos iniciales son muy altos (<sup>47</sup>), o los anticuerpos persisten por largo tiempo (<sup>38</sup>).

La IFI fue inicialmente desarrollada para detectar anticuerpos de la clase IgG (IFI-IgG) contra *B. henselae* en pacientes diagnosticados con EAG (<sup>10</sup>). Ninguna de las muestras séricas reaccionaron con la cepa tipo de *B. quintana* (Fuller), lo cual motivó que se asumiese que la prueba era específica para *B. henselae*. Sin embargo, cuando se utilizó un aislado reciente de *B. quintana* se detectó una fuerte reacción cruzada entre los sueros de pacientes infectados con *B. henselae* y *B. quintana* (<sup>74</sup>). El valor de corte, es decir el título en el que los anticuerpos llegan a ser significativos para el diagnóstico de una infección, es mayor o igual a 64 (<sup>10,11,47,74</sup>). La sensibilidad de la IFI para el diagnóstico de EAG se ha correlacionado bien (82-95%) con el diagnóstico clínico y la intradermorreacción positiva (<sup>47,74</sup>), y la especificidad de género de la prueba es de 96-98% (<sup>11,47</sup>). Recientemente se ha reportado la evaluación de una IFI-IgG específica para el diagnóstico de la EAG (<sup>76</sup>). La IFI-IgG, con un valor de corte de 512, tuvo una sensibilidad de 31,8-40,9%, valores muy bajos para utilizar esta prueba como único criterio diagnóstico de la EAG.

Un estudio preliminar (<sup>73</sup>), empleando un modelo murino, encontró que una prueba de ELISA para la detección de anticuerpos pudo distinguir entre *B. henselae* y *B. quintana* (cepa Fuller), resultado que no ha sido observado en humanos. Posteriormente se describió un ELISA que puede ser de utilidad para detectar anticuerpos anti-*B. henselae* en personas con la EAG (<sup>77</sup>). No se observó reacción cruzada con sueros con al-

tos títulos de anticuerpos para varios patógenos, entre ellos *A. felis*, y el ELISA pareció ser más sensible que la IFI (77), una observación que necesita ser comprobada con un tamaño de muestra más grande. Más recientemente, se ha demostrado que una prueba de ELISA que detecta anticuerpos de la clase IgM contra *Bartonella* (ELISA IgM) fue ligeramente menos sensible que la IFI en el diagnóstico de la EAG (73% contra 93%) (47), mientras que la sensibilidad del ELISA IgG fue muy baja (16-35%) como para ser usada en el diagnóstico de la enfermedad. En otro estudio se encontró que la sensibilidad de un ELISA IgM específico para *B. henselae* fue 71,4% (76). Dado que la detección de IgM no requiere de muestras pareadas para tener valor diagnóstico, los autores recomiendan emplear la serología de IgM (por ELISA o IFI) como prueba tamiz para el diagnóstico de la EAG, y si no se detectan anticuerpos de la clase IgM contra *B. henselae*, debería llevarse a cabo la prueba de PCR. La utilidad de la inmunoelectrotransferencia en el diagnóstico de la EAG aún no ha sido definida (43,48,72,78).

### PCR

El gen que codifica el ARNr de 16S ha sido el fragmento de ADN con el cual se ha intentado desarrollar un PCR específico para el diagnóstico de las infecciones por *B. henselae* (5,9,73). También se ha descrito un nuevo PCR basado en la amplificación de un fragmento del gen que codifica la HtrA, una proteína de choque térmico (79). El método fue aplicado a 25 muestras de nódulo linfático de pacientes con sospecha de EAG, detectándose *B. henselae* en 21 de las 25 muestras. Posteriormente, se ha utilizado la técnica de PCR-RFLP de la región intergénica del ARNr 16S-23S (50) a 114 muestras (aspirados de pus y biopsias de nódulo linfático) de pacientes con EAG, habiéndose detectado y subtipificado *B. henselae* en 30 casos (23).

La detección del ADN de *B. henselae* por PCR ha sido usada para el diagnóstico de la ABC (3,12,29,37), AB ósea (29), peliosis bacilar del bazo (3,37) y del hígado (12,22), endocarditis (38) y EAG (5,23,31,79).

