



UNIVERSITÀ DI PISA

Dipartimento di Scienze Veterinarie

Corso di Laurea Magistrale in Medicina Veterinaria

TESI DI LAUREA

**INDAGINE MOLECOLARE SULLA DIFFUSIONE DI
BARTONELLA SPP. IN EQUIDI DELLA PROVINCIA DI PISA**

Candidato

Edoardo Magni

Relatore

Dott.ssa Valentina V. Ebani

Correlatore

Dott. Bertelloni Fabrizio

ANNO ACCADEMICO 2016/2017

INDICE

RIASSUNTO / ABSTRACT	3
INTRODUZIONE	4
EZIOLOGIA	6
EPIDEMIOLOGIA	12
MECCANISMI DI TRASMISSIONE	22
PATOGENESI	26
MANIFESTAZIONI CLINICHE	37
ANATOMOPATOLOGICHE	45
DIAGNOSI	47
TERAPIA	51
PROFILASSI	54
SANITA' PUBBLICA	55
RICERCHE PERSONALI	57
• MATERIALI E METODI	58
• RISULTATI	61
CONCLUSIONI	62
BIBLIOGRAFIA	63
LINKOGRAFIA	88

RIASSUNTO

Parole chiave: *Bartonella* spp., cavallo, asino, PCR, zoonosi

Le Bartonellosi sono una serie di infezioni sostenute da numerose specie di batteri appartenenti al genere *Bartonella*. Mentre gli animali, che svolgono spesso un ruolo di reservoir generalmente sono asintomatici, l'uomo può sviluppare diverse patologie in relazione alla specie batterica infettante.

Le Bartonellosi sono considerate “vector-borne infections”, dal momento che la loro trasmissione è principalmente dovuta all'intervento di artropodi ematofagi quali pulci, pidocchi, flebotomi e zecche. Tra gli animali domestici, il gatto viene riconosciuto come l'animale più rilevante per quanto riguarda l'infezione nei confronti dell'uomo, in quanto ospite reservoir di *B. henselae* e non solo.

Diverse bartonelle sono state segnalate in altri animali domestici e selvatici, ma in letteratura sono particolarmente scarse le informazioni sulla diffusione di questi batteri negli equidi e sul loro eventuale potere patogeno in questi animali.

Alla luce di tali considerazioni, obiettivo della presente tesi è stato quello di determinare la diffusione di *Bartonella* spp. in equidi della provincia di Pisa. A tale scopo, i campioni di sangue prelevati da 77 cavalli e 15 asini asintomatici, sono stati sottoposti ad estrazione del DNA per l'esecuzione successiva di prove di PCR specifiche per la ricerca di questo patogeno.

Dodici soggetti (9 cavalli e 3 asini) sono risultati positivi, dimostrando che anche gli equidi possono essere infettati da batteri del genere *Bartonella*, anche se non necessariamente sviluppano uno specifico quadro clinico.

Sulla base dei dati presenti in letteratura, questo è il primo studio che ha rilevato l'infezione da *Bartonella* spp. negli asini (*Equus asinus*).

ABSTRACT

Key words: *Bartonella* spp., horse, donkey, PCR, zoonosis

Bartonellosis are infections due to different bacterial species belonging to *Bartonella* genus. Usually animals are asymptomatic, as they play a reservoir role. On the contrary, humans can develop pathologies in relations to the infecting species.

Bartonellosis are considered “vector-born infections” as they are mostly transmitted through bloodsucking arthropods as fleas, lice, sandflies and ticks.

Among pets, cats are considered the most relevant source of infections in humans. In fact, cats are reservoir hosts of *Bartonella henselae*, such as of other bartonellae.

Different *Bartonella* species have been detected in other pets or wild animals. However, there are only a few information available in the literature about the spreading of these bacteria in equidae and on the possible pathogenicity for these animals.

Given these considerations, the objective of this thesis was to determine the spreading of *Bartonella* spp. in equidae living in the city of Pisa area. In order to prove the before mentioned thesis, blood samples from 77 horses and 15 donkeys, all asymptomatic, were collected and submitted to DNA extraction. The obtained DNA samples were analyzed with some specific Polymerase Chain Reaction assays. Out of the tested animals, twelve (9 horses and 3 donkeys) resulted positive for *Bartonella* spp. These results show that also equidae may be infected by bartonellae, even if they do not develop specific clinical features.

Moreover, at the best of our knowledge, this is the first study that detected *Bartonella* spp infection in donkeys (*Equus asinus*).

INTRODUZIONE

Le Bartonellosi sono una serie di infezioni sostenute da batteri appartenenti al genere *Bartonella*, che include numerose specie. Mentre gli animali, che svolgono spesso un ruolo di reservoir generalmente sono asintomatici, l'uomo può sviluppare diverse patologie in relazione della specie batterica infettante.

Storicamente, il termine Bartonellosi, o “malattia di Carrion”, indicava una grave malattia endemica di alcune regioni andine del Perù sostenuta da *B. bacilliformis* e trasmessa da un flebotomo del genere *Lutzomyia*. La forma acuta, “febbre di Oroya”, venne documentata per la prima volta tra il 1869 e il 1873. In quattro anni, 8000 lavoratori dei cantieri di costruzione della linea ferroviaria Oroya-Lima, morirono principalmente a causa di un'acuta anemia emolitica. Fu un'epidemia che falciò il 70% dei lavoratori principalmente non-nativi (Schultz 1968).

Nel 1885, il tragico esperimento di autoinoculazione dello studente Daniel Carrión dimostra la corrispondenza eziologica tra la “febbre di Oroya” e la “verruca peruviana”, una forma cronica caratterizzata da lesioni cutanee angiomatose pseudotumorali (Garcia-Caceres e Garcia 1991; Slater et al. 1992). La forma cronica cutanea è documentata da testimonianze archeologiche pre-colombiane. Alcuni testi storici parlano di conquistadores affetti nel 1540 da una forma febbrile seguita da una forma cutanea con “verruche sanguinanti” (Minnick e Battisti 2009). *B. bacilliformis*, verrà successivamente isolata da Alberto Barton nel 1905 e riconosciuta come specie uomo-specifica (Maco et al. 2004).

Durante la prima guerra mondiale circa un milione di soldati soffrì, invece, della cosiddetta “febbre delle trincee”, una febbre intermittente, debilitante con dolorabilità degli arti, trasmessa dal morso del pidocchio umano (*Pediculus humanus humanus*) e sostenuta da *B. quintana* (Byam e Lloyd 1920; Vinson 1969; Bass et al. 1997).

B. henselae è la principale e più comune bartonella responsabile di varie forme cliniche che colpiscono l'uomo (Harms e Dehio 2012). La “malattia da graffio di gatto” (SCD-scratch cat disease) è un disturbo, descritto già nel 1950 da Debrè e Mollaret, di cui è stata chiarita l'eziologia microbiologica solo recentemente (Lamps et al. 2004). Si manifesta generalmente come una linfadenite regionale benigna auto-limitante che raramente può assumere caratteri suppurativi (Boulouis et al. 2005). Un 20% dei casi di CSD possono sviluppare manifestazioni atipiche che comprendono encefalopatie, endocarditi, artropatie, mialgie, epatiti e nefriti granulomatose (Armengol e Hendley 1999; Houpiqian e Raoult 2005). In soggetti immunocompromessi, le infezioni per *B. henselae* possono cronicizzare in forme sistemiche come l'angiomatosi bacillare e la peliosi epatica (Drancourt et al. 95; Brouqui et al. 1999; Karem et al. 2000).

Le bartonelle hanno diffusione mondiale con specie considerate ubiquitarie e altre con aree di

prevalenza regionale generalmente laddove le condizioni climatiche favoriscono la densità di artropodi ematofagi (Guptill 2010; Minnick et al. 2014).

Le Bartonellosi sono considerate “vector-borne infections” dal momento che la loro trasmissione è principalmente dovuta all'intervento di artropodi ematofagi quali pulci, pidocchi, flebotomi e zecche (Kohler et al. 1994; Regnery et al. 1995; Billeter et al. 2008; Reis et al. 2011).

Tra gli animali domestici, il gatto viene riconosciuto come l'animale più rilevante per quanto riguarda l'infezione nei confronti dell'uomo. In particolare, il gatto è reservoir-specifico di *B. henselae*, *B. clarridgeae* e *B. koehlerae* (Chomel et al. 2004).

Diverse specie di bartonelle sono state segnalate in animali domestici e selvatici, ma in letteratura sono particolarmente scarse le informazioni sulla diffusione di questi batteri negli equidi e sul loro eventuale potere patogeno.

Alla luce di tali considerazioni, obiettivo della presente tesi è stato quello di determinare la diffusione di *Bartonella* spp. in equidi presenti nella provincia di Pisa.

A tale scopo sono stati raccolti campioni di sangue di 77 esemplari di cavalli e di 15 asini, dai quali è stato estratto il DNA da sottoporre ad indagini molecolari specifiche per la ricerca delle bartonelle.

EZIOLOGIA

Le bartonelle sono batteri Gram-, ossidasi-negativi, pleomorfi, aerobi, appartenenti al genere *Bartonella*, famiglia *Bartonellaceae*, sottoclasse alfa2-proteobacteria. Tale famiglia ha subito recentemente una riorganizzazione tassonomica in seguito a studi molecolari che ne hanno chiarito la posizione filogenetica.

Precedentemente, *Bartonellaceae* era inserita nell'ordine *Rickettsiales* e *B. bacilliformis* era l'unica specie appartenente alla famiglia. Nel 1993, diversi studi hanno suggerito una correzione riguardante le famiglie appartenenti all'ordine *Rickettsiales* tra cui *Rickettsiaceae* e *Anaplasmataceae*. *Bartonellaceae* è stata invece traslata nell'ordine *Rhizobiales* (Brenner et al. 1993; Dumler et al. 2001).

I risultati ottenuti tramite lo studio sulla sequenza del gene 16S-rRNA, hanno condotto a riunificare i generi *Rochalimaea* e *Grahamella* nell'unico genere *Bartonella*.

Dal precedente genere *Rochalimaea* derivano *B. henselae*, *B. quintana*, *B. vinsonii* e *B. elizabethae*, mentre da *Grahamella* derivano *B. talpae*, *B. peromysci*, *B. grahamii*, *B. taylorii* e *B. doshiae* (Brenner et al. 1993; Birtles et al. 1995). I generi *Eperythrozoon* e *Haemobartonella*, prima appartenenti alla famiglia delle *Bartonellaceae* ed *Anaplasmataceae* sono stati invece collocati nella classe *Mollicutes*.

16S-rRNA si è rivelato utile nello studio della variabilità di *Bartonella* ma ha dato risultati meno soddisfacenti per quanto riguarda la divergenza interspecifica. La struttura tassonomica e filogenetica del genere *Bartonella* è stata chiarita da ulteriori studi molecolari derivanti dalle conoscenze su alcuni geni codificanti proteine (Houpikian Raoult 2001) quali citrato-sintasi *gltA* (La Scola et al. 2003) e 60kDa *groEL*-encoding (Sumner et al. 97; Marston et al. 1999; Houpikian e Raoult 2001).

Metodi comparativi di analisi molecolare sulle diversità genetiche, come il MLST (multilocus sequence typing), hanno portato alla creazione di un albero filogenetico a cui corrispondono alcune particolari caratteristiche sotto il profilo epidemiologico e patogenetico (Vayssier-Taussat et al. 2010; Gillespie et al. 2010; Pulliainen e Dehio 2012).

La marcata differenza genetica interna e la variabilità di specie sono state associate alla capacità di adattamento di *Bartonella* spp. ad infettare nuovi reservoir e vettori. (Chomel et al. 2009c).

In generale, le bartonelle infettano una linea cellulare bersaglio da cui ciclicamente i batteri passano nel torrente circolatorio aderendo ed invadendo gli eritrociti (Marignac et al. 2010).

Differenti studi genetici hanno dimostrato che le trentatre specie appartenenti al genere *Bartonella* (www.bacterio.net) sono suddivise in 4 raggruppamenti (eccetto *B. tamiae* e *B. australis*, specie

ancestrali) (Engel et al. 2011; Guy et al. 2013; Zhu et al. 2014).

* L1 è composto unicamente da *B. bacilliformis* considerata una specie ancestrale: essa è dotata di meccanismi patogenetici unici e marcatamente virulenti. È immobile, ma flagellata ed è priva di numerosi fattori di virulenza tipici degli altri gruppi. Paul et al. hanno recentemente dimostrato la presenza di sub-specie e di meccanismi di mutazione genetica con fenomeni interni di divergenza/convergenza tra le diverse genovarianti (Paul et al. 2016).

* L2 è composta da specie ruminanti-specifiche in grado d'infettare gli eritrociti di diverse specie di ruminanti simili (*B. schoenbuchensis*, *B. chomelii*). Viene accomunato dalla presenza del Vbh-T4SS, un sistema di coniugazione batterica omologo al VirB ottenuto tramite LGT (lateral gene transfer). L'acquisizione del Vbh è coincidente con l'allontanamento filogenetico da L1 (Saenz et al. 2007).

* L3 è composta da specie infettanti differenti mammiferi e che hanno acquisito per LGT (lateral gene transfer) il VirB/D4 T4SS (*B. clarridgeiae*, *B. rochalimae*). Sono anch'esse flagellate. Sembra che il Vbh deteriori in presenza di VirB/D4 T4SS (Saenz et al. 2007).

* L4 è il gruppo in cui presiedono il maggior numero di specie e alcune di grande importanza per l'uomo (*B. henselae*, *B. quintana*). È dotata del VirB/D4 T4SS e del Trw T4SS, elementi essenziali per l'interazione con l'ospite a diversi livelli del processo infettivo (Engel et al. 2011; Guy et al. 2013; Zhu et al. 2014). Il Trw è considerato fondamentale nella capacità d'infettare gli eritrociti di ospiti reservoir specifici nonché nuove specie entro vicinanze evoluzionarie (Seubert et al. 2003; Nystedt et al. 2008). L4 è caratterizzato dalla perdita dei fattori di virulenza di L1 (flagello) (Dehio 2004).

Il sistema di secrezione tipo IV, o T4SS, è un sistema di trasporto di membrana utilizzato per trasportare substrati molecolari in cellule target (Backert 2006). È estremamente simile a sistemi di coniugazione batterica (Christie et al. 2005). Si presume quindi che sia stato acquisito durante l'evoluzione tramite LGT di un plasmide alieno (Engel et al. 2011, Guy et al. 2013). È ormai ben noto come questi tipi di meccanismi batterici abbiano profondamente inciso nella storia evolutiva degli eucarioti come ad esempio l'acquisizione endosimbiotica di alcuni organelli maggiori quali i mitocondri (Syvanen 2012). Anche se talvolta tali acquisizioni non vengono mantenute e non incidono sull'evoluzione a lungo termine (Ku et al. 2015), si tratta di elementi importanti negli adattamenti rapidi quali, purtroppo, anche la farmaco-resistenza (Akiba et al. 1960; Schonknecht et al. 2014; Gomes et al. 2016).

In questo caso, come detto, VirB/T4SS è coinvolto in meccanismi patogenetici. In particolare, svolge importanti ruoli nell'infezione eritrocitica. Inoltre, rappresenta il meccanismo di traslocazione di un cocktail di proteine batteriche, dette Beps (Bartonella effector proteins), in grado di modulare la fisiologia intracellulare e favorire l'infezione (Rhomberg 2009; Eicher e Dehio 2012).

È stato dimostrato che VirB/T4SS è un elemento significativo per quanto riguarda la capacità d'infettare un'ampia gamma di ospiti e per la specie-specificità dell'infezione intra-eritrocitaria (Saenz et al. 2007; Engel et al. 2009; Vayssier-Taussat et al. 2010).

VirB/T4SS e Beps sono considerati i principali fattori che hanno portato, tramite una speciazione radiale, alla genesi di traiettorie evolutive parallele tra le specie del genere *Bartonella* (Engel et al. 2011).

Con il termine “speciazione radiale” s'indica quel fenomeno evolutivo che, in condizioni di nuove e disponibili nicchie ecologiche o al mutare delle pressioni ambientali, porta al rapido emergere di un'ampia gamma di specie derivanti da un ristretto (o uno solo) numero di organismi (Schluter 2000).

Comunemente, si assiste allo sviluppo di parallelismi evolutivi che portano alla capacità d'occupare nicchie ecologiche vicine tramite processi di adattamento indipendenti ed autonomi tra loro (Duponchelle 2008; Kronforst et al. 2006).

La capacità comune d'infettare ospiti mammiferi sembra essere riferibile al comune core genetico del genere (Saenz et al. 2007) mentre l'integrazione di *VirB-loci* nel DNA cromosomiale batterico e la differenziazione funzionale delle Beps, rappresentano un esempio di parallelismo evolutivo tra L3 e L4, sostenuto da eventi evolutivi indipendenti tra loro.

Malgrado la separazione evolutiva, questi gruppi hanno convergentemente sviluppato Beps tramite metodi di duplicazione e selezione positiva dei geni coinvolti. Sembra che molte delle sostanze con attività biologiche siano derivate appunto da un unico comune gene ancestrale. Ugualmente, sembra che ripetute tirosin-fosforilazioni abbiano generato diverse sostanze partendo da un dominio molecolare comune. Lo sviluppo convergente di Beps in L3 e L4 sono un chiaro indicatore del ruolo centrale del sistema VirB/T4SS nella modulazione della fisiologia dell'ospite infettato (Engel et al. 2011).

Le Beps dimostrano alcune caratteristiche strutturali comuni ma hanno un'altissima variabilità per quanto riguarda i terminali proteici, anche tra specie vicine come *B. henselae* e *B. quintana* (Saenz et al. 2007).

La vicinanza genetica tra i generi *Bartonella*, *Brucella*, *Agrobacterium* e *Rhizobium* è riscontrabile anche in alcune manifestazioni clinico-epidemiologiche come l'instaurarsi di infezioni croniche intracellulari e il modellamento della risposta difensiva dell'ospite (Alsmarck 2004 et al.; Ben Tekaya et al. 2013). Il completo sequenziamento del genoma di *B. henselae* e *B. quintana* dimostra come si tratti di una versione ridotta del cromosoma I di *Brucella melitensis* (Alsmarck et al. 2004).

I membri della famiglia *Bartonellaceae* sono batteri Gram-, mesofili, pleomorfi, spesso bacillari o

coccobacillari, di piccole dimensioni (0.5-0.6µm x 1.2-2.0µm), intracellulari facoltativi.

Molti di essi sono classicamente considerati bacilli eritrocito-aderenti (Kordick e Breitschwerdt 1995; Mehock et al. 1998) ma oggi sappiamo che le cellule bersaglio infettabili comprendono anche gli endotelioцити (Hill et al. 1992, Dehio et al. 1997) e altre cellule nucleate della linea mieloide, quali monociti, macrofagi e CD34 progenitor-cells (Resto-Ruiz et al. 2002, Schulte et al. 2006, Vermi et al. 2006). In vitro, è stata confermata l'infezione di cellule epiteliali (Batterman et al. 1995, Kempf et al. 2005, Truttmann et al. 2011).

Nei tessuti fortemente infettati, le bartonelle tramite impregnazione argintica (o colorazione Warthin-Starry) sono osservabili come piccoli bacilli che tendono ad apparire in raggruppamenti molto compatti. Rilievi simili possono essere rinvenuti negli eritrociti tramite la colorazione Grunwald-Giemsa.

Notoriamente, le bartonelle sono considerati batteri molto esigenti che necessitano una lunga incubazione (dai 5-15 ai 45 gg). Sono coltivabili in Agar-sangue fresco di coniglio, pecora o cavallo e sono altamente eme-dipendenti (Chomel et al. 2004). La crescita ottimale si sviluppa a 35°-37°C (28°C solo per *B. bacilliformis*) con 5% di CO₂ (Lynch 2012). Le colonie appaiono con formazioni rialzate, rugose e secche di colore bianco con una fossetta centrale. Le colonie sono di consistenza dura ed è generalmente difficile eseguire un buon trasferimento.

I metodi biochimici trovano poca applicazione a causa dei lunghi tempi d'incubazione. *Bartonella* spp. è catalasi-, ossidasi-, ureasi- e nitrato reductasi- e biochimicamente inerte eccetto per la produzione di peptidasi (Breitschwerdt e Kordick 2000).

Alla luce della grande difficoltà d'isolamento è stato sintetizzato un nuovo terreno liquido Si tratta del BAPGM (Bartonella-Alphaproteobacteria growth medium), un efficiente terreno di pre-arricchimento utilizzato in combinazione con le tecniche diagnostiche PCR (Maggi et al. 2005; de Paiva Diniz et al. 2009). Recentemente, è stato formulato un terreno liquido specifico per *Bartonella* spp. privo di siero ematico (Muller et al. 2016).

Studi comparativi sulle colture cellulari hanno dimostrato che *Bartonella* cresce con risultati simili sia su linee cellulari di insetti -S10- quanto di mammiferi -M10- (eccetto *B. quintana* che predilige le cellule di mammiferi). Per quanto riguarda il dibattuto tema della temperatura d'incubazione ideale in vitro, lo studio di Lynch et al. dimostra che non c'è differenza significativa nella temperatura d'incubazione (35°C o 37°C) se si utilizzano linee cellulari insetti-mammiferi miste (Gouriet et al. 2005; Lynch et al. 2011).

Alcune capacità angioproliferative di *Bartonella* spp. sono state ben dimostrate tramite la coltura in vitro su HUVEC (human umbilical vein endothelial cell) (McCord et al. 2007).

Bartonella henselae, è il batterio maggiormente conosciuto all'interno del genere *Bartonella*. Ha una diffusione mondiale (Anderson e Neuman 1997; Franz e Kempf 2011; Harms e Dehio 2012).

B. henselae è stata descritta in un paziente affetto da Cat Scratch Disease da Debrè nel 1950 e probabilmente da Parinaud che riportò sintomi simili in pazienti affetti da sindrome oculoghiandolare (Debrè et al. 1950; Parinaud 1889). L'isolamento è avvenuto soltanto negli anni '90 ad opera di Hensel. *B.henselae* può essere isolato da eritrociti e linfonodi (Sander et al. 1998). Solo successivamente, sarà collegata ad altre manifestazioni cliniche tipiche dei malati di HIV.

Esistono due genotipi di *B. henselae*: tipo 1 detto “Houston-1” mentre il tipo 2 è detto “Marseille” (La Scola et al. 2002). A la loro volta, sono suddivisi in 4 genovarianti: Marseille, CAL-1, Houston-1 e ZF-1 (Zeaiter et al. 2002). La mancanza di congruenza tra i 16S rRNA dimostrano l'esistenza di fenomeni di LGT tra le varianti di *Bartonella* spp. (Iredell et al. 2003).

B. henselae è dotata di un genoma circolare. Il materiale genetico associato alla patologia è rappresentato principalmente da geni cromosomiali (Ussery et al. 2004). Il genoma, completamente sequenziato nel 2004, consta di circa 1,93 Mbp di cui circa il 72,3% rappresenta la frazione codificante. La regione profago consta di 55 Kb ed è affiancata da 3 isole genetiche di diversa lunghezza (72 Kb, 34 Kb e 9 Kb) atte a sintetizzare molecole che regolano il trasporto dei emoagglutinina filamentosa-FHA (Alsmarck et al. 2004).

Per quanto dei suoi 1665 geni, 301 siano unici, *B. henselae* ha una somiglianza del 98.7% con *B. quintana* che è però priva di isole genetiche. Entrambe le specie devono parte del loro materiale genetico da una derivazione di *Brucella melitensis* (Fiskus et al. 2003).

I geni di riferimento e studio per *Bartonella* spp. sono *16S rRNA*, *eno*, *ftsZ*, *gltA*, *groEL*, *ribC* e *rpoB*.

Il plasmide è composto dai geni *ribD*, *ribC* e *ribE* che codificano rispettivamente per la riboflavin-deaminasi e per le subunità della riboflavin-sintetasi. La riboflavina è il precursore di importanti cofattori come il flavin-mononucleotide e la flavinadenina-dinucleotide. Codesti cofattori sono essenziali nel trasporto degli elettroni e contribuiscono al metabolismo energetico della cellula (Bereswill et al. 1999).

A causa di un meccanismo glicolitico incompleto, *B. henselae* non è in grado di utilizzare il glucosio. È, infatti, priva del gene codificante fosfofruttokinasi (Canback et al. 2002). L'energia viene ottenuta dal catabolismo amminoacidico. Per gli altri riferimenti, mantiene le caratteristiche di genere sopradescritte ma, appartenendo a L4, è priva di flagello (Harms e Dehio 2012).

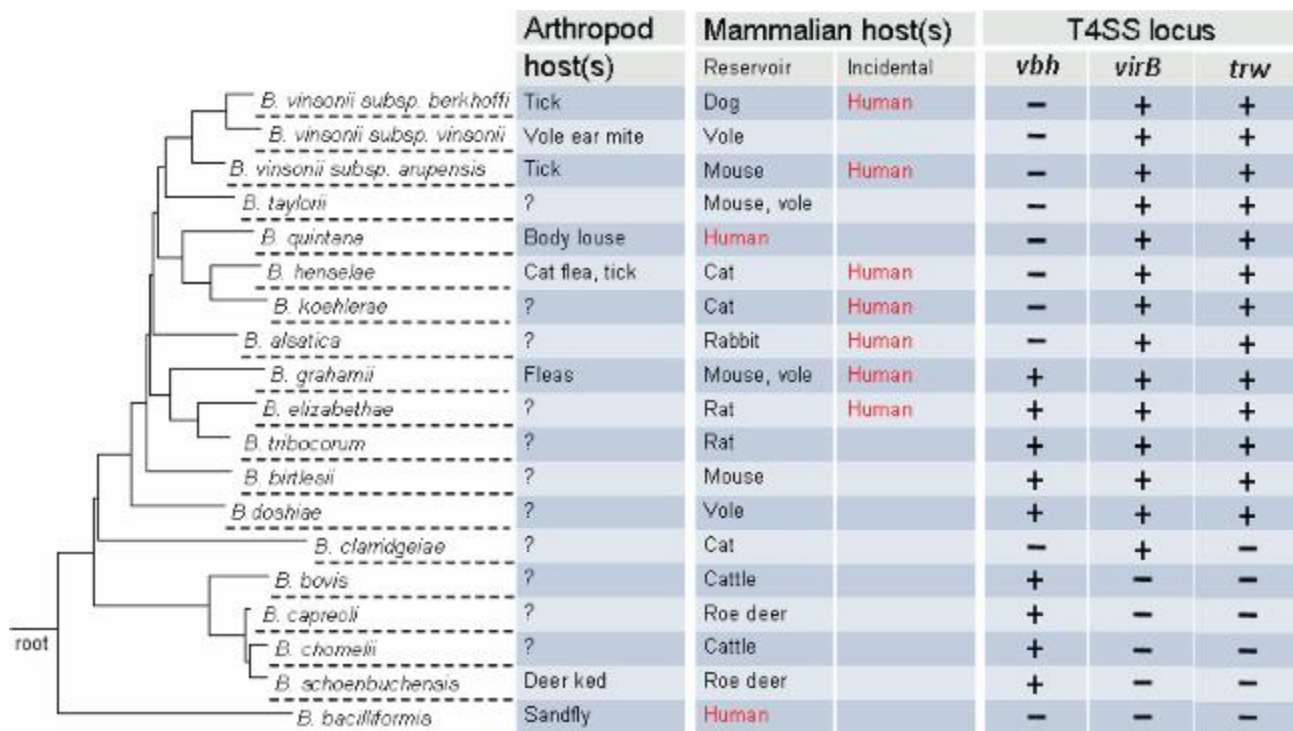


Figura 1: Filogenesi, vettori artropodi e ospiti mammiferi del genere *Bartonella* e distribuzione del sistema di secrezione di tipo IV. Sinistra: albero genealogico del genere *Bartonella* basato multilocus sequence analysis (MLSA, da Saenz et al. 2007). Destra: tavola riassuntiva sull'ospite specificità e sulla presenza e assenza di loci codificanti il T4SS tra le differenti specie di *Bartonella*. Adattata da Dehio 2008 (Chomel et al. 2009c).

EPIDEMIOLOGIA

La famiglia *Bartonellaceae* rappresenta un gruppo di batteri che ha avuto un enorme successo ecologico grazie alla sua capacità di infettare un'immensa varietà di ospiti mammiferi e artropodi (Birtles 2005). Oggi l'infezione è documentata anche tra mammiferi acquatici (beluga *Delphinapterus leucas*) e vertebrati non mammiferi (tartarughe marine) (Maggi et al. 2008; Valentine et al. 2007). La diffusione di *Bartonella* spp. è stata resa possibile da vettori artropodi ematofagi i quali hanno svolto una duplice attività: amplificare la prevalenza all'interno di specie reservoir e diffonderla altre specie come ospiti accidentali o reservoir secondari (Kosoy et al. 2012).

Come vedremo, *Bartonella* spp. è causa di varie e molteplici manifestazioni cliniche che affettano sia l'uomo sia altri animali. Tra le patologie che affettano l'uomo ricordiamo la “malattia di Carrion” (*B. bacilliformis*), la “febbre delle trincee” (*B. quintana*), la “malattia da graffio di gatto” (*B. henselae*), forme di endocardite vegetante (*B. henselae*, *B. quintana* e *B. koehlerae*) (Brouqui et al. 1999; Raoult et al. 1996; Avidor et al. 2004), l'angiomatosi bacillare (*B. henselae* e *B. quintana*), la peliosi epatica (*B. henselae*) e altre forme più rare e/o atipiche. Accanto a codeste, “nuove” bartonelle animale-specifiche vengono segnalate in un numero crescente di casi di zoonosi e infezioni in ospiti accidentali. L'ospite, in particolare se immunodepresso o non competente, può essere portatore cronico dell'infezione contribuendo alla disseminazione e al mantenimento di forme endemiche.

Bartonella spp. genera generalmente batteriemie croniche intra-eritrocitarie o endoteliotropiche nei casi di infezione con ospiti reservoir. Le infezioni accidentali sono più tipicamente caratterizzate da batteriemie intermittenti (Eremeeva et al. 2007; Chomel et al. 2009c; Breitschwerdt et al. 2010a).

Negli ultimi anni, questo paradigma di specie-specificità è stato però più volte smentito alla luce di casi di infezioni sostenute da bartonelle animale-specifiche. Sono stati ad esempio documentati casi in pazienti umani immunocompetenti sottoposti a forti contatti con animali e/o artropodi (Breitschwerdt 2007; Lantos et al. 2014; Vayssier-Taussat et al. 2016). Nel 2009, Chomel et al. hanno proposto una teoria secondo cui questa relazione di ospite-specificità sia frutto di una convergenza ecologica tra vari elementi: ospite, vettore e ambiente (Chomel et al. 2009c). In generale, sembra esista una correlazione tra le prevalenze della specie di *Bartonella* spp. registrate nella popolazione animale e umana della medesima zona geografica (Vayssier-Taussat et al. 2016).

Le specie di *Bartonella* hanno spesso una distribuzione mondiale con regioni ad alta prevalenza a causa della distribuzione e della densità dei relativi ospiti e/o vettori.

Diverse cause concorrono nel rendere (e aver reso) complicata l'identificazione di *Bartonella* spp. in pazienti umani o animali, in particolar modo in casi pauci-/asintomatici. Numerosi casi umani e canini di endocardite sostenute da varie bartonelle animale-specifiche (es: *B. koehlerae*, *B. alsatica*, *B.*

vinsonii subsp.*berkhoffii*, *B. vinsonii* subsp.*arupensis*, *B. washoensis*, *B. elizabethae*) (Roux et al. 2000; Fenollar et al. 2005; Raoult et al. 2006; Kosoy et al. 2003; Jeanclaude et al. 2009) sembra siano dovute a batteriemie croniche asintomatiche sfociate, talvolta, nella patologia cardiaca dopo periodi di immunodepressione (O'Halloran et al. 1998; Smith et al. 2002).

Uno studio retrospettivo statunitense ha stimato un'incidenza clinica di Bartonellosi aspecifiche umane di 9.3/100mila persone nel periodo 1978-89. Altresì, nel Connecticut (USA) sono stati stimati 3.7/100mila persone (Jackson et al. 1996). Sempre nel 1993, uno studio ha invece riportato un'incidenza di 12.5 casi ogni 100mila persone nei Paesi Bassi (Bergmans et al. 1997). Nell'est della Cina, la sieroprevalenza per *Bartonella* spp. è stata individuata nel 20% di 557 donatori di sangue (Sun et al. 2010) mentre a Seattle fortunatamente solo il 2% dei donatori ha registrato una sieroprevalenza per *B. quintana* (Jackson et al. 1996). Recentemente in Brasile, *Bartonella* spp. sono state individuate nel 3% dei donatori di sangue (Diniz et al. 2016). E', quindi, facile supporre che i casi di infezione umana da *Bartonella* spp. possano essere migliaia ogni anno (Boulouis et al. 2005).