### Histología

El mejor método para el diagnóstico de la ABC y extracutánea es el examen histopatológico de las muestras de biopsia. En las lesiones teñidas con hematoxilina-eosina (H-E) se observa una proliferación vascular lobular característica, con células endoteliales poligonales o cuboidales protuberantes conteniendo

abundante citoplasma, con o sin atipia citológica (32,34,53). Asimismo, se presenta un infiltrado inflamatorio mixto de linfocitos y neutrófilos, con predominio de estos últimos. La presencia de agregados granulares anofílicos son altamente indicativos de estar frente a una AB, y están constituidos por masas de bacterias reveladas por la coloración de Warthin-Starry, microscopía electrónica o inmunoperoxidasa. El examen histológico de secciones de bazo o hígado teñidas con H-E revela un espectro de cambios que van desde múltiples espacios dilatados, llenos de sangre, hasta focos infrecuentes de capilares dilatados en un estroma fibromixtoide conteniendo células inflamatorias y agregados de material anofílico granular, que representan masas de bacilos detectados por la coloración de Warthin-Starry y la microscopía electrónica (8,12).

Los hallazgos histopatológicos de los nódulos linfáticos afectados de pacientes con EAG revelan granulomas caseosos, microabscesos e infiltrado inflamatorio no específico (35,54). Aunque ninguna de estas reacciones es específica, su presencia en la misma muestra hace sospechar de la EAG. Asimismo, la lesión primaria usualmente exhibe necrosis y puede revelar bacilos por la coloración de Warthin-Starry (54,61).

### TRATAMIENTO

Debido a la ausencia de estudios controlados, se desconoce la terapia con antibióticos más adecuada, así como la duración del tratamiento para las distintas manifestaciones clínicas de la infección por *B. henselae*. Sin embargo, se dispone de experiencias clínicas que dan cuenta de la eficacia en el tratamiento de pacientes infectados con la bacteria. Para el tratamiento de la AB, peliosis bacilar y el síndrome bacterémico, la eritromicina (500 mg cuatro veces al día) es el fármaco más efectivo, si se tiene en cuenta la buena respuesta clínica obtenida en casi todos los pacientes tratados (7,8,13,29,32,34,36,37,40,42,52,64,80). Una buena respuesta clínica también se ha obtenido con doxiciclina (5,9,29,34,36,37,39,42,45), en particular cuando el tratamiento duró más de 6 semanas (5,37), lo cual es una buena alternativa en pacientes que no pueden tolerar la eritromicina. Otros antibióticos como la tetraciclina (7,29), minociclina (36,37), amoxicilina (43), claritromicina (28) y ciprofloxacina (38) han sido exitosamente usados en un número limitado de pacientes. Asimismo, una limitada información sugiere que también ocurre una adecuada respuesta clínica con

rifampicina (<sup>32,34,36</sup>) y gentamicina combinada con ciprofloxacina y ceftazidima (<sup>7</sup>), o ciprofloxacina y ceftriaxona (<sup>57</sup>). Los antibióticos que inhiben la síntesis de la pared celular tales como la penicilina, dicloxacilina, nafcilina y las cefalosporinas de primera generación, no deben ser usados en el tratamiento de AB o peliosis bacilar porque han demostrado ser ineficaces (<sup>8,34,36</sup>).

Se desconoce la duración óptima del tratamiento para los individuos inmunocomprometidos, pero los pacientes con ABC deberían recibir un antibiótico apropiado por al menos 2-3 meses, y los pacientes con enfermedad severa (osteomielitis, peliosis bacilar) deberían recibir un mínimo de 3-4 meses de terapia (<sup>36</sup>). Los pacientes inmunocompetentes deberían seguir un tratamiento de al menos 2-6 semanas (<sup>35,37</sup>); dependiendo de la respuesta clínica la duración de la terapia puede requerir más semanas o de retratamiento (<sup>35</sup>).

En todos los pacientes con infección probada por *B. henselae*, independientemente de su competencia inmunológica, se debería prolongar el tiempo de tratamiento por varios días o semanas luego que las lesiones o la sintomatología se resuelvan, a fin de disminuir las recaídas. Éstas pueden seguir al tratamiento (<sup>5-7,38,57</sup>), especialmente si la terapia es de poco tiempo de duración.

Se ha obtenido el tratamiento efectivo de la endocarditis por *B. henselae* con ciprofloxacina luego de 16 meses de terapia (<sup>38</sup>). La EAG no responde al tratamiento con antibióticos, la mayoría de los casos se resuelven en 2-4 meses sin la administración de terapia específica (<sup>54</sup>). Reportes anecdóticos de respuesta clínica aislada a ciprofloxacina, gentamicina, rifampicina y trimetoprim-sulfametoxazol han aparecido en la literatura (<sup>54</sup>).

## BIBLIOGRAFÍA

- 1) O'Connor SP, Dorsch M, Steigerwalt AG, Brenner DJ, Stackebrandt E. 16S ARNr sequences of *Bartonella bacilliformis* and cat scratch disease bacillus reveal phylogenetic relationship with the alpha-2 subgroup of the class proteobacteria. J Clin Microbiol 1991; 29: 2144-50.
- 2) Brenner DJ, O'Connor SP, Winkler HH, Steigerwalt AG. Proposals to unify the genera *Bartonella* and *Rochalimaea*, with description of *Bartonella quintana* comb. nov., *Bartonella vinsonii* comb. nov., *Bartonella henselae* comb. nov., and *Bartonella elizabethae* comb. nov. and to remove the family *Bartonellaceae* from the order *Rickettsiales*. Int J Syst Bacteriol 1993; 43: 777-86.
- 3) Relman DA, Loutit JS, Schmidt TM, Falkow S, Tompkins LS. The agent of bacillary angiomatosis: an approach to the identification of uncultured pathogens. N Engl J Med 1990; 323: 1573-80.
- 4) Birtles RJ, Harrison TG, Taylor AG. The causative agent of bacillary angiomatosis. N Engl J Med 1991; 325: 1447-8.
- 5) Regnery RL, Anderson BE, Clarridge III JE, Rodriguez Barradas MC, Jones DC, Carr JH. Characterization of a novel *Rochalimaea* species, *R. henselae* sp. nov., isolated from blood of a febrile, human immunodeficiency virus-positive patient. J Clin Microbiol 1992; 30: 265-74.
- 6) Welch DF, Pickett DA, Slater LN, Steigerwalt AG, Brenner DJ. *Rochalimaea henselae* sp. nov., a cause of septicemia, bacillary angiomatosis, and parenchymal bacillary peliosis. J Clin Microbiol 1992; 30: 275-80.
- 7) Slater LN, Welch DF, Hensel D, Coody DW. A newly recognized fastidious Gram-negative pathogen as a cause of fever and bacteremia. N Engl J Med 1990; 323: 1587-93.
- 8) Perkocha LA, Geaghan SM, Yen TSB, Nishimura SL, Chan SP, García-Kennedy R y col. Clinical and pathological features of bacillary peliosis hepatitis in association with human immunodeficiency virus infection. N Engl J Med 1990; 323: 1581-6.
- 9) Relman DA, Falkow S, Leboit PE, Perkocha LA, Min KW, Welch DF y col. The organism causing bacillary angiomatosis, peliosis hepatitis, and fever and bacteremia in immunocompromised patients. N Engl J Med 1991; 324: 1514.
- 10) Regnery RL, Olson JG, Perkins BA, Bibb W. Serological response to "*Rochalimaea henselae*" antigen in suspected cat-scratch disease. Lancet 1992; 339: 1443-5.
- 11) Zangwill KM, Hamilton DH, Perkins BA, Regnery RL, Plikaytis BD, Hadler JL y col. Cat scratch disease in Connecticut: epidemiology, risk factors, and evaluation of a new diagnostic test. N Engl J Med 1993; 329: 8-13.
- 12) Tappero JW, Mohle-Boetani J, Koehler JE, Swaminathan B, Berger TG, Leboit PE y col. The epidemiology of bacillary angiomatosis and bacillary peliosis. JAMA 1993; 269: 770-5.
- 13) Koehler JE, Glaser CA, Tappero JW. *Rochalimaea henselae* infection: a new zoonosis with the domestic cat as reservoir. JAMA 1994; 271: 531-5.
- 14) Chomel BB, Abbott RC, Kasten RW, Floyd-Hawkins KA, Kass PH, Glaser CA y col. *Bartonella henselae* prevalence in domestic cats in California: risk factors and association between bacteremia and antibody titers. J Clin Microbiol 1995; 33: 2445-50.
- 15) Kordick DL, Wilson KH, Sexton DJ, Hadfield TL, Berkhoff HA, Breitschwerdt EB. Prolonged *Bartonella* bacteremia in cats associated with cat-scratch disease patients. J Clin Microbiol 1995; 33: 3245-51.
- 16) Glaus T, Hofmann-Lehmann R, Greene C, Glaus B, Wolfensberger C, Lutz H. Seroprevalence of *Bartonella henselae* infection and correlation with disease status in cats in Switzerland. J Clin Microbiol 1997; 35: 2883-5.
- 17) Sander A, Bühler C, Pelz K, Von Cramm E, Brecht W. Detection and identification of two *Bartonella henselae* variants in domestic cats in Germany. J Clin Microbiol 1997; 35: 584-7.