BARTONELLOSI EQUINE

Nel cavallo, *Bartonella* spp. è stato inserito tra gli agenti patogeni solo da pochi anni. Nel 2008 è stata registrata la prima messa in evidenza in campioni ematici tramite PCR e real-time PCR presso l'ospedale universitario dello stato del North Carolina. Si trattava di due cavalli adulti ospedalizzati rispettivamente per una sindrome colica e per un'artropatia cronica. Il primo cavallo, una giumenta di 7 anni, riportava segni riconducibili a porpora emorragica mentre, il secondo, un castrone purosangue inglese di 11 anni, riportava sintomi da 5 anni, cioè circa 1 anno dopo il suo trasferimento dal Brasile agli USA. Sono stati ottenuti isolamenti colturali solo nel caso del castrone di 11anni (Jones et al. 2008). Nel 2009, in Indiana (USA), prove molecolari, istologiche e immunochimiche eseguite su campioni prelevati da un feto di Quarterhorse abortito tra i 240-270 gg. di gravidanza hanno dimostrato la presenza di *B. henselae* in polmone, fegato e reni. Tra le numerose specie studiate, si tratta della prima documentazione di morte fetale dovuta a severe vasculiti causata da *B. henselae*. Un altro caso è stato riportato in Pennsylvania in un puledro di Purosangue Inglese di 3,5 mesi di età affetto da una grave colangioepatite suppurativa. La sintomatologia e le analisi istologiche hanno direttamente associato il quadro ad un'infezione epatica di origine ematogena-portale sostenuta da *B. henselae* (Setlakwe et al. 2014). Nel 2011, viene invece segnalato in Germania un caso letale di anemia emolitica acuta in una cavalla di 2 anni di età (Cherry et al. 2011). Se nell'uomo la “febbre di Oroya” ha un pattern patologico simile, si tratta in realtà di una manifestazione che è stata raramente riscontrata nella clinica di *Bartonella* spp. tra le specie animali (unicamente nel cane) (Breitschwerdt et al. 2004; Henn et al. 2005). Nel 2012, il DNA di *B. vinsonii* subsp.*berkhoffii* è stato amplificato da

campioni istologici canini prelevati da un emangiopericitoma. Sono state evidenziate lesioni angioproliferative simil-tumorali frutto della secrezione del fattore di crescita dell'endotelio vascolare (VEGF) (Beerlage et al. 2012).

Nel 2012, Cherry et al. hanno svolto uno studio di screening epidemiologico su 92 cavalli sani e malati nel Sud Est degli USA. I risultati hanno dimostrato che nella popolazione analizzata erano presenti *B. henselae*, *B. vinsonii* subsp. *berkhoffii* (tipo I e III) e un terzo batterio Candidatus *Bartonella volans* (individuato in *Glaucomys volans* o scoiattolo volante) (Cherry et al. 2012).

Lo stesso anno presso l'ospedale veterinario dell'università della California, Palmero et al. pubblicano i risultati di un'infezione sperimentale svolta su 12 cavalli adulti sani di varie razze. Gli animali, previamente risultati negativi a livello sia sierologico che colturale e suddivisi in due gruppi studio da 6 esemplari, vennero rispettivamente inoculati con *B. henselae* e *B. bovis*. All'interno di ogni gruppo, mantenuti isolati per tutta la durata dello studio, erano presenti 2 esemplari sentinella non-inoculati. I risultati sierologici del primo gruppo, composto unicamente da giumente, hanno riportato lo sviluppo di batteriemia e sieroconversione post-inoculazione in 3 dei 4 individui (titolo positivo 1:64). La sieroconversione è stata registrata al giorno post-inoculazione (GPI) 8 in tutti gli esemplari inoculati.

Nello specifico:

- Il cavallo 1 ha fatto registrare un picco anticorpale (1:1024) nel periodo compreso tra GPI 19-42. A GPI 80, il titolo anticorpale era sceso a 1:256 per essere definitivamente negativo a GPI 139.
- Il cavallo 2 ha anch'esso riportato un picco anticorpale (1:1024) nel periodo GPI 19-42 con però una più rapida diminuzione al GPI 80 (1:64). La sieronegatività è stata segnalata anche in questo caso a GPI 139.
- Il cavallo 3 ha fatto registrare un andamento simile (sieroconversione a GPI 8 e sieronegatività a GPI 139) con però un picco anticorpale più alto (1:2048) al GPI 19. La discesa del titolo anticorpale, più lenta (GPI 42 1:1024; GPI 80 1:256), ha raggiunto la negatività al GPI 139.

Nel secondo gruppo, composto invece da castroni, solo un individuo ha fatto registrare un leggero ma poco significativo aumento dei titoli anticorpali per *B. bovis* (1:64 nell'intervallo GPI 19-33). Al GPI 42, l'esemplare è risultato chiaramente sieronegativo.

Sul fronte clinico, in entrambi i gruppi sono state segnalate solo generiche sindromi febbrili di breve durata e prive di effetti a lungo termine (controllo fino ai 2 anni post-inoculazione). Reazioni edematose e raramente purulente, si sono sviluppate nel sito d'inoculazione (Palmero et al. 2012).

Un dato interessante a riguardo della distribuzione geografica è riportato da uno studio spagnolo sulla presenza di *Bartonella* spp. in piccoli e grandi ruminanti e cavalli nel nord della Spagna. Mentre la maggior parte dei bovini era affetto da *B. chomelii*, i cavalli che condividevano lo stesso areale sono

risultati tutti negativi a questo agente (Antequera-Gomez 2015).

B. HENSELAE

Il gatto è riconosciuto universalmente come il reservoir specifico di *B. henselae* nonché di *B. clarridgeiae* e *B. koehlerae* anche se ormai è chiaro che questi modelli possono subire, come visto, delle variazioni (Chomel et al. 1995; Koehler et al. 1997; Regnery et al. 1992). *Bartonella henselae* è sicuramente la specie zoonotica di maggior interesse sotto il profilo della diffusione geografica, della prevalenza epidemiologica e della variabilità delle forme cliniche che provoca nell'uomo e in altri animali. I gatti sani e immunocompetenti possono veicolare *B. henselae* da alcuni mesi fino ad anni (Breitschwerdt e Kordick 2000). Infezioni da parte di genotipi differenti di *B. henselae* sono state riportate anche in grandi felini selvatici americani quali puma -29%- (*Puma concolor*), lince rossa -37%- (*Lynx Rufus*) e nel leopardo (*Acinonyx jubatus*) (Chomel et al. 2004). Come già detto, la sieroprevalenza di anticorpi per *B. henselae* può variare enormemente in base alla regione (Mogollon Pasapera et al. 2009; Sun et al. 2010) ed in base anche ad altri fattori epidemiologici (Vorou et al. 2007; Pandak et al. 2009; Pitassi et al. 2015).

Negli anni, sono state riportate numerose indicazioni epidemiologiche sulla variabilità della distribuzione di *B. henselae*. Innanzitutto, sono stati individuati due 16S rRNA genotipi: genotipo 1/Houston-1 e genotipo 2/Marseille.

Houston-1 sembra più diffuso in Asia (Giappone) mentre Marseille in Europa occidentale, USA occidentali e Australia (Maruyama et al. 2000; Bergh et al. 2002; Engvall et al. 2003; Messam et al. 2005) In Francia sono stati trovate prevalenze contrastanti in base alla regione geografica (Chomel et al. 2006a).

Il fatto che il genotipo Houston-1 sia più diffuso nell'uomo anche in ambienti con una sieroprevalenze felina per il genotipo Marseille, fa supporre che il genotipo 1 sia più virulento per la specie umana (Woestyn et al. 2004; Boulouis et al. 2005; Bouchouicha 2009).

Le co-infezioni con entrambi i genotipi sono rare ma sono state individuate in percentuali più alte in Europa (Gurfield et al. 2001; Fabbi et al. 2004).

Tendenzialmente, la sieroprevalenza di *B. henselae* nel gatto aumenta nelle regioni progressivamente più calde e umide e, conseguentemente, più ricche di artropodi ematofagi (Dalton et al. 1995; Boulouis et al. 2005). Dove i vettori sono stabili, la sieroprevalenza nella popolazione felina domestica o randagia può raggiungere il 50% (Heller et al. 1997; Breitschwerdt e Kordick 2000). Basse sieroprevalenze si riscontrano in gatti domestici del Nord Europa (Norvegia 0%, UK 9.4-11.4%, Germania 15%) e aumentano al crescere di temperatura ed umidità (Nord Est Spagna 21.1%, Madrid 23.8%, Spagna mediterranea 71.4%) (Breitschwerdt et al. 2005; Chomel et al. 2004).

Questa tendenza viene rispettata anche in altri continenti. In uno studio svolto in USA, *B. henselae*

non è stata riscontrata nello stato di Colorado mentre era presente nel 56.9% dei campioni ematici prelevati da gatti selvatici in Alabama e Florida (Lappin e Hawley 2009). La costa Est sembra più interessata alla presenza di *B. henselae* (Jackson et al. 1996). In Asia, sono affetti il 68% dei gatti delle Filippine. Uno studio eseguito in Korea su campioni ematici, salivari e sui residui degli artigli di gatti selvatici e domestici, ha riportato prevalenze del 29.5-44.1%. I gatti domestici risultano mediamente meno infetti.

In Italia, uno studio eseguito su gatti randagi in Lombardia ha rilevato una prevalenza del 20.6% per il genotipo Houston-1 e del 61.1% per il genotipo Marseille (Fabbi et al. 2004). Sempre in Lombardia, un'indagine sierologica ha riportato sieropositività per 23.1% di 1300 gatti randagi testati. Di questi, il 15.5% era batteriemico per *B. henselae* e 1.5% per *B. clarridgeae* (coltura batterica) (Brunetti et al. 2013). A Reggio Emilia, è stato possibile isolare *B. henselae* nel 9.7% (24/248) dei campioni ematici prelevati da gatti domestici urbani (Cabassi et al. 2002). A Messina, è stato riscontrato il DNA di *B. henselae* nel 70.6% dei campioni ematici e nel 60% dei campioni orali prelevati da 85 gatti domestici (Pennisi et al. 2010).

Sempre in Italia, è stata dimostrata la presenza sierologica di *B. henselae* in bambini affetti da vari disturbi, in un primo momento apparentemente non riconducibili a problemi infettivi (Mansueto et al. 2012). L'infezione per *B. henselae* è frequente in Toscana e, probabilmente, non diagnosticata a causa di un alto grado di manifestazioni atipiche e lievi. L'infezione per *B. henselae* è un evento infettivo comune tra i bambini del centro Italia e, nella maggioranza dei casi, si risolve spontaneamente dopo un decorso pauci- o asintomatico (Massei et al. 2004; Brunetti et al. 2013).

In Toscana, due differenti studi riportano una sieroprevalenza del 23% (98/427) tra gatti domestici privati e provenienti da colonie feline (Ebani et al. 2002). Ebani et al., tramite un'indagine molecolare su campioni ematici di gatto, hanno individuato una prevalenza di 6.84% per genotipo Houston-1, 2.56% per Marseille e di 0.85% per co-infezioni con entrambi i genotipi (Ebani et al. 2012). Anche il cane può comunque essere albergatore di *B. henselae* (sieroprevalenza USA: 10% cani sani; 35% cani malati (Solano-Gallego et al. 2004).

B. QUINTANA

L'uomo è ospite-reservoir primario di *B. quintana*. L'infezione è stata conosciuta sotto il nome di "febbre delle trincee", una patologia che ha afflitto quasi un milione di soldati durante i conflitti mondiali. Fin dagli anni '40 sono stati riportati casi d'infezione asintomatica cronica nelle comunità di senza tetto di diverse città di Europa, Asia, Americhe e Africa. È noto che *B. quintana* è spesso l'agente eziologico di forme di endocardite coltura-negativa in pazienti senza fissa dimora HIV-negativi (Kostrzewski 1949; Drancourt et al. 1995; Rydkina et al. 1999; Raoult e Roux 1999; Sasaki

et al. 2002; Fournier et al. 2001). Studi eseguiti in Francia su circa un centinaio di persone senza fissa dimora non-ospedalizzati hanno rilevato batteriemia nel 5,4-14% dei casi (Bronqui et al. 1999; Bronqui et al. 2005). Recenti studi hanno segnalato anche casi di contagio diretto dal contatto con cani e gatti accidentalmente infetti. Ne sono stati ottenuti campioni orali positivi (La 2005; Kelly 2006; Breitschwerdt 2007; Mosbacher et al. 2011).

Le conclusioni di uno studio di Raoult et al. (1996) su alcuni casi di endocarditi umane, sostengono che il 3% di tutte le endocarditi umane potrebbero essere dovute eziologicamente a *Bartonella* spp., in particolare *B. henselae* e *B. quintana*. Uno studio del 2005, eseguito con tecniche sierologiche, molecolari e microbiologiche, indica invece che 28% (99/348) dei pazienti affetti da endocardite-colturanegativa erano affetti da *Bartonella* spp. (Houpikian e Raoult 2005).

B. CLARRIDGEAE

B. clarridgeae è un'altro batterio che viene associato a forme zoonotiche e si ritiene possa essere un agente eziologico minore della CSD. Come già detto, ha come ospite-reservoir il gatto. (Chomel et al. 1995). Sono stati riportati numerosi rari casi di endocardite sostenuti da *B. clarridgeae* (Chomel et al. 2004; Chomel et al. 2006a). Uno studio del 2000, rivela la presenza di anticorpi anti-flagellina (FlaA) nel 3.9% di pazienti umani affetti da linfadenopatia (Sander et al. 2000). Nel gatto, la distribuzione è mondiale e la sieroprevalenza variabile: 30-36% in studi eseguiti in Francia, Paesi Bassi e Filippine, inferiori al 10% nel sud est degli Usa, in Giappone e nell'isola di Taiwan (Chomel et al. 2004; Guptill 2003). Sieroprevalenze di *B. clarridgeae* registrati in casi di endocardite ed epatite granulomatosa canina, rappresentano un altro dato che fa presumere un'analogia tra l'infezione canina e quella umana (Chomel et al. 2001; Gillespie et al. 2003). In Gabon, *B. clarridgeae* è stata isolata nel 2% di cani esaminati da cui deriva l'ipotesi per cui possa svolgere un ruolo minore come reservoir nel continente africano (Gundi 2004).

B. BACILLIFORMIS

B. bacilliformis è una specie ancestrale appartenente al gruppo L1 ed è specie-specifica per l'uomo. È agente eziologico della “malattia di Carrion”. L'uomo ne è ospite-reservoir (Kosoy et al. 2003). Nelle comunità endemiche i bambini vengono affetti da lievi o acute forme febbrili ma sono soprattutto persone non-native che sviluppano forme acute e gravi (Maguina e Gotuzzo 2000). Il 10% delle persone native sviluppano una batteriemia cronica asintomatica e rappresentano il reservoir endemico della popolazione (Chomel et al. 2009c). Non è mai stata isolata in altri ospiti mammiferi. L'ambiente andino e il limitato areale del flebotomo che la veicola (genere *Lutzomyia*) la rendono una

specie tipicamente endemica della regione peruviana anche se, negli ultimi anni, nuovi casi vengono costantemente individuati in paesi limitrofi come Ecuador o Colombia (Ihler 1996; Clemente et al. 2012; Minnick et al. 2014). La diffusione, oltre che a causa di un aumentato movimento delle popolazioni, viene associato anche a quei cambiamenti climatici che possono alterare la densità dei vettori artropodi (Huarcaya et al. 2004). Particolare attenzione è stata posta sul fenomeno meteorologico de “El Nino”.

B. VINSONII

B. vinsonii subsp.*vinsonii* è stata isolata nel 1940 dal topo canadese (*Microtus pennsylvanicus*) (Baker 1946). *B. vinsonii* subsp.*berkhoffii* è stata isolata per la prima volta da Breitschwerdt et al. nel 1995 nel cane (Breitschwerdt e tal. 1995). La sieroprevalenza nel cane è di 1-38%, nel coyote (*Canis latrans*) di 35-71% ed è stata segnalata anche nella volpe grigia (*Urocyon cinereoargenteus*) (Chang et al. 2000; Henn et al. 2005; Maggi et al. 2006). Secondo Henn et al., i canidi rappresenterebbero il reservoir specifico (Henn et al. 2009). I batteri sono stati individuati anche nella cavità orale del cane (Duncan 2007; Mosbacher et al. 2011). È una specie zoonotica e la sua presenza è stata riportata raramente anche nei felini mentre mai nei roditori (Chomel et al. 2006b). Sono stati identificati 4 diversi genotipi di *B. vinsonii* subsp.*berkhoffii* (Cadenas et al. 2008; Maggi et al. 2006). Generalmente infetta cani di zone rurali abituati a vivere all'aperto (Pappalardo et al. 1997). Il cane rappresenta una specie animale molto suscettibile alle infezioni accidentali di varie specie di *Bartonella* ed è considerato una specie sentinella nonché un valido modello comparativo per la patologia umana anche dal punto di vista clinico (Breitschwerdt et al. 2013).