- 18) **Heller R, Artois M, Xemar V, de Briel D, Gehin H, Jaulhac B y col.** Prevalence of *Bartonella henselae* and *Bartonella clarridgeiae* in stray cats. *J Clin Microbiol* 1997; 35: 1327-31.
- 19) **Bergmans AMC, de Jong CMA, van Amerongen G, Schot CS, Schouls LM.** Prevalence of *Bartonella* species in domestic cats in The Netherlands. *J Clin Microbiol* 1997; 35: 2256-61.
- 20) **Chomel BB, Kasten RW, Floy-Hawkins K, Chi B, Yamamoto K, Roberts-Wolson J y col.** Experimental transmission of *Bartonella henselae* by the cat flea. *J Clin Microbiol* 1997; 34: 1952-6.
- 21) **Koehler JE, Sanchez MA, Garrido CS, Whitfield MJ, Chen FM, Berger TG y col.** Molecular epidemiology of *Bartonella* infections in patients with bacillary angiomatosis-peliosis *N Engl J Med* 1997; 337: 1876-83.
- 22) **Marullo S, Jaccard A, Roulot D, Mainguene C, Clauvel P.** Identification of the *Rochalimaea henselae* 16S ARNr sequence in the liver of a french patient with bacillary peliosis hepatis. *J Infect Dis* 1992, 166: 1462.
- 23) **Bergman AMC, Shellekens JFP, van Embden JDA, Schouls LM.** Predominance of two *Bartonella henselae* variants among cat-scratch disease patients in The Netherlands. *J Clin Microbiol* 1996; 34: 254-60.
- 24) **Yamashita CA, Mielle A, Shlessarenko N, Nascimento S, Gilio A, Pahl M y col.** Parinaud syndrome caused by *Bartonella henselae*: case report. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 1996; 38: 437-40.
- 25) **Avidor B, Kletter Y, Abulafia S, Golan Y, Ephros M, Giladi M.** Molecular diagnosis of cat scratch disease: a two-step approach. *J Clin Microbiol* 1997; 35: 1924-30.
- 26) **Sander A, Ruess M, Bereswill S, Schuppler M, Steinbrueckner B.** Comparison of different ADN fingerprinting techniques for molecular typing of *Bartonella henselae* isolates *J Clin Microbiol* 1998; 36: 2973-81.
- 27) **Demers DM, Bass JW, Vincent JM, Person DA, Noyes DK, Staage CM y col.** Cat-scratch disease in Hawaii: etiology and seroepidemiology. *J Pediatr* 1995; 127: 23-6.
- 28) **Arias-Stella J, Bravo-Puccio F, Arias-Stella J Jr.** Angiomatosis bacilar en el Perú. *Folia Dermatol Per* 1996; 7: 31-6.
- 29) **Koehler JE, Quinn FL, Berger TB, LeBoit PE, Tappero JW.** Isolation of *Rochalimaea* species from cutaneous and osseous lesions of bacillary angiomatosis. *N Engl J Med* 1992; 327: 1625-31.
- 30) **Carithers HA, Carithers CM, Edwards RO Jr.** Cat-scratch disease: its natural history. *JAMA* 1969; 207: 312-6.
- 31) **Dolan MJ, Wong MT, Regnery RL, Jorgensen JH, García M, Peters J y col.** Syndrome of *Rochalimaea henselae* adenitis suggesting cat scratch disease. *Ann Intern Med* 1993; 118: 331-6.
- 32) **LeBoit PE, Berger TG, Egbert BM, Yen TSB, Stoler MH, Bonfiglio TA y col.** Epithelioid haemangioma-like vascular proliferation in AIDS: manifestation of cat scratch disease bacillus infection? *Lancet* 1988; 1: 960-3.
- 33) **Cockerell CJ, Whitlow MA, Webster GF, Friedman-Kien AE.** Epithelioid angiomatosis: a distinct vascular disorder in patients with the acquired immunodeficiency syndrome or AIDS - related complex. *Lancet* 1987; 2: 654-6.