B. KOEHLERAE

B. koehlerae è stato isolato per la prima volta dal gatto in California, Francia e successivamente Israele (Droz et al. 1999; Guptill 2003; Rolain et al. 2003b). Il gatto rappresenta il principale reservoir e lo può veicolare senza manifestazioni sintomatiche (Breitschwerdt e Kordick 2000). Sempre in Israele, Avidor et al. hanno associato l'infezione ad un caso di endocardite umana (Avidor et al. 2004). Sono state definite due nuove sub-specie: *B. koehlerae* subsp.*bothieri* e *B. koehlerae* subsp.*koehlerae* (Chomel et al. 2016).

B. ROCHALIMAE

B. rochalimae, specie zoonotica precedentemente conosciuta come *B. simil-clarridgeiae*, è stata

individuata nel cane e in numerosi altri canidi selvatici i quali sono ritenuti reservoir primari (Henn et al. 2007; Gabriel et al. 2009). Nel nord della Spagna, *B. rochalimae* è stata individuata in un esemplare di lupo (*Canis lupus*) e di volpe rossa (*Vulpes vulpes*) (Gerrikagoitia et al. 2012).

BARTONELLE RUMINANTI-SPECIFICHE

B. schoenbuchensis e *B. capreoli* sono state rintracciate in caprioli (*Capreolus capreolus*) in Europa (Dehio et al. 2001). In California, il 90% dei cervi mulo (*Odocoileus hemionus*) risultano positivi a *Bartonella* spp (Chang et al. 2000).

B. melophagi è una specie zoonotica presumibilmente associata alla pecora (*Ovis aries*) anche se è stata più facilmente individuata nel vettore associato *Melophagi ovinus* (Maggi 2009; Halos et al. 2004; Kumsa et al. 2014).

B. bovis e *B. chomelii* sono state individuate in ruminanti domestici sia in Europa che negli Stati Uniti con tassi di sieroprevalenza molto alti (42-89% o superiori a 90%) (Chang et al. 2000; Breitschwerdt et al. 2001; Maillard et al. 2006). *B. bovis* è stata da poco associata ad endocardite nel bovino (Maillard et al. 2007; Erol et al. 2013). Uno studio eseguito su 893 bovini in 5 differenti paesi (Kenya, Thailandia, Giappone, Georgia e Guatemala) e su 103 bufali d'acqua thailandesi (*Bubalus bubalis*) ha dimostrato una presenza molto variabile di *B. bovis*. In Giappone, Kenya e parte della Georgia non è stata riscontrata; in Guatemala, in Thailandia e in altre regioni georgiane si sono registrate prevalenze di 10-90%. In Georgia, è stata identificata anche *B. chomelii* in 9 esemplari mentre *B. schoenbuchensis* in uno solo. Uno studio di MLST, ha permesso d'individuare 3 sottogruppi di *B. bovis* (Bai et al. 2013). Si tratta di bartonelle zoonotiche ruminanti-specifiche appartenenti a L3. Nel Paese Basco, è stata riscontrata una presenza nel 18.3% dei bovini con una predominanza di *B. chomelii* (Antequera-Gomez et al. 2015). Vista l'ampio range di sieroprevalenza registrato, si considera che dipenda in primis dalla diversa esposizione a vettori che dipende direttamente dalle condizioni ambientali. Il bestiame allevato in regime estensivo fa registrare percentuali più alte mentre, l'allevamento in regioni montagnose ne abbassa le percentuali (Chang et al. 2000, Bai et al. 2013). Inoltre, è stato registrato un aumento della batteriemia durante periodi di gravidanza probabilmente a causa dell'azione immunosoppressiva degli ormoni associati alla gestazione (Maillard et al. 2006).

B. schoenbuchensis è una specie zoonotica (Vayssier-Taussat et al. 2016).

BARTONELLE RODITORI-SPECIFICHE

Le ultime specie scoperte hanno dimostrato che il gruppo più numeroso di bartonelle è quello

associato ai roditori. Sono state segnalate infezioni in ben 98 specie appartenenti ad almeno sette famiglie differenti e disperse per tutto il mondo (Gutierrez et al. 2015). Molte di queste sono state individuate come agenti eziologici di manifestazioni cliniche umane quali endocarditi (Fenollar et al. 2005), miocarditi (Kosoy et al. 2003), alcune forme affettanti il sistema nervoso (meningiti, neuroretiniti intraoculari) o linfadenopatie (Probert et al. 2009; Oksi et al. 2013). Le conoscenze epidemiologiche sono limitate vista la dimensione del gruppo e il recente interessamento da parte degli studi.

Sono state descritte 22 specie di *Bartonella* roditore-specifiche alcune delle quali scoperte partendo dall'infezione umana (Buffet et al. 2013). Ogni anno, vengono scoperte bartonelle roditore-specifiche in tutti i continenti (Lin et al. 2012; Gundi 2004; Ying et al. 2002). Alla luce di questi studi, s'ipotizza che il genere *Bartonella* possa essersi sviluppato secondo un processo di co-evoluzione con i roditori (Telfer et al. 2007). Ciò è suggerito dal fatto che specie di *Bartonella* evolutivamente vicine sono riscontrabili in gruppi di roditori separati da considerevoli distanze geografiche (Castle et al. 2004; Bai et al. 2008a; Bai et al. 2008b). Inoltre, infezioni sperimentali hanno dimostrato la trasmissione orizzontale tra roditori anche utilizzando un'isolato derivato dall'infezione con un'altra specie vicina (Kosoy et al. 2000; Gutierrez et al. 2015).

In realtà, altri studi inducono a pensare che la capacità di alcune bartonelle di causare batteriemia in ospiti accidentali, eseguendo così un salto di specie, dipenda dalla variante genetica e dalle sue abilità di virulenza, come nel caso di *B. grahamii* (Berglund et al. 2009). *Bartonella* spp. sono state individuate nel 42.2% di sette specie diverse di roditori nel sud-est degli USA mentre in UK sono state individuate nel 64% di vari roditori selvatici (Kosoy et al. 1997; Birtles et al. 2001). Una visione organica degli studi fin ora eseguiti, indica una prevalenza di *Bartonella* spp. del 17-62% in Europa (Birtles et al. 1994; Bown et al. 2002; Holmberg et al. 2003; Engbaek e Lawson 2004; Tea 2004), 37.2% in Sud Africa (Pretorius et al. 2004), 6-43.5% in Asia (Ying et al. 2002; Castle et al. 2004; Li et al. 2004; Kim et al. 2005; Winoto et al. 2005; Inoue et al. 2008) e 42.2-57% in Nord America (Kosoy et al. 1997; Jardine et al. 2005; Hsieh et al. 2010).

B. elizabethae venne isolata nel 1993 da campioni ematici di pazienti umani affetti da endocardite (Daly et al. 1993). Il ratto comune (*Rattus norvegicus*) ne rappresenta il reservoir primario (Birtles et al. 1999; Ellis et al. 1999). Studi di sieroprevalenza condotti in USA e Svezia ne hanno riportato un tasso del 33-46% tra consumatori di droghe endovenose (Comer et al. 2001, McGill et al. 2003). All'inizio del nuovo millennio, è stata associata ad alcune miocarditi seguite da morte improvvisa che hanno colpito atleti di orienteering in Svezia (McGill et al. 2001). Uno studio comparato tra atleti di orienteering e donatori di sangue ha evidenziato le sieroprevalenze di *B. elizabethae*, *B. henselae* e *B. quintana*. 1136 atleti hanno riportato una prevalenza rispettivamente del 31%, 3% e 1.4% mentre i donatori di sangue nettamente più basse (6.8%, 1.6% e 0.3%) (McGill et al. 2001).

B. grahamii è stata isolata in Uk e Polonia da arvicole (*Clethrionomys glareolus*) (Birtles et al. 1994; Bajer et al. 2001), in Svezia da topi selvatici dal collo giallo (*Apodemus flavicollis*) oltre che da ratti (*Rattus norvegicus*) in Usa (Holmberg et al. 2003) e topi domestici (*Mus musculus*) in California (Ellis et al. 1999).

B. vinsonii subsp. *arupensis*, isolato in Minnesota e Wisconsin (USA), è una specie zoonotica che ha come reservoiri-specifico il topo dalle zampe bianche (*Peromyscus leucopus*). E' stata associata a batteriemia, febbre e sindromi neurologiche (Hofmeister et al. 1998; Welch et al. 1999).

B. tribocorum è stata isolata per la prima volta nel 1998 da campioni ematici di ratti selvatici, *Rattus norvegicus* (Heller 1998). È una specie zoonotica (Vayssier-Taussat et al. 2016).

B. alsatica è stata isolata colturalmente in Alsazia (Francia) da campioni ematici prelevati da conigli selvatici (*Oryctolagus cuniculus*) (Heller et al. 1999) ed è stata associata a linfadenopatia ed endocardite (Angelakis 2008; Raoult et al. 2006; Jeanclaude et al. 2009).

Gli scoiattoli californiani (*Otospermophilus beecheyi*) sono invece considerati reservoir di *B. washoensis*, identificato in casi di miocardite nell'uomo ed endocardite nel cane (Kosoy et al. 2003; Chomel et al. 2003a). Un secondo studio eseguito in California, ha individuato una prevalenza del 71% (32/45) (Ziedins et al. 2016).

MECCANISMI DI TRASMISSIONE

Il ciclo biologico di *Bartonella* spp. è caratterizzato dalla sua trasmissione tramite vettori ematofagi. Si avvia tipicamente con l'inoculazione da parte di un artropodo ematofago in un ospite mammifero. I generi coinvolti sono numerosi e coinvolgono vari ectoparassiti di interesse veterinario. Una via secondaria ma approfonditamente studiata nella specie felina è rappresentata dalla cosiddetta “via stercoraria” (Birtles 2005). Si tratta dell'inoculazione tramite morsi e graffi di residui di feci della pulce contaminate da *Bartonella* spp. Come verrà spiegato successivamente, la patogenesi di *Bartonella* spp. porta all'instaurarsi di un'infezione intraeritrocitaria cronica. La persistenza eritrocitaria si verifica solo nell'ospite reservoir (nonostante siano riportate eccezioni) e rappresenta un elemento chiave per la trasmissione tramite i vettori ematofagi (Chomel et al. 2009c). Ad oggi, sono state riconosciute 20 specie in grado d'instaurare infezioni intraeritrocitarie di cui 13 sono caratterizzate da riconosciute capacità zoonotiche (Boulouis et al. 2005; Kaiser et al. 2011).

I VETTORI

Le Pulci

La pulce felina (*Ctenocephalides felis*) rappresenta il principale vettore-competente nella trasmissione di *B. henselae* tra i gatti (Kohler et al. 1994; Chomel et al. 1996). Il mantenimento dell'infezione nella popolazione felina è difatti essenzialmente connesso all'attività biologica di *C. felis*. In ambiente privi di *C. felis*, è stato riscontrato un tasso d'infezione significativamente inferiore. Questo avveniva malgrado la presenza di esemplari infettati nel gruppo (Chomel et al. 1996). *B. henselae* si moltiplica nel sistema digestivo della pulce e viene continuamente escreta con le feci della stessa pulce. I batteri possono sopravvivere fino a 3 giorni nelle feci della pulce in ambiente esterno. I batteri sono stati individuati anche nell'apparato buccale del parassita fino a 24h dall'ultimo pasto della pulce. (Chomel et al. 2009c; Bouhsira et al. 2013).

In natura, il controllo degli ectoparassiti si dimostra non a caso un'efficace strumento di controllo della trasmissione di *B. henselae* tra la popolazione felina (Lappin et al. 2013). Il gatto può essere portatore anche di *B. quintana*, *B. koehlerae*, *B. clarridgeae*, *B. vinsonii* subsp. *berkhoffii* e *B. bovis*. Si tratta di specie zoonotiche (eccetto *B. bovis*) di cui è stato segnalato il DNA in *C. felis* (Kaiser et al. 2011; Mosbacher et al. 2011; Varanat et al. 2009; Rolain et al. 2003b).

La trasmissione di bartonelle all'uomo è principalmente dovuta al contatto con le feci contaminate di *C. felis*. Stretti contatti fisici e, in particolare, inoculazioni tramite morsi e graffi sono vie d'infezione

comuni (Birtles 2005; Chomel et al. 2009c; Guptill 2003; Billeter et al. 2008; Foil et al. 1998; Chomel e Kasten 2010; Finkelstein et al. 2002). Questa via di trasmissione è meno rilevante ma segnalata anche nella trasmissione orizzontale di *B. henselae* tra gli stessi felini. L'argomento appare però controverso e dibattuto (Guptill 2010).

E' stato suggerito anche il coinvolgimento della pulce del cane (*Ctenocephalides canis*) nella trasmissione di *B. henselae* (Ishida et al. 2001).

Numerose pulci associate a roditori e chiroteri rappresentano, invece, il principale vettore di *Bartonella* spp. all'interno di entrambi gli ordini. La varietà di pulci associate all'ordine *Rodentia* è coinvolta nel ciclo silvestre di numerose specie di *Bartonella*. Si tratta di un'associazione caratterizzata da un alto numero e da un'alta variabilità sia di reservoir (roditori) sia di vettori (pulci dei roditori). Se consideriamo che le pulci tendono a parassitare più specie e che i roditori occupano ambienti e spazi limitrofi, comprendiamo come i contatti interspecifici di *Bartonella* spp. possano essere frequenti. Per queste ragioni, è facile incontrare co-infezioni da diverse *Bartonella* sp. e/o diverse genovarianti tra le specie di roditori (Morick et al. 2011). Il rapporto tra *Rodentia* spp. e *Bartonella* spp. sembra segnato da un'evoluzione più rapida e diversificata rispetto agli altri ospiti-specifici (Berglund et al. 2010; Guy et al. 2013). Si può così intendere la rilevanza che potrebbero ricoprire la molteplicità di vettori nei fenomeni di rimescolamento genetico conseguenti alle co-infezioni di *Bartonella* spp. Probabilmente, da questi meccanismi deriva la capacità di eseguire il “salto di specie” detto anche “spill-over” (Telfer et al. 2007; Paziewska et al. 2012).

Ctenophthalmus nobilis nobilis è vettore dimostrato di *B. grahamsi* e *B. taylorii* (Bown et al. 2004). *Xenopsylla ramesis* è invece vettore-competente per l'isolato simil-elizabethae *Bartonella* OE 1-1. Grazie a questo modello sperimentale pulce-topo, è stato dimostrato il passaggio verticale nelle larve di pulce ma non nelle uova. Si suppone che questo dato dipenda dal comportamento alimentare delle larve di pulce che si nutrono delle feci degli adulti e non da un passaggio transovarico (Morick et al. 2013). Numerosi isolamenti ottenuti dal apparato riproduttore di diverse pulci, inducono alcuni autori a sospettare che gli insetti possano svolgere direttamente il ruolo di reservoir (Brinkerhoff et al. 2010; Kabeya et al. 2011).

I Pidocchi

Il pidocchio umano (*Pediculus humanus corporis*) rappresenta invece il vettore naturale di *B. quintana* nella trasmissione uomo-uomo. Il ruolo del pidocchio e delle loro feci nella trasmissione della “febbre delle trincee” fu evidente quasi 50 anni prima dell'isolamento di *B. quintana* (Byam 1920).

B. quintana replica nell'intestino e nella bocca dell'insetto e può veicolare il batterio sia attraverso il

morso sia attraverso la contaminazione fecale delle ferite (Mosbacher et al. 2011; La et al. 2005; Breitschwerdt 2007; Billeter et al. 2008; Brouqui e Raoult 2006; Regnery et al. 1995). Il pidocchio si nutre almeno 5 volte al giorno. Il batterio inizia a proliferare nel pidocchio intorno al quarto giorno ed è costantemente escreto per almeno 3 settimane. Nell'ambiente, *B. quintana* può sopravvivere fino ad un anno nelle feci. Non è stata dimostrata la trasmissione verticale nel pidocchio (Raoult e Roux 1999; Fournier et al. 2001).