- 34) **Koehler JE, LeBoit PE, Egbert BM, Berger TG.** Cutaneous vascular lesions and disseminated cat-cratch disease in patients with the acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) and AIDS-related complex. *Ann Intern Med* 1988; 109: 449-55.
- 35) **Adal KA, Cockerell CJ, Petri WA Jr.** Cat scratch disease, bacillary angiomatosis, and other infections due to *Rochalimaea*. *N Engl J Med* 1994; 330: 1509-15.
- 36) **Regnery RL, Childs JE, Koehler JE.** Infections associated with *Bartonella* species in persons infected with human immunodeficiency virus. *Clin Infect Dis* 1995; 21: S94-S98.
- 37) **Tappero JW, Koehler JE, Berger TG, Cockerell CJ, Lee TH, Busch MP y col.** Bacillary angiomatosis and bacillary splenitis in immunocompetent adults. *Ann Intern Med* 1993; 118: 363-5.
- 38) **Holmes AH, Greenough TC, Balady GJ, Regnery RL, Anderson BE, O'Keane JC y col.** *Bartonella henselae* endocarditis in an immunocompetent adult. *Clin Infect Dis* 1995, 21: 1004-7.
- 39) **Pilon VA, Echols RM.** Cat-scratch disease in a patient with AIDS. *Am J Clin Pathol* 1989; 92: 236-40.
- 40) **Stoler MH, Bonfiglio TA, Steigbigel RT, Pereira M.** An atypical subcutaneous infection associated with acquired immune deficiency syndrome. *Am J Clin Pathol* 1983; 80: 71-718.
- 41) **Schlossberg D, Morad Y, Krouse TB, Wear DJ, English CK.** Culture-proved disseminated cat-scratch disease in acquired immunodeficiency syndrome. *Arch Intern Med* 1989; 149: 1437-9.
- 42) **Kemper CA, Lombard CM, Deresinski SC, Tompkins LS.** Visceral bacillary epithelioid angiomatosis: possible manifestations of disseminated cat scratch disease in the immunocompromised host: a report of two cases. *Am J Med* 1990; 89: 216-22.
- 43) **Welch DF, Hensel DM, Pickett DA, San Joaquin VH, Robinson A, Slater LN.** Bacteremia due to *Rochalimaea henselae* in a child: practical identification of isolates in the clinical laboratory. *J Clin Microbiol* 1993; 31: 2381-6.
- 44) **Caniza MA, Granger DL, Wilson KH, Washington MK, Kordick DL, Frush DP y col.** *Bartonella henselae*: etiology of pulmonary nodules in a patient with depressed cell-mediated immunity. *Clin Infect Dis* 1995; 20: 1505-11.
- 45) **Clarridge JE III, Raich TJ, Pirwani D, Simon B, Tsai L, Rodriguez-Barradas MC y col.** Strategy to detect and identify *Bartonella* species in routine clinical laboratory yields *Bartonella henselae* from human immunodeficiency virus-positive patient and unique *Bartonella* strain from his cat. *J Clin Microbiol* 1995; 33: 2107-13.
- 46) **Gerber MA, Rapacz P, Kalter SS, Ballow M.** Cell-mediated immunity in cat-scratch disease. *J Allergy Clin Immunol* 1986; 78: 887-90.
- 47) **Szelc-Kelly CM, Goral S, Perez-Perez GI, Perkins BA; Regnery RL, Edwards KM.** Serologic responses to *Bartonella* and *Afipia* antigens in patients with cat scratch disease. *Pediatrics* 1995; 96: 1137-42.
- 48) **McGill SL, Regnery RL, Karem KL.** Characterization of human immunoglobulin (Ig) isotype and IgG subclass response to *Bartonella henselae* infection. *Infect Immun* 1998; 66: 5915-20.
- 49) **Mohle-Boetani JC, Koehler JE, Berger TG, LeBoit PE, Kemper CA, Reingold AL y col.** Bacillary angiomatosis and bacillary peliosis in patients infected with human immunodeficiency virus: clinical characteristics in a case-control study. *Clin Infect Dis* 1996, 22: 79-80.