Altri pidocchi, quali *Neohaematopinus sciuri*, *Hoplopleura sciuricola*, *Pediculus humanus capitis*, hanno riportato la presenza di *Bartonella* spp. e potrebbero dimostrarsi in futuro vettori competenti (Durden et al. 2004; Sasaki et al. 2006; Reeves et al. 2006; Billeter et al. 2008).

Le Zecche

Le zecche sono il vettore biologico di vari agenti di origine batterica, protozoaria o virale. La presenza di *Bartonella* spp. è stata dimostrata in diverse specie di zecche in tutto il mondo. Studi eseguiti in diversi paesi europei hanno registrato una prevalenza variabile compresa tra 1.5% e 32.3% (Silaghi et al. 2016). La presenza di DNA di *Bartonella* spp. è stata dimostrata in *Ixodes* spp. *Dermacentor* spp. *Rhipicephalus* spp. *Haemaphysalis* spp e *Ornithodoros* spp. (Eskow et al. 2001; Chang et al. 2002; Sanogo et al. 2003; Benson et al. 2004; Kim et al. 2005; Halos et al. 2005; Holden et al. 2006; Hercik et al. 2007; Podsiadly et al. 2007; Steiner et al. 2008; Sun et al. 2008; Dietrich et al. 2010; Janecek 2012; Vayssier-Taussat et al. 2013; Moutailler et al. 2016; Regier et al. 2016). In particolare modo, è stata riscontrata soprattutto la presenza di *B. henselae* e *B. birtlesii* (Cottè et al. 2008; Reis et al. 2011). Numerosi studi nell'arco di due decenni hanno associato lo sviluppo della Bartonellosi umana con il morso di zecca. I reperti molecolari o sierologici dell'ospite mammifero rappresentano solo evidenze indirette di una possibile trasmissione tramite le zecche (Kordick et al. 1999; Eskow et al. 2001; Billeter et al. 2008; Angelakis et al. 2010; Maggi et al. 2013). Il primo modello sperimentale che ha confermato la trasmissione di *B. birtlesii* tramite il morso della zecca è stato elaborato nel 2011 da Reis et al. su *I. ricinus* (Reis et al. 2011). Recentemente, tre nuove specie zoonotiche (*B. doshiae*, *B. schoenbuchensis* e *B. tribocorum*) sono state isolate in Francia da pazienti con sintomi generali che avevano riportato recenti morsi da zecca ma mai contatti con gatti (Vayssier-Taussat et al. 2016). L'ordine *Rodentia* è, anche in questo caso, al centro dell'attenzione per quanto riguarda il mantenimento delle forme infettanti. In particolare, sembra che le larve e le ninfee delle zecche prediligano parassitare i roditori. Alla luce delle numerose specie di *Bartonella* spp. riscontrate, è corretto e ragionevole sospettare che le zecche possano rappresentare un vettore per la trasmissione all'uomo (Chang et al. 2002; Rynkiewicz et al. 2015; Kim et al. 2005). Alcuni autori reputano le zecche un vettore tuttavia secondario (Matsumoto et al. 2010; Harrison et al. 2012).

I Flebotomi

La trasmissione di *B. bacilliformis* tramite il flebotomo *Lutzomyia verrucarum* è stata dimostrata sperimentalmente (Battistini 1929; Battistini 1931; Hertig 1942; Billeter et al. 2008). La sua distribuzione e densità geografica sono strettamente correlati alla zona endemica della malattia di Carrion (Pachas 2000). Hertig et al. hanno isolato il batterio dall'intestino, dalla proboscide e dalle feci di *L. verrucarum* (Hertig 1942).

Alcune nuove epidemie aliene all'area di distribuzione di *L. verrucarum* fanno immaginare la probabilità che un'altra *Lutzomyia* spp. possa ricoprire un ruolo vettoriale. In Cusco, un'epidemia verificatasi sul finire degli anni '90 venne sostenuta da *L. peruensis* (Villaseca et al. 1999). Studi sperimentali hanno portato l'attenzione anche su *L. longipalpis* (Battisti et al. 2015). I cambiamenti climatici sembrano coinvolti nell'ampliamento dell'attuale areale di *L. verrucarum* (Alexander 1995; Pachas 2000).

Nella famiglia *Hippoboscidae* sono state isolate numerose *Bartonella* spp. in particolare tra i generi *Lipoptena* spp. *Hippobosca* spp. *Melophagus* spp. (Halos et al. 2004; Billeter et al. 2008).

Da mosche del cervo (*Lipoptena cervi*, *Lipoptena mazamae*) sono state isolate *B. henselae* e *B. schoenbuchensis*. Malgrado questo, non è stato possibile comprendere l'importanza che possano effettivamente avere nella trasmissione di *B. schoenbuchensis* (Dehio 2004; Matsumoto et al. 2008; Mosbacher et al. 2011).

In California, *B. bovis* è stata riscontrata nella mosca delle corna (*Haematobia* spp.) mentre *B. henselae* nella mosca cavallina (*Hippobosca equina*) (Chung et al. 2004). Alcuni puledri francesi hanno registrato una sieroconversione per *B. bovis* durante il periodo primaverile-estivo. Si presume che *H. equina* possa essere coinvolta nel passaggio dal reservoir bovino al cavallo ma si tratta di valutazioni non ancora provate (Boulouis H.J. non publ.) Ad ogni modo, è noto inoltre *H. equina* possa occasionalmente pungere anche l'uomo.

Vettori minori

Acari prelevati da diversi roditori e chiroterteri in Korea, Egitto e Costa Rica sono altresì risultati infetti da *Bartonella* spp. ma il loro ruolo epidemiologico non è ad oggi stato approfondito (Billeter et al. 2008; Kim et al. 2005; Reeves et al. 2006).

PATOGENESI

Dall'epidemiologia di *Bartonella* spp. appare evidente che la differente prevalenza del tasso di infezione rilevabile tra le diverse specie mammifere è dovuto ad un meccanismo di ospite-specificità (Breitschwerdt e Kordick 2000; Dehio e Sander 1999). L'ospite-specificità è un fenomeno complesso che, nel caso di *Bartonella* spp., porta all'instaurarsi di un'infezione intraeritrocitaria, chiave di volta della trasmissione tramite vettori ematofagi. Come detto precedentemente, l'ecologia di quest'ultimi è un altro elemento che ha inciso pesantemente sia sulla espansione geografica sia sull'allargamento delle specie infettabili da parte di *Bartonella* spp. (Harms e Dehio 2012). L'infezione intraeritrocitaria è però, principalmente, il risultato di coordinati e specifici meccanismi molecolari che si verificano, apparentemente, solo in una singola specie (o in poche tassonomicamente vicine) (Zhang 2004; Huang 2011). *Bartonella* spp. aderisce solo agli eritrociti dell'ospite reservoir, ad eccezione di *B. quintana* che è in grado di aderire anche agli eritrociti felini. *B. bacilliformis*, che non è dotata dei meccanismi di virulenza dei gruppi più moderni, è in grado di aderire a molteplici eritrociti senza però sviluppare quadri clinici (eccetto in altri primati come *Macaca mulatta*) (Noguchi 1926; Infante 2008; Vayssier-Taussat et al. 2010). L'infezione di *Bartonella* spp. inizia con l'inoculazione del batterio nel derma (contaminazione con feci infette) o direttamente nel torrente sanguigno (artropodo ematofago).

CICLO VITALE E STRATEGIE INFETTIVE

Diversi studi eseguiti su ospiti-reservoir hanno permesso di raccogliere preziose informazioni sulla patogenesi dell'infezione e di delineare così dei modelli comuni. Sono stati ottenuti diversi modelli sperimentali per *B. henselae* nel gatto (Chomel et al. 1996; Guptill et al. 1997; Abbott et al. 1997), *B. grahamii* nel topo (Koesling et al. 2001), *B. quintana* nel *Macaco rhesus* (Zhang 2004), *B. vinsonii* subsp. *berkhoffii* nel cane (Pappalardo et al. 2001), *B. birtlesii* nel topo (Boulouis et al. 2001; Marignac et al. 2010) e *B. tribocorum* nel ratto (Schulein 2001). Quest'ultimo studio è quello che più di altri ha permesso di comprendere il ciclo vitale di *Bartonella* spp. all'interno dell'ospite mammifero.

Dopo che è avvenuta l'inoculazione intravenosa, i batteri si raccolgono in un organo bersaglio primario tutt'oggi non ancora chiaramente definito. È certo che, anche in casi di infezioni per via ematica, la batteriemia si sviluppa solo dopo una “fase di ritardo”. I batteri, riscontrabili immediatamente dopo l'inoculazione ematica, diventano rapidamente non più rilevabili nel torrente sanguigno (“lag phase”) (Pulliainen e Dehio 2012). Secondo il modello sperimentale di Schulein et al., questa fase si protrae per circa 3 gg post inoculazione. Intorno al 4° giorno, si sviluppa una rapida

ed intensa batteriemia e avviene l'adesione e l'invasione degli eritrociti (nei casi si tratti di un'infezione dell'ospite-reservoir). La replicazione intraeritrocitaria si sviluppa fino al raggiungimento di un numero limite di batteri che vengono mantenuti in una fase di quiescenza durante l'intera vita del globulo rosso. La batteriemia acquista un andamento ciclico che dipende da una disseminazione dei batteri dall'organo primario al torrente sanguigno che si verifica ogni circa 5 giorni. Si assiste così a ondate batteriemiche regolari che, sotto azione anticorpale, si stabilizzano progressivamente fino a scomparire dopo circa 10 settimane (Schulein 2001).

Codesto modello, come detto, è congruente con gli altri modelli sperimentali sviluppati in altre specie reservoir mammifere (Abbot et al. 1997; Okujava et al. 2014). Malgrado questo, anche dopo prolungati periodi abatteriemici di settimane o mesi (“dormant phase”), possono manifestarsi isolati picchi anticorpali probabilmente dovuti a fenomeni di espansione clonale antigenica o all'azione di fago-varianti (Pauilianen e Dehio 2012).

Abbott et al., studiando l'infezione da *B.henselae* *in vivo* nel gatto per un periodo di 2 anni hanno potuto evidenziare il seguente andamento della batteriemia. Dopo un primo periodo con alti titoli anticorpali di circa 5 mesi (>10 000 CFU per 1mL al giorno 0), l'animale in studio è diventato abatteriemico. Dopo questa prima fase, l'esemplare ha ripresentato fasi alternate batteriemiche e abatteriemiche con intervalli di circa 2 mesi (con una durata di circa 2 mesi per fase).

Si tratta di un dato rilevante che evidenzia la ciclicità della batteriemia. Questa ciclicità, unita a lesioni patologiche e quadri clinici presenti in bibliografia, presume la persistenza del batterio in un organo di “rifugio” (endotelio) da cui ciclicamente avviene una disseminazione nel torrente circolatorio (“blood-seeding niche”). Ad ogni modo, codesta ipotesi non è ancora stata comprovata.

Il monitoraggio dello studio in questione è stato svolto utilizzando gli isolamenti colturali. (Abbott et al. 1997). Questa regolarità è tipica delle infezioni sostenute da *Bartonella* spp. Non a caso, la patologia sostenuta da *B. quintana* è anche detta “febbre dei 5 giorni”. I meccanismi che determinano questa regolarità non sono stati ancora del tutto chiariti ma sono riscontrabili anche in generi vicini come nel caso dell'infezione da *Brucella melitensis* appartenente anch'essa all'ordine *Rhizobiales* con cui condivide alcuni meccanismi patogenetici dovuti al T4SS (Ben-Tekaya et al. 2013).

Dopo questa prima fase, le bartonelle vengono disseminate nel torrente sanguigno dove possono aderire ed infettare gli eritrociti (quadro tipico delle infezioni in ospiti-reservoir). Sulla base della relazione agente patogeno-ospite infettato, si sviluppano quadri sintomatologici sistemici o batteriemie croniche pauci-/asintomatiche. Generalmente, *Bartonella* spp. (con eccezione di *B. bacilliformis*) non sviluppa nel corso dell'infezione una risposta immunitaria acuta e mantiene uno stato moderatamente infiammatorio. Ciò è dovuto all'azione del batterio stesso che evade passivamente la risposta immunitaria e rilascia attivamente molecole immunomodulatrici.

Per quanto debbano essere tenute in considerazione le opportune differenze di specie, il quadro

infettivo sopradescritto è universalmente accettato come rappresentativo del genere *Bartonella* (Harms e Dehio 2012). Tale modello è il risultato di diverse osservazioni permesse da diverse infezioni sperimentali come *B. henselae* nel gatto (Chomel et al. 1996; Guptill et al. 1997), *B. tribocorum* nel ratto (Schulein 2001), *B. grahamii* nel topo (Koesling et al. 2001), *B. quintana* nel *Macaco rhesus* (Zhang 2004), *B. vinsonii* subsp. *berkhoffii* (Pappalardo et al. 2001) e *B. birtlesii* (Boulouis et al. 2001; Marignac et al. 2010).

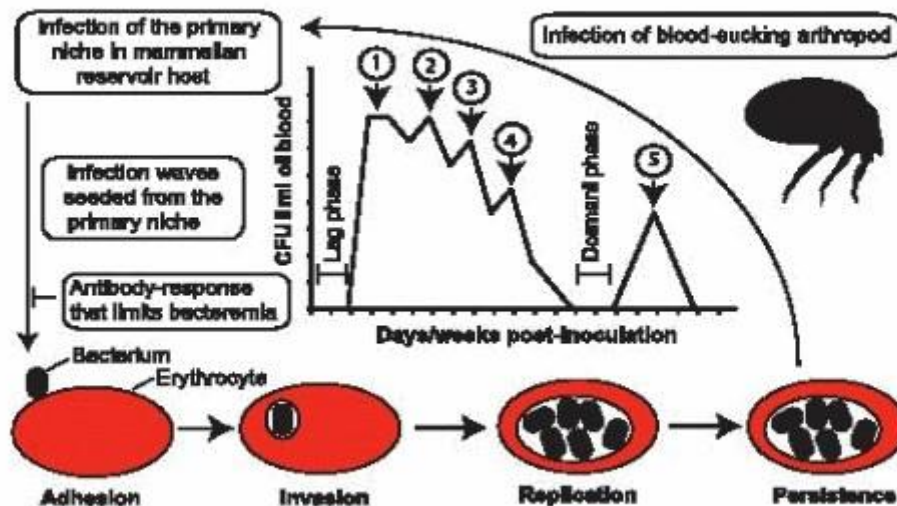


Figura 2: Progressione cronica e ricorrente della batteriemia intraeritrocitaria di *Bartonella* spp. in un ospite reservoir mammifero. Dopo l'inoculazione iniziale, il batterio risiede e persiste in un enigmatico "primary niche" (lag phase). La batteriemia inizia diversi giorni post-inoculazione con una rapida apparizione di un ingente numero di batteri nel torrente sanguigno (freccia 1), i quali aderiscono e conseguentemente invadono gli eritrociti. I batteri replicano all'interno degli eritrociti. Si pensa che il "primary niche" rilasci ulteriori ondate batteriemiche secondo intervalli di tempo regolari (freccie 2-4) fino allo sviluppo di una specifica risposta anticorpale che blocca l'invasione eritrocitaria. Ad ogni modo, la batteriemia può ripresentarsi improvvisamente (freccia 5) dopo prolungati periodi (settimane o mesi) abatteriemici (dormant phase) probabilmente grazie ad un'espansione clonale antigenica (da Pulliainen e Dehio 2012).

OSPITE-SPECIFICITÀ

L'infezione da parte di *Bartonella* spp. è un processo che si sviluppa secondo precise tappe guidate da un'articolata relazione molecolare di ospite-specificità. Si tratta di un fenomeno complesso costellato di interazioni critiche tra batterio e ospite che necessitano di una rigorosa sincronia a livello molecolare. I meccanismi di assemblaggio di alcuni complessi proteici, come il T4SS, sono regolati tramite precisi meccanismi che evitano interferenza reciproche (Gillespie et al. 2015). La strategia infettiva di *Bartonella* spp. comprende infatti interazioni con cellule sia nucleate che anucleate (eritrociti). La relazione di ospite-specificità si traduce quindi in una più complessa, intricata ed ampia relazione tra specie ospite, linea cellulare ospite e specie di *Bartonella* in studio. Una combinazione associativa di questo tipo riduce considerevolmente il numero di infezioni accidentali dovute, qualora

presenti, a immunomodulazioni inappropriate. Non a caso, ricordiamo che lo stabilirsi di un'infezione intraeritrocitaria è l'elemento più critico della relazione di ospite-specificità soprattutto tra le bartonelle di più recente scoperta. Altresì, l'infezione intraeritrocitaria persistente è l'elemento chiave per permettere una continua trasmissione vettoriale all'interno della popolazione ospite. Solo *B. bacilliformis* esula da questa limitazione in quanto in grado di infettare eritrociti non-umani. Si tratta però di casi in cui non si sviluppa alcun tipo di patologia, dimostrazione dell'esistenza di una relazione di specie-specificità di diversa natura (Noguchi 1926; Infante 2008).