- 50) **Matar GM, Swaminathan B, Hunter SB, Slater LN, Welch DF.** Polymerase chain reaction-based restriction fragment length polymorphism analysis of a fragment of the ribosomal operon from *Rochalimaea* species for subtyping. *J Clin Microbiol* 1993; 31: 1730-4.
- 51) **Knobler EH, Silvers DN, Fine KC, Lefkowitz JH, Grossman ME.** Unique vascular skin lesions associated with human immunodeficiency virus. *JAMA* 1988; 260: 524-7.
- 52) **Berger TG, Tappero JW, Kaymen A, LeBoit PE.** Bacillary (epithelioid) angiomatosis and concurrent Kaposi's sarcoma in acquired immunodeficiency syndrome. *Arch Dermatol* 1989; 125: 1543-7.
- 53) **Spach DH.** Bacillary angiomatosis. *Int J Dermatol* 1992, 31: 19-24.
- 54) **Schwartzman WA.** Infections due to *Rochalimaea*: the expanding clinical spectrum. *Clin Infect Dis* 1992; 15: 893-902.
- 55) **Marasco WA, Lester S, Parsonnet J.** Unusual presentation of cat scratch disease in a patient positive for antibody to the human immunodeficiency virus. *Rev Infect Dis* 1989; 11: 793-803.
- 56) **Arias-Stella J, Lieberman PH, Erlandson RA, Arias-Stella J Jr.** Histology, immunohistochemistry, and ultrastructure of the verruca in Carrion's disease. *Am J Surg Pathol* 1986; 10: 595-610.
- 57) **Lucey D, Dolan MJ, Moss CW, García M, Hollis DG, Wegner S y col.** Relapsing illness due to *Rochalimaea henselae* in immunocompetent hosts: implication for therapy and new epidemiological associations. *Clin Infect Dis* 1992; 14: 683-8.
- 58) **Drancourt M, Birtles R, Chaumentin G, Vandenesch F, Etienne J, Raoult D.** New serotype of *Bartonella henselae* in endocarditis and cat-scratch disease. *Lancet* 1996; 347: 441-3.
- 59) **Daly JS, Worthington MG, Brenner DJ, Moss CW, Hollis DG, Weyant RS y col.** *Rochalimaea elizabethae* sp. nov. isolated from a patient with endocarditis. *J Clin Microbiol* 1993; 31: 872-81.
- 60) **Drancourt M, Mainardi JL, Brouqui P, Vandenesch F, Carta A, Lehnert F y col.** *Bartonella (Rochalimaea) quintana* endocarditis in three homeless men. *N Engl J Med* 1995; 332: 419-43.
- 61) **Wear DJ, Margileth AM, Hadfield TL, Fisher GW, Schlagel CJ, King FM.** Cat scratch disease: a bacterial infection. *Science* 1983; 221: 1403-5.
- 62) **English CK, Wear DJ, Margileth AM, Lissner CR, Walsh GP.** Cat-scratch disease: isolation and culture of the bacterial agent. *JAMA* 1988; 259: 1347-52.
- 63) **Brenner DJ, Hollis DG, Moss CW, English CK, Hall GS, Vincent J y col.** Proposal of *Afipia* gen. nov., with *Afipia felis* sp. nov. (formerly the cat scratch disease bacillus), *Afipia clevelandensis* sp. nov. (formerly the Cleveland clinic foundation strain), *Afipia broomeae* sp. nov. and three unnamed genospecies. *J Clin Microbiol* 1991, 29: 2450-60.
- 64) **Slater LN, Welch DF, Min KW.** *Rochalimaea henselae* causes bacillary angiomatosis and peliosis hepatis. *Arch Intern Med* 1992; 152: 602-6.
- 65) **Brenner SA, Rooney JA, Manzewitsch P, Regnery RL.** Isolation of *Bartonella (Rochalimaea) henselae*: effects of methods of blood collection and handling. *J Clin Microbiol* 1997; 35: 544-7.