ORGANO BERSAGLIO PRIMARIO O “PRIMARY NICHE”

Modelli sperimentali hanno evidenziato il fatto che l'inoculazione intravenosa di *Bartonella* spp. non sia in grado di instaurare un'immediata infezione intraeritrocitaria. Questo suggerisce che i batteri trascorrono una sorta di “fase di incubazione” all'interno di un organo primario in cui moltiplicarsi. Esistono numerose ragionevoli ipotesi su quale tipo o linea cellulare possa rappresentare tale organo ma, ad oggi, non è possibile affermare con certezza l'identità di codesto organo. Ad ogni modo, abbondanti congruenze cliniche, numerose osservazioni *in vitro* e la prossimità con il sistema circolatorio, localizzano questa sede primaria negli endotelioцити (Dehio 2005). Nonostante ciò, è probabile che ulteriori tipi cellulari possano essere coinvolti in questa prima fase. Difatti, le infezioni contratte tramite inoculazione intradermica non potrebbero essere motivate senza l'intervento di cellule migratorie. Inoltre, anche qualora si sviluppasse un contatto tra la microvascolarizzazione cutanea e il batterio, si tratterebbe di una via d'accesso significativamente meno importante e frequente rispetto a quanto riportato dai dati epidemiologici. E' ragionevole pensare che le bartonelle infettino cellule migratrici e vengano veicolate verso sedi momentanee in cui persistere e moltiplicarsi, come appunto la microvascolarizzazione. Il frequente coinvolgimento dei linfonodi suggerisce che questa prima migrazione possa avvenire all'interno del sistema linfatico tramite linfociti o fagociti mononucleati (cellule dendritiche, monociti/macrofagi, ecc.) i quali possono rappresentare essi stessi una sede di replicazione (Kordick et al. 1999).

In accordo con questa tesi, citiamo un modello di infezione sperimentale di *B. henselae* nel topo. Eseguita un'inoculazione intraperitoneale è stato difatti possibile individuare i batteri a livello epatico e linfatico (linfonodi) dopo 6h da essa. Situazione di difficile comprensione qualora escludessimo il trasporto del patogeno da parte di un meccanismo dell'ospite (Karem et al. 1999). Le cellule progenitrici ematopoietiche e i progenitori nucleati degli eritrociti possono rappresentare un'altra probabile sede di replicazione. Si tratta di un'interessante ipotesi poichè potrebbe spiegare i meccanismi di recidive e di batteriemia ciclica tipiche dell'infezione sostenuta da *Bartonella* spp (Greub e Raoult 2002; Mändle et al. 2005; Perez et al. 2011). La ripresentazione della batteriemia a seguito di trattamenti antibiotici o di corretti interventi da parte del sistema immunitario dell'ospite,

possono indicare una strategia di difesa intracellulare che permette di evadere i meccanismi difensivi pur mantenendosi in ambienti inaccessibili (Gazineo et al. 2001; Kordick et al. 1999; Plettenber et al. 2000).

La famiglia di adesine TAAs (Trimeric autotransporte adhesins) sono noti fattori di virulenza dei Gram-negativi che contribuiscono alla patogenesi legandosi alle proteine di superficie delle cellule ospite o proteine della matrice extracellulare (ECM). Formano filamenti extracellulari tipicamente detti a struttura “lollipop-like” (“lecca lecca”) composti tipicamente da una testa e uno stelo che sono assemblati su una membrana di ancoraggio dotata di un terminale-C (Linke et al. 2006; Szczesny et al. 2008; O'Rourke et al. 2011). Se la testa delle TAAs costituisce notoriamente il punto d'interazione e legame con le cellule dell'ospite, lo stelo è sempre stato considerato come un'estensione strutturale per facilitare le attività del dominio della testa. In realtà, potrebbe esso stesso svolgere attività di interazione diretta (Linke et al. 2006). Testa e stelo sono strutturati secondo una trama ripetuta di pochi domini modulari. Questo elemento favorisce fenomeni di rimescolamento e ricombinazione che possono alterare la lunghezza dello stelo sia in contrazione che in allungamento. Permette, inoltre, l'espansione e la modulazione delle proprietà di legame della testa (Linke et al. 2006; Kaiser et al. 2008).

Da infezioni sperimentali con *B. birtlesii*, *B. tribocorum* e *B. quintana*, è stato mostrato come le TAAs di *Bartonella* spp. sono importanti fattori di virulenza necessari per il successo della colonizzazione del “primary niche” (MacKichan et al. 2008; Saenz et al. 2007; Vayssier-Taussat et al. 2010).

Bartonella adhesin A (BadA) è una TAA di *B. henselae*. Si tratta di una proteina gigante composta di più di 3000 aminoacidi riuniti in catene polipetidiche. BadA ha una struttura a filamento con una lunghezza di circa 240 nm che protrude dalla superficie batterica (Muller et al. 2011). Inizialmente, vennero erroneamente scambiati per pili di tipo IV (Batterman et al. 1995). Solidi esperimenti indicano che l'adesione alle cellule endoteliali mediata da BadA ha come bersaglio le integrine-1 e coinvolge alcune proteine del ECM quali collagene e fibronectina (Riess et al. 2004; Kaiser et al. 2008). Oltre ai processi di adesione, la testa di BadA ha dimostrato di essere capace d'innestare alcuni processi proangiogenici che la variante Marseille di *B. henselae* induce nelle cellule ospite (Kaiser et al. 2008). È stato dimostrato che la riprogrammazione dell'espressione genetica è dovuta principalmente all'attivazione del NF- κ B come anche al hypoxia-inducible factor 1 (HIF-1) e porta ad una up-regulation di 20 geni nelle linee cellulari HeLa (Kempf et al. 2005).

Le Vomps sono TAA presenti in *B. quintana*. Il loro ruolo biologico è stato studiato in varie occasioni e sembra confermare il duplice ruolo sopradescritto sia di adesione sia di riprogrammazione genetica alla angiogenesi. Nell'infezione umana *in vivo*, la vitronectina e l'acido ialuronico sembrano rappresentare un importante legante utile nell'adesione cellulare mediata da adesine Vomp (Muller et al. 2011). Inoltre, le Vomps potrebbero essere coinvolte anche nell'infezione dei vettori artropodi

tramite l'adesione nell'addome della pulce (Zhang 2004).

INVASIONE CELLULE NUCLEATE

Gli approfonditi studi *in vitro* sull'invasione delle cellule nucleate (soprattutto endotelioцитi) sono stati condotti principalmente su *B. henselae*. Si tratta della prima tappa successiva all'inoculazione dermica. L'ingresso nella cellula avviene principalmente attraverso due meccanismi: “zipper-like” o tramite un “invasone”. Il meccanismo “zipper-like” consiste nell'ingresso di singoli batteri o piccoli conglomerati all'interno di vacuoli (*Bartonella*-containing vacuoles/BCVs) (Dehio et al. 1997; Kempf et al. 2000). Il normale meccanismo di endocitosi attivamente svolto dalla cellula ospite e l'eliminazione tramite l'acidificazione e la fusione col lisosoma viene bloccato permettendo un accumulo intracellulare di BCVs i quali si raccolgono, generalmente, a livello perinucleare (Kyme et al. 2005). Altresì, le bartonelle possono riunirsi in voluminosi conglomerati sulle superficie cellulare formando la cosiddetta struttura a “invasone”. I meccanismi di invasione dipendono dall'espressione delle proteine di superficie del batterio e dalla modulazione del citoscheletro tramite la sintesi di fibre actiniche che ancorano i batteri a livello intracellulare (Dehio et al. 1997; Kempf et al. 2000). Per quanto se ne ignorino ancora i precisi meccanismi, sembra che BadA svolga azioni protettive nei confronti della fagocitosi dei macrofagi (Riess et al. 2004). La replicazione intracellulare non è stata ancora però dimostrata in nessuna prova *in vitro* (Verma 2000; Verma e Ihler 2002).

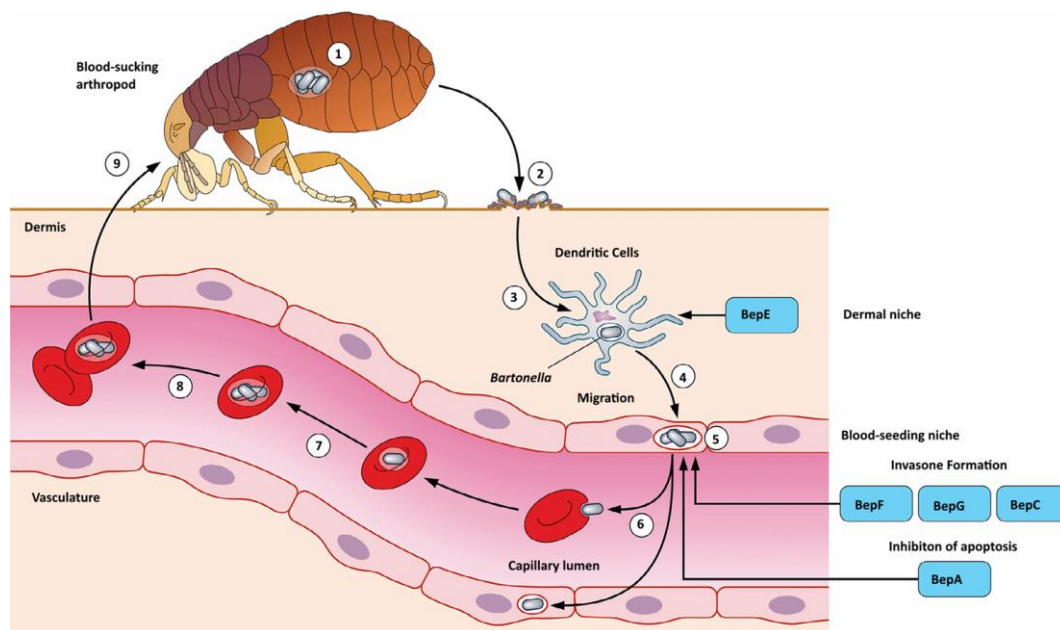


Figura 3: Modello del processo infettivo di *Bartonella* spp. negli ospiti reservoir (1). *Bartonella* spp. replica inizialmente nell'apparato digerente del vettore artropodo e viene escreta con le feci (2). La puntura da parte di artropodi ematofagi causa un'irritazione locale pruriginosa che facilita l'inoculazione intradermica delle feci contenenti bartonelle (3). Successivamente, *Bartonella* spp. colonizza il “dermal niche” (come proposto da Okujava et al. 2014). “Dermal niche” comprende le cellule dendritiche o cellule che disseminano le bartonelle verso il “blood seeding niche” (tipicamente conosciuto come “primary niche”) attraverso un processo che dipende fortemente da BepE (4). Nel “blood-seeding niche” i batteri si presume colonizzano le cellule endoteliali, grazie all'azione di BepC, BepF, BepG e BepA (5). Dal “blood-seeding niche”, i batteri vengono periodicamente disseminati nel torrente circolatorio dove invadono gli eritrociti e ri-infettano le cellule del “blood-seeding niche” (6). Dopo limitate repliche all'interno del globulo rosso (7), i batteri persistono nel “intraerythrocytic niche” per la rimanente vita della cellula (8) permettendo la trasmissione tramite artropodi ematofagi (9) (Harms e Dehio 2012).

ANGIOGENESI PATOLOGICA

L'angiomasiosi bacillare e la verruca peruviana sono manifestazioni sintomatologiche umane dovute all'azione angiogenica che è stata ben descritta da prove *in vitro*. I processi angiogenici causati da *Bartonella* ssp. sono dovuti ad un'attività direttamente mitogenica e ad un'altra di inibizione dell'apoptosi degli endotelioцити. In questa situazione, vengono innescate anche secrezioni di citochine per via autocrina e paracrina che sinergicamente contribuiscono all'angiogenesi (Garcia et al. 1990; Dehio 2005).

L'azione autocrina di IL-8, è stata direttamente associata alla proliferazione endoteliale e all'inibizione dell'apoptosi (Li 2003). Inoltre, *B. bacilliformis* stimola la produzione di VEGF, dei suoi recettori VEGFR-1 e VEGFR-2 e dell'angiopoietina-2 da parte delle cellule ospite (Cerimele et al. 2003). La secrezione di VEGF è stata verificata anche nei tumori vasoproliferativi causati dall'infezione di *B. henselae* (Kempf et al. 2001).

È stata segnalata anche l'importanza della specie infettata. *B. henselae*, ad esempio, può essere in grado d'infettare *in vitro* diverse linee cellulari umane ma non feline. In seguito, è stato dimostrato come nell'uomo ci sia una secrezione di VEGF per via autocrina. Questa molecola agisce soprattutto sulla microvascolarizzazione ospite, spiegando così la più sovente localizzazione a livello cutaneo dei processi di angiogenesi nella patologia cronica umana (Berrich et al. 2011). In base alle lesioni microscopiche, è possibile immaginare che il coinvolgimento di cellule infette non-endoteliali sia dovuto ad un richiamo chemiotattico da parte dell'endotelio infetto. I macrofagi, spesso infiltrati nelle lesioni cutanee, reagiscono alla secrezione di VEGF producendo un mutuale meccanismo di feedback positivo che porta alla genesi di tumori vascolari (Dehio 2005; Kempf et al. 2002).

Uno studio di Kempf et al. ha dimostrato che il processo di angiogenesi è guidato anche da meccanismi epigenetici. BadA media l'attivazione del NF- κ B e dell'HIF-1/2, ormai riconosciuti elementi comuni nelle infezioni umane e fondamentali sul fronte dei vari processi di angiogenesi. Oltre tramite l'azione diretta, BadA può entrare in gioco causando un'ipossia-indotta che attiva a sua volta NF- κ B e HIF-1/2 (Kempf et al. 2005; Oliver et al. 2009). BadA media anche un'interazione tra le integrine-1 e alcune proteine del ECM (fibronectina) che causa l'espressione di geni di riprogrammazione angiogenica (Klein et al. 2002).

Il ruolo biologico delle Vombs sembra essere simile a quello di BadA nei processi di adesione e riprogrammazione angiogenica.

INFEZIONE DEGLI ERITROCITI

Successivamente alla disseminazione nel sistema circolatorio, avviene l'adesione, deformazione ed invasione degli eritrociti. La prima fase di adesione sembra essere il momento più critico per quanto riguarda la relazione di specie-specificità tra le bartonelle L3, L4 e l'ospite (Vayssier-Taussat et al.

2010). Benson et al. hanno documentato come gli eritrociti subiscano una fase di deformazione grazie allo sviluppo di indentazioni ed invaginazioni che fungono come punti d'aggancio per l'invasione cellulare da parte sia di *B. bacilliformis* sia di *B. henselae* (Benson et al. 1986; Iwaki-Egawa e Ihler 1997). È stata ipotizzata l'esistenza di una molecola ad azione deformante ma la sua identità, modalità d'azione e meccanismi di secrezione restano ancora sconosciuti. Ad ogni modo, durante il successivo meccanismo di invasione si produce un'interazione con le proteine di banda 3 le quali vengono coinvolte in un complesso proteico che connette la membrana cellulare con le fibre actiniche del citoscheletro (Mohandas e An 2006). Nel caso delle bartonelle flagellate, viene segnalato come gli anticorpi contro la flagellina siano in grado di interferire con l'invasione degli eritrociti.