- 66) **Wong MT, Thornton DC, Kennedy RC, Dolan MJ.** A chemically defined liquid medium that supports primary isolation of *Rochalimaea (Bartonella) henselae* from blood and tissue specimens. *J Clin Microbiol* 1995; 33: 742-4.
- 67) **Cuadra M.** *Bartonella bacilliformis*. En: Braude AI, Davis CE, Fierer J. (ed.), *Microbiology*, W.B. Saunders Co Philadelphia 1982.
- 68) **Benson LA, Kar S, McLaughlin G, Ihler GM.** Entry of *Bartonella bacilliformis* into erythrocytes. *Infect Immun* 1986; 54: 347-53.
- 69) **Brenner DJ, O'Connor SP, Hollis DG, Weaver RE, Steigerwalt AG.** Molecular characterization and proposal of a neotype strain for *Bartonella bacilliformis*. *J Clin Microbiol* 1991; 29: 1299-1302.
- 70) **Roux V, Raoult D.** Inter- and intraspecies identification of *Bartonella (Rochalimaea)* species. *J Clin Microbiol* 1995; 33: 1573-9.
- 71) **Rodríguez-Barradas MC, Hamill RJ, Houston ED, Georghiu PR, Clarridge JE, Regnery RL y col.** Genomic fingerprinting of *Bartonella* species by repetitive element PCR for distinguishing species isolates. *J Clin Microbiol* 1995; 33: 1089-193.
- 72) **Maurin M, Roux V, Stein A, Ferrier F, Viraben R, Raoult D.** Isolation and characterization by immunofluorescence, sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis, western blot, restriction fragment length polymorphism-PCR, 16S ARNr gene sequencing, and pulsed-field gel electrophoresis of *Rochalimaea quintana* from a patient with bacillary angiomatosis. *J Clin Microbiol* 1994; 32: 1166-71.
- 73) **Slater LN, Coody DW, Woolridge LK, Welch DF.** Murine antibody responses distinguish *Rochalimaea henselae* from *Rochalimaea quintana*. *J Clin Microbiol* 1992; 30: 1722-7.
- 74) **Dalton MJ, Robinson LE, Cooper J, Regnery RL, Olson JG, Childs JE.** Use of *Bartonella* antigens for serologic diagnosis of cat-scratch disease at a National Referral Center. *Arch Intern Med* 1995; 155: 1670-6.
- 75) **La Scola B, Raoult D.** Serological cross-reactions between *Bartonella quintana*, *Bartonella henselae*, and *Coxiella burnetii*. *J Clin Microbiol* 1996, 34: 2270-4.
- 76) **Bergmans AMC, Peeters MF, Schellekens JFP, Vos MC, Saabe LJM, Ossewaarde JM y col.** Pitfalls and fallacies of cat scratch disease serology: evaluation of *Bartonella henselae*-based indirect fluorescence assay and enzyme-linked immunoassay. *J Clin Microbiol* 1997; 35: 1931-7.
- 77) **Barka NE, Hadfield T, Patnaik M, Schwartzman WA, Peter JB.** EIA for detection of *Rochalimaea henselae*-reactive IgG, IgM, and IgA antibodies in patients with suspected cat-scratch disease. *J Infect Dis* 1993; 167: 1503-4.
- 78) **Anderson B, Lu E, Jones D, Regnery R.** Characterization of a 17-kilodalton antigen of *Bartonella henselae* reactive with sera from patients with cat scratch disease. *J Clin Microbiol* 1995; 33: 2358-65.
- 79) **Anderson B, Sims K, Regnery R, Robinson L, Schmidt MJ, Goral S y col.** Detection of *Rochalimaea henselae* ADN in specimens from cat scratch disease patients by PCR. *J Clin Microbiol* 1994; 32: 942-8.
- 80) **Jimenes-Acosta F, Pardo RJ, Cohen RJ, Gould EW, Penneys NS.** Bacillary angiomatosis of acquired immunodeficiency syndrome: case report and literature review. *J Am Acad Dermatol* 1990; 22: 525-9.