Come già detto, *B. bacilliformis* è l'unica specie in grado di provocare una devastante anemia emolitica (febbre di Oroya). I reperti anatomopatologici confermano meccanismi di emofagocitosi soprattutto a livello splenico, linfatico ed epatico. Tipicamente, si evidenziano epatomegalia e linfadenopatia. Malgrado questo, infezioni complicate anche con specie moderne possono causare anemie emolitiche immuno-mediate (Van Audenhove et al. 2001; Breitschwerdt et al. 2004; Goodman e Breitschwerdt 2005)

EVASIONE IMMUNITARIA ED IMMUNOMODULAZIONE

La capacità di *Bartonella* spp. tra le specie moderne è quella di non sviluppare una marcata risposta difensiva. In sintesi, l'elusione ai meccanismi di individuazione dei patogeni è permessa grazie alla modificazione dei PAMPs (pathogen associated molecular patterns) quali flagelli o LPS. In aggiunta, *Bartonella* spp. manipola attivamente il sistema immunitario ospite. IL-10 è una citochina regolatrice dell'attività immunitaria in grado di sopprimere le funzioni di varie cellule come linfociti T-helper, monociti/macrofagi, cellule dendritiche. I batteri stimolano la sua secrezione interferendo con l'instaurarsi di una efficace immunità specifica e generando quadri asintomatici (Couper et al. 2008). Probabilmente, una buona immunità specifica evita che vengano colonizzati organi che sono invece tipicamente colpiti in casi di ospiti immunocompromessi (peliosi epatica in HIV-infetti). Lo sviluppo di immunità specifica previene nuove infezioni ma non garantisce una cross-protezione verso altre specie del genere (Yamamoto et al. 1998; Karem 2000).

FATTORI DI VIRULENZA MOLECOLARI

VirB-like T4SS e *Bartonella* effector proteins

I sistemi di secrezione di tipo IV (T4SS) sono mezzi macromolecolari comuni all'interno di numero gruppi di procarioti che originariamente mediavano la coniugazione intracellulare tra batteri trasferendo materiale genetico (spesso plasmidi) sotto forma di complessi nucleoproteici (Alvarez-

Martinez e Christie 2009). La coniugazione batterica è il principale meccanismo di trasmissione laterale e gioca un importante ruolo nella disseminazione di geni coinvolti in processi di virulenza, antibiotico-resistenza o caratteri di fitness tra la popolazione batterica (Ochman et al. 2000). Sotto il profilo patogenico, il T4SSs si sono evoluti in sofisticati meccanismi di interazione con l'organismo ospite che mediano il passaggio di proteine effettrici all'interno della cellula eucariote (Frank et al. 2005; Backert et al. 2008). Il VirB/D4 T4SS costituisce uno dei prominenti fattori di virulenza di questo genere e si presenta in tutte le specie appartenenti ai gruppi L3 e L4 (Dehio 2008; Engel et al. 2011). Vari risultati indicano che il VirB/D4 T4SS svolge un ruolo fondamentale nella manipolazione della fisiologia delle cellule nucleate durante l'infezione da varie specie di *Bartonella* moderne.

Bartonella effector proteins/Beps

Il VirB/D4 T4SS contribuisce alla virulenza tramite il trasferimento delle Beps (*Bartonella* effector proteins) all'interno delle cellule ospite dove minano le funzioni cellulari a favore del patogeno. Le Beps sono strutturate secondo un'architettura a domini modulari composti da un terminale-N atto all'interazione con l'ospite fuso con un terminale-C che funge da segnale di secrezione. Quest'ultimo segnale è costituito da un dominio di una Bep di trasporto intracellulare (BID) seguito da una coda di carica positiva (Schulein et al. 2005). Le Beps di L3 (es: *B. clarridgeiae*) e L4 (es: *B. henselae*) possono essere divise rispettivamente in 10 e 7 sottogruppi. Il dominio del terminale-N FIC (filamentation induced by cAMP) è, in genere, seguito da un oligonucleotide/oligosaccaride-binding (OB) e dal già citato terminale-C (Engel et al. 2011). Tre di sette Beps di *B. henselae* (da BepA a -C) sono costituite secondo la struttura modulare FIC-OB-BID mentre quattro (da BepD a -G) presentano altri elementi a livello del terminale-N. In L3, nove di dieci sottogruppi di Beps contengono il dominio FIC e solo una è portatrice di invece di gruppi con azione di tirosin-fosforilazione (Engel et al. 2011). Il dominio BID di BepA ha importantissime proprietà dal punto di vista dell'antiapoptosi e dell'angiogenesi durante le infezioni di cellule endoteliali umane *in vitro* sostenute da *B. henselae* Houston-1 (McCord et al. 2005; Schmid et al. 2006). La formazione dell'invasione è un lento processo che dura dalle 16 alle 24 h. La via del BCVs necessita invece solo di pochi minuti o al massimo ore (Dehio et al. 1997; Rhomberg et al. 2009). Oggi è noto che la formazione dell'invasione è totalmente dipendente dalle Beps. Può essere generata grazie all'azione di BepG da solo o dalla combinazione di BepC con BepF (Rhomberg et al. 2009; Truttmann et al. 2011) Queste proteine non causano direttamente la formazione dell'invasione ma sembra siano coinvolte indirettamente grazie all'inibizione dell'endocitosi.

Grazie a modelli *in vitro*, è stato dimostrato come la BepE protegga le cellule migratrici infette da effetti nocivi sostenuti da BepC. *In vivo*, BepE permette la disseminazione dei batteri dal sito di inoculazione dermico al torrente sanguigno. Ha un'azione protettiva sugli endotelioцитi ed evita i

problemi alla migrazione causati da BepC e, probabilmente, altre Beps (Okujava et al. 2014).

Vbh T4SS

Il sequenziamento genetico di *B. tribocorum* ha dimostrato la presenza di un terzo tipo di T4SS dotato di un'omologia di sequenze proteiche del 40%-80% rispetto ai sistemi sintetizzati dai *VirB/D4* e *Trw* loci. Per questa ragione è stato denominato VirB-homologous (Vbh) T4SS. Le sue potenzialità patogenetiche sono studiate ma non ancora chiarite. La sua presenza in tutte le specie di L2 e la scoperta in *B. grahamii* e *B. schoebunchensis* di alcuni loci genetici codificanti per proteine effettrici con struttura a dominio FIC-BID in prossimità di vbh loci, rafforzano l'ipotesi di un coinvolgimento di Vbh T4SS processi di patogenesi (Saenz et al. 2007; Berglund et al. 2009; Dehio 2008; Engel et al 2011).

Trw T4SS

In aggiunta al *VirB/D4* T4SS, le specie appartenenti a L4 presentano il *Trw* T4SS. Si tratta di un fattore di virulenza specifico necessario all'adesione con i globuli rossi. Poiché non è strettamente relazionato con gli altri T4SSs del genere, si suppone sia stato acquisito in maniera indipendente. Successive ricerche hanno segnalato come il *Trw* T4SS non sia essenziale solo per l'adesione ai globuli rossi ma sia direttamente coinvolto nei meccanismi che determinano la relazione di specie-specificità. Probabilmente questo è dovuto proprio alla forte differenza di specie che si riscontra proprio tra le strutture di superficie degli eritrociti tra le diverse specie mammifere. Studi *in vitro* hanno segnalato come l'espressione ectopica del *Trw* T4SS di una specie verso quello di un'altra specie di *Bartonella* abbia permesso di infettare anche i globuli rossi relativi alla seconda specie (Vayssier-Taussat et al. 2010).

Flagello

Tutte le specie prive del *Trw*, quindi non appartenenti a L4, sono generalmente dotate di flagello. Per *B. bacilliformis*, priva di qualsiasi T4SSs, si tratta dell'unico fattore in grado di dare una certa virulenza. Diversi studi hanno difatti evidenziato come gli organismi di *B. bacilliformis* non-mobili non siano in grado di infettare i globuli rossi (Mernaugh e Ihler 1992). Benson et al. hanno osservato come questi si spingano contro le membrane eritrocitarie con movimenti inefficaci e senza una vera progressione (Benson et al. 1986). Malgrado la riduzione di adesione e deformazione, *B. bacilliformis* non-mobili possono comunque avviare le fasi iniziali di infezione degli eritrociti (Mernaugh et al. 1992). Il flagello è però una struttura ampiamente neutralizzabile attraverso la produzione di anticorpi anti-flagellina (Scherer et al. 1993). Lungo l'evoluzione di *Bartonella* spp. il flagello è stato sostituito direttamente o indirettamente dal *Trw* T4SS (L4) probabilmente per minori proprietà antigeniche

(Dehio 2008). Sia per l'immunità aspecifica sia per la specifica, la perdita del flagello potrebbe aver ridotto significativamente le interferenze causate dagli anticorpi sull'invasione eritrocitaria (Scherer et al. 1993; Sander et al. 2000).

MANIFESTAZIONI CLINICHE

Le manifestazioni cliniche direttamente associate all'infezione da *Bartonella* spp. nella specie equina rappresentano un capitolo ad oggi quasi del tutto inesplorato. In bibliografia, sono presenti pochi casi clinici nei quali le sintomatologie riscontrate sono state associate a tale microorganismo. In alcuni di questi non è stato nemmeno possibile stabilire una diretta correlazione eziologica con la patologia. Successive ricerche sperimentali volte a registrare alterazioni cliniche non sono riuscite a verificare quale reale rischio *Bartonella* spp. possa rappresentare nei confronti degli equidi. In ragione di questa condizione, verranno brevemente presentate anche le sintomatologie documentate tra le specie umana, felina e canina per cercare di contestualizzare le sintomatologie riportate nella specie equina.

CAVALLO

I primi isolamenti di *Bartonella* spp. ottenuti da cavalli presentanti manifestazioni cliniche sono stati riportati da Jones et al. nel 2008 e da Johnson et al. nel 2009. Il primo esemplare era una cavalla Quarter Horse di 7 anni ospedalizzata per una sindrome colica addominale acuta causata da un'ostruzione del grande colon. Prima della presentazione, l'animale era stato trattato per l'insorgenza di un disturbo respiratorio associato a febbre (38.8°C) iniziato 2 settimane prima. Il paziente riportava un complessivo stato di depressione, mucose pallide con presenza di petecchie sulla mucosa orale, nasale e vaginale. L'ispezione esterna segnalava edema delle estremità e ipertono muscolare su tutto il tronco (petto, addome, schiena e groppa). Le analisi biochimiche mostravano un forte aumento (oltre i valori soglia) di creatinichinasi (CK) e amminotransferasi (AST). Il quadro venne associato a porpora emorragica ma nessun esame istologico confermò la presenza di lesioni vascolari. Instaurato il trattamento, la colica si risolse mentre petecchie, edema e ipertono migliorarono dopo circa 3 giorni dall'inizio del trattamento con antibiotici e corticoidi (penicillina g potassica 40,000 IU/Kg IV ogni 6h e dexametasone 0,1 mg/Kg IV ogni 24h). L'animale morì improvvisamente per cause ignote a distanza di diverse settimane dalla fine del trattamento che aveva portato alla risoluzione dei segni clinici (Jones et al. 2008).

Nel secondo caso, si trattava di un castrone Purosangue Inglese di 11 anni affetto da episodi intermittenti di scarse performance sportive e segni di artropatie. Venne segnalata una zoppia degli arti anteriori di grado 1/5. Il paziente presentava anche periodi ciclici di aggressività e cambi di comportamento. *B. henselae* venne individuato in campioni ematici del soggetto. Dopo un periodo di trattamento antibiotico di 45 giorni (cloramfenicolo 50 mg/Kg PO ogni 6 h), il batterio non fu più riscontrabile né tramite isolamento colturale né tramite PCR. Dopo 4 mesi, si sono ripresentarono i

segni di zoppia. Il soggetto venne infine ritirato dalle attività sportive (Jones et al. 2008).

Nel 2009, Johnson et al. hanno associato un caso di aborto (240-270 gg. di gestazione) all'infezione da *B. henselae*. Il batterio è stato isolato dalle numerose lesioni necrotiche diffuse sui principali organi interni. La causa dell'aborto è stata direttamente associata ad una grave vasculite corion-allantoidea. Non erano disponibili informazioni sullo stato della madre. È noto però che gli ormoni associati alla gravidanza causano immunosoppressione e potrebbero aver aggravato l'infezione (Johnson et al. 2009). Solo un'infezione sperimentale nel gatto ha causato un calo del tasso di concepimento e un allungamento dei tempi necessari ad esso. Prima di allora, l'infezione da *B.henselae* non è mai stata direttamente associata ad aborto. Ad ogni modo, la trasmissione perinatale non è dimostrata in nessuna specie.

Nel 2011, Cherry et al. descrivono una cavalla di 2 anni infetta da *B. henselae* riportante una grave anemia emolitica accompagnata da mucose cianotiche (ematocrito 5,5%, eritrociti 136 106/mL). Il soggetto riportava leucocitosi con neutrofilia (leucociti 17103/mL). L'analisi delle urine ha segnalato emoglobinuria. Le frequenze cardiaca e respiratoria risultavano aumentate (FC: 80 bpm; FR: 60 bmp). All'ispezione rettale, il rene sinistro è stato percepito aumentato di volume. Alla luce di questi casi, la ricerca in questo settore si è animata con l'obiettivo di sviluppare ed ampliare le scarsissime informazioni relative ai risvolti clinici nella specie equina. Fino ad oggi, le manifestazioni registrate erano riferite a due tipologie di disturbo ascrivibili principalmente alla neonatologia e alle problematiche muscoloscheletriche croniche o intermittenti (Cherry et al. 2012). Sono state segnalate anche forme di anemia emolitica, linfadenomegalia, edema delle estremità e una presentazione di porpora emorragica (come detto, non è stato eseguito l'esame istologico per confermare la presunta vasculite). Le prime più accurate indicazioni a riguardo sono state fornite da uno studio condotto nel 2012 da Cherry et al. presso l'università del Nord Carolina (USA). Lo studio è stato eseguito su 102 esemplari sani o ammalati. La popolazione in studio era così composta:

- 47 cavalli sani: intervallo di età 2-25 anni; età media 11 anni.
- 22 cavalli zoppi affetti da varie forme muscoloscheletriche: intervallo di età 1,5-30 anni; età media 15 anni.
- 8 cavalli affetti da sindrome colica: intervallo di età 2-24 anni; età media 11 anni.
- 15 puledri con molteplici manifestazioni cliniche: intervallo di età 1-90 giorni; età media 2 giorni.

Utilizzando la PCR e l'isolamento colturale, *Bartonella* spp. è stata individuata in:

- 1 cavallo sano
- 5/9 cavalli affetti da forme muscolocheletriche (22,7%)
- 0 cavalli affetti da sindrome colica

– 3/15 puledri (20%)

Diverse varianti di *B. henselae* sono state segnalate in 5/9 esemplari. I restanti 4 esemplari hanno riportato invece la presenza di *B. vinsonii* subsp.*berkhoffii*.

B. henselae San Antonio-2 è stato isolato dall'unico cavallo sano infetto (cavalla Purosangue Arabo di 9 anni) e da un puledro ibrido Quarter Horse/Arabo di 3 mesi riportante un'artrite settica dell'articolazione tibiotarsale dx e dell'anca sn. In sede articolare è stata isolata *Salmonella* spp.

La variante *B. henselae* Houston-1 è stata riportata, invece, in un puledro Quarter Horse colpito da setticemia stafilococcica ed enterocolite da *Clostridium perfringens* 30h post-partum. Lo stesso agente eziologico è stato riportato anche in una cavalla Quarter Horse di 11 anni soggetta ad una polisinovite idiopatica (articolazioni: anca sn, carpo dx, garetto dx).

B. henselae variante Fizz è stata riscontrata in una cavalla Quarter Horse di 14 anni riportante una laminite cronica.

La seconda specie riscontrata è stata *B. vinsonii* subsp.*berkhoffii* genotipo I e III. Il primo genotipo era presente in una cavalla Purosangue Arabo di 30 anni e in una Quarter Horse di 22 anni. Entrambi gli esemplari riportavano artrite mentre solo il secondo era colpito anche da laminite. Tale genotipo (I) è stato associato a manifestazioni cliniche simili a quelle riscontrate nella specie canina.

Infine, *B. vinsonii* subsp.*berkhoffii* genotipo III è stato segnalato in un puledro di Holsteiner di 12 h colpito da ileo da meconio (ostruzione intestinale alla nascita)(Cherry et al. 2012). Questo genotipo è stato amplificato anche da un emangiopericitoma segnalato in un cavallo Purosangue Arabo di 14 anni (Beerlage et al. 2012).

Sulla base dei risultati dello studio e dei precedenti risultati riportati, sembra che i puledri possano essere infettati in utero, durante il periodo perinatale o poco dopo il parto. I vettori artropodi potrebbero essere coinvolti anche in una precocissima infezione post-partum. Queste ipotesi andrebbero verificate sulla base di nuove informazioni sulla metodologia di trasmissione nella specie equina. Altresì, visto l'isolamento in alcuni puledri setticemici, andrebbe valutata la possibilità che le infezioni sostenute da *Bartonella* spp. possano aprire la via ad infezioni batteriche secondarie (Cherry et al. 2012).

Nello stesso anno, Palmero et al. hanno svolto un'infezione sperimentale per cercare di monitorare e descrivere l'evoluzione delle manifestazioni cliniche causate dall'infezione con *B. henselae* e *B. bovis*. Lo studio ha controllato anche la durata della batteriemia e la cinetica della sierconversione.

I 12 animali oggetto dello studio sono stati suddivisi in due gruppi da 6 esemplari e 4/6 inoculati con uno dei due isolati. 2/6 sono stati utilizzati come studio di controllo. Non sono stati permessi contatti tra i due gruppi per tutta la durata dello studio (2 anni).

Al primo giorno post-inoculazione (PID1), i 4 soggetti del gruppo inoculati con *B. bovis* (Cavalli 7, 8, 9, 12) hanno sviluppato un lieve edema nel punto d'inoculazione. Cavallo 7 e 12 hanno sviluppato

anche linfadenomegalia non dolorosa del linfonodo cervicale superficiale (cavallo7/PID2, cavallo12/PID1). Cavallo 12 ha presentato anche una lievissima sindrome colica che ha risposto al trattamento con sondaggio nasogastrico (acqua, oli minerali ed elettroliti) e flunixin meglumina (1,1 mg/Kg IV-singola somministrazione). A PID 9-13, si è generato anche edema degli arti anteriori accompagnato da un'orticaria non pruriginosa (PID 10-13). Nello stesso intervallo di tempo (PID 10-13), cavallo 9 ha sviluppato una forma di orticaria simile: diffusa, non dolorosa e non pruriginosa. Tutti i segni clinici si sono risolti senza bisogno di alcun trattamento. Nessun animale ha sviluppato piresi.

Nel gruppo inoculato con *B. henselae*, tutti i soggetti (Cavallo 2, 3, 5, 6) hanno manifestato lieve edema, prurito nel punto d'inoculazione e linfadenomegalia del linfonodo cervicale superficiale (cavallo 2/PID4-6, cavallo 3/PID8, cavallo 5/PID4-14, cavallo 6, PID2-3). In cavallo 2 e 3, prurito ed edema si sono risolti rispettivamente a PID6 e PID10. I cavalli 5 e 6 hanno sviluppato invece un'inflammatione purulenta nel punto d'inoculazione (PID16 e PID17). I Cavalli 3, 5 e 6 hanno, inoltre, riportato gradi diversi di edema degli arti (cavallo 3, arto anteriore dx PID14; cavallo 5, edema su tutti gli arti PID 4; cavallo 6, edema arti anteriori PID4-33). Gli edemi delle estremità si sono risolti tutti senza alcun intervento terapeutico.

Dai risultati, sembra che l'inoculazione con *B. henselae* causi, quindi, lievi e transitorie manifestazioni cliniche, mentre *B. bovis* non ha causato cambiamenti significativi. Malgrado non si sappia quale sia l'importanza della trasmissione meccanica nella specie equina (morsi, ferite, graffi), non bisogna dimenticare che *Bartonella* spp. viene veicolata da artropodi ematofagi che non solo possono incidere sul grado di virulenza batterica ma possono veicolare altri patogeni. Il ruolo delle co-infezioni nella specie equina non è mai stato documentato (Palmero et al. 2012).

Infine, un ultimo caso ascrivibile alla sfera della neonatologia è stato segnalato da Setlakwe et al. nel 2014. Il paziente era un puledro Purosangue Inglese di 3,5 mesi riportante un quadro complessivo di depressione e dermatite sulla zona del muso e sui pastorali. La dermatite sui pastorali si manifestò 10 giorni prima della presentazione ma il trattamento con pomata antibiotica non aveva riportato risoluzione del quadro. Quando il disturbo si estese al muso venne aggiunto al trattamento dexametasone (0,02 mg/Kg IV-unica somministrazione). Il giorno prima dell'ospedalizzazione, il puledro venne notato particolarmente depresso e apatico. All'esame obiettivo, il soggetto presentava BCS 4/9, frequenza cardiaca nella norma (60 bpm), temperatura rettale (38°C) nella norma e tachipnea (36 respiri/minuto). Sclere e mucosa orale apparivano leggermente itteriche. L'auscultazione cardiaca, polmonare e addominale non ha segnalato rumori patologici. Presenti lesioni eritematose e crostose dei pastorali. Nonostante il quadro di depressione, il puledro non ha segnalato alterazioni nervose o muscoloscheletriche. Le analisi di laboratorio indicavano:

- neutrofilia: 10200/ μ L (2200-8100/ μ L)

- iperproteinemia: 8,6 g/dL (4,6-6,9 g/dL)
- iperfibrinogenemia: 679 mg/dL (200-400 mg/dL)
- aumento gammaglutammiltransferasi-GGT: 184 IU/L (12-45 IU/L)
- aumento succinato deidrogenasi-SDH: 19,65 IU/L (0,30-7,0 IU/L)
- aumento bilirubina totale: 7,1 mg/dL (0,1-1,9 mg/dL)
- aumento lipidi serici: trigliceridi 116 mg/dL (11-52 mg/dL)
colesterolo 149 mg/dL (51-109 mg/dL)
- aumento acido biliare: 16,9 μ mol/dL (1,0-8,6 μ mol/dL).
- esame emocromocitometrico nella norma

L'esame ecografico ha indicato un aumento di dimensioni dell'immagine epatica (spostamento caudale dei visceri peritoneali) associata ad un'aumentata ecogenicità del parenchima. Non è stata osservata distensione biliare. Alla luce del quadro indicato, è stata ipotizzata una epatopatia e una dermatite da fotosensibilizzazione secondaria. Instaurato il trattamento (vedi capitolo terapia), i rilievi clinici e i risultati di laboratorio sono progressivamente migliorati permettendo le dimissioni del paziente al 13° giorno di ospedalizzazione. Solo i valori di GGT sono andati costantemente crescendo (339 IU/L al 12° giorno) fino a raggiungere 542 IU/L al controllo clinico fissato dopo 4 mesi. Cambiato il farmaco antibiotico, la concentrazione di GGT ha iniziato a diminuire fino a normalizzarsi dopo 7 mesi (37 IU/L). *B. henselae* è stata identificata tramite PCR da campioni biotipici epatici (Setlawke et al. 2014).

GATTO

Le infezioni da *Bartonella* spp. nella specie felina sono spesso accompagnate da pochissimi segni clinici. Infezioni sperimentali con *B. koehlerae*, *B. clarridgeiae* e *B. rochalimae* non hanno segnalato lo sviluppo di manifestazioni cliniche significative (Yamamoto et al. 2002; Chomel et al. 2009a). Inoltre, *B. henselae* è la specie prevalente nel gatto e la sua specie-specificità sembra tradotta in una relazione di co-esistenza che non sembra causare quadri clinici facilmente notabili nell'infezione naturale (O'Reilly et al. 1999; Mikolajczyk e O'Reilly 2000). Le informazioni cliniche derivano principalmente da studi sperimentali. Inoculazioni dermiche con *B. henselae* possono generare reazioni locali o la formazione di ascessi dai 2 giorni fino alle 4 settimane post-inoculazione (Kordick e Breitschwerdt 1999; O'Reilly et al. 1999; Mikolajczyk e O'Reilly 2000). Sono stati registrati anche segni clinici temporanei come linfoadenomegalia (circa 6 settimane) o periodi di febbre (>39,4°C) della durata di 48-96 h accompagnati da debilitazione, letargia e anoressia (Guptill et al. 1997; Kordick e Breitschwerdt 1997). Più raramente, sono stati segnalate manifestazioni neurologiche o

disturbi della sfera riproduttiva (Abbott et al. 1997; Guptill et al. 1998). La difficoltà nel riscontrare le manifestazioni cliniche in caso di infezione naturale rende necessaria la produzione di ulteriori studi per determinare una correlazione eziologica tra alcuni segni clinici e le infezioni naturali. Alcuni indizi suggeriscono anche un possibile coinvolgimento di *Bartonella* spp. in disturbi cronici e in correlazione con altri agenti infettivi tra cui FIV (virus dell'immunodeficienza felina) o altri organismi veicolati da vettori artropodi (Ueno et al. 1996).

CANE

A differenza del gatto, numerose pubblicazioni hanno riportato sintomatologie ed alterazioni associate al rilevamento di *Bartonella* spp. tramite PCR o, più raramente, utilizzando l'isolamento colturale (Cross et al. 2008; Leibovitz et al. 2008; Mellor et al. 2006; Saunders e Monroe 2006). Secondo Breitschwerdt et al., il cane rappresenta una specie animale molto suscettibile alle infezioni accidentali di varie specie di *Bartonella* ed è considerato una specie sentinella dell'infezione nonché un valido modello comparativo per la patologia umana anche dal punto di vista clinico. Sono state individuate somiglianze con un disturbo umano caratterizzato da endocardite. Si tratta di un quadro causato da una batteriemia cronica che risulta difficilmente rilevabile tramite i metodi colturali (Breitschwerdt et al. 2013). Aritmie cardiache (*B. vinsonii* subsp.*berkhoffii*), linfadenopatie granulomatose (*B. henselae*), meningoradiculoneuriti associate a dermatiti/panniculiti (*B. vinsonii* subsp.*berkhoffii*), peliosi epatica (*B. henselae*) ed endocarditi (*B. vinsonii* subsp.*berkhoffii*, *B. clarridgeiae*, *B. quintana*, *B. washoensis*, *B. rochalimae*) sono tra le condizioni cliniche più spesso associate all'infezione da *Bartonella* spp (Breitschwerdt et al. 1999; Kitchell et al. 2000; Pappalardo et al. 2000; Chomel et al. 2001, 2003a, 2003b, 2004; MacDonald et al. 2004; Boulouis et al. 2005; Mellor et al. 2006; Morales et al. 2007; Leibovitz et al. 2008). L'endocardite è la patologia che sembra abbia la più chiara associazione eziologica con le infezioni sostenute da *Bartonella* spp. Nella maggior parte dei casi, si rileva la presenza di *B. vinsonii* subsp.*berkhoffii* (Guptill 2010).

UOMO

Bartonella spp. è responsabile di disturbi acuti o cronici e di diverse manifestazioni vascolari. La varietà della sintomatologia dipende dalle specie infettanti e dallo stato immunitario del paziente. Le manifestazioni cliniche possono così spaziare da forme benigne e auto-limitanti a forme più gravi e letali (Angelakis e Raoult 2014). La maggior parte delle infezioni umane sono causate da *B. bacilliformis*, *B. henselae* e *B. quintana*. Forme cliniche sono state associate anche ad altre specie del genere. Ripassando le fasi della patogenesi di *Bartonella* spp., è noto che l'infezione prenda origine

dalla colonizzazione di un poco identificato organo bersaglio detto “primary niche”. A questo stadio, l'infezione è generalmente controllata dal sistema immunitario e le manifestazioni cliniche si limitano ad una linfadenopatia locale (*B. henselae*, *B. quintana* e *B. alsatica*) che, qualora sia causata dal graffio di gatti veicolanti feci di pulce infette, prende il nome di Cat Scratch Disease (CSD). In soggetti immunocompetenti si assiste generalmente ad una linfadenomegalia persistente (12-24 mesi). Talvolta, la CSD può sviluppare un'inflammazione granulomatosa composta da un microascesso centrale e da infiltrati di cellule giganti e macrofagi in periferia. Ovviamente, sulla base di condizioni ancora non del tutto note, la relazione di commensalismo tra ospite reservoir e batterio specifico può rompersi causando un meccanismo patologico silente (nel caso di infezioni specifiche). I batteri prendono così la via della disseminazione sistemica invadendo, per prima cosa, l'organo da cui verranno disseminati nel torrente sanguigno. Sporadiche forme atipiche di CSD (5%-14%) includono lo sviluppo di una febbre persistente (2 settimane circa), mialgia, artralgia/artropatia, debilitazione, perdita di peso, splenomegalia e la sindrome oculoghiandolare di Parinaud (Bass et al. 1997). Raggiunto il sistema circolatorio, i batteri possono aderire ed invadere gli eritrociti. Durante questa fase, assistiamo a due forme cliniche approfonditamente studiate: la “febbre di Oroya” (*B. bacilliformis*) e la “febbre delle trincee” (*B. quintana*). La prima causa una grave anemia emolitica. Circa un 1/3 dei pazienti incorre in infezioni secondarie che possono produrre una mortalità del 85% tra i pazienti non trattati (Ihler 1996; Maco et al. 2004). *B. quintana* causa, invece, forme improvvise e ricorrenti di febbre associate a mal di testa, tremori o ad un aspecifico dolore agli arti inferiori. La malattia può durare fino a 4-6 settimane (Jacomio et al. 2002). Batteriemie croniche possono essere causate anche da: *B. henselae*, *B. koehlerae*, *B. vinsonii* subsp.*berkhoffii* genotipo I e II, *B. vinsonii* subsp.*arupensis* e *B. rochalimae* (Mascarelli et al. 2011; Maggi et al. 2013; Ereemeeva et al. 2007; Welch et al. 1999; Maggi et al. 2011). Una volta raggiunto il torrente sanguigno, i batteri possono colonizzare organi e tessuti soprattutto quelli particolarmente vascolarizzati come: valvole cardiache (endocarditi sostenute da *B. quintana*, *B. henselae* e altre), reni (glomerulonefriti/*B. henselae*), cute (verruca peruviana/*B. bacilliformis* e angiomatosi bacillare/*B. henselae* e *B. quintana*), fegato e milza (peliosi epatica/*B. henselae*). Altresì, *Bartonella* spp. permane all'interno degli eritrociti per tutta la loro vita causando una batteriemia cronica pauci- o asintomatica che può durare diversi mesi (Brouqui et al. 1999; Dehio 2005; Minnick et al. 2009). Talvolta, la batteriemia cronica può portare allo sviluppo di endocarditi vegetanti soprattutto in pazienti già affetti da valvulopatie (più della metà dei casi) (Lepidi et al. 2000). I pazienti presentano, in genere, isolamenti colturali persistentemente negativi (90%) ma le vegetazioni possono essere rilevate tramite esame ecocardiografico (90%). Sono, generalmente, pazienti destinati ad interventi chirurgici (>90%) (Fournier et al. 2001). *B. henselae* e *B. quintana* sono le specie più comunemente individuate in sede cardiaca ma sono state sporadicamente isolate anche *B. koehlerae*, *B. vinsonii* subsp.*berkhoffii*, *B. vinsonii* subsp.*arupensis*,

B. elizabethae e *B. alsatica* (Raoult et al. 2006). Rilievi istologici riportano un'infiammazione sostenuta da cellule mononucleate e la presenza di estese fibrosi e calcificazioni (Lepidi et al. 2000). I batteri sono generalmente osservabili in raggruppamenti extracellulari localizzati sull'endocardio in piccole vegetazioni o all'interno del citoplasma di neutrofili e macrofagi (Lepidi et al. 2006). Come detto, il batterio può raggiungere anche cute, milza e fegato. Le lesioni angioproliferative che si sviluppano in queste sedi sono fortemente dipendenti dallo stato immunitario dell'ospite. L'angiomatosi bacillare è una manifestazione cutanea che può essere causata sia da *B. henselae* che da *B. quintana* (Tappero et al. 1993; Koehler et al. 1992). *B. henselae* è responsabile anche della peliosi epatica ossia una proliferazione dei sinusoidi epatici che generano spazi vuoti all'interno del parenchima i quali vengono riempiti dal sangue. È stata riscontrata soprattutto tra pazienti affetti da AIDS. Questo disturbo può affettare anche la milza, i linfonodi addominali e il midollo osseo (Bass et al. 1997). Un interessante studio è stato svolto per comprendere il ruolo della milza. I topi splenoectomizzati hanno riportato una batteriemia 10 volte superiore al gruppo non-splenoectomizzato. La milza sembra essere un organo di difesa contro l'infezione piuttosto che una sede privilegiata ad accogliere i microorganismi (Hong Kuan Deng et al. 2012). La verruca peruviana si sviluppa come forma benigna dell'infezione di *B. bacilliformis* (Chian et al. 2002).

LESIONI ANATOMOPATOLOGICHE

Le lesioni osservabili in cavalli affetti da Bartonellosi sono riferibili ai pochissimi casi riportati in bibliografia. Johnson et al. hanno potuto stabilire una correlazione eziologica tra le lesioni registrate in un feto abortito di cavallo e *B. henselae*. Macroscopicamente, il feto presentava foci necrotici di origine ematogena di 1-3mm disseminati su diversi organi interni. Le lesioni erano particolarmente rilevabili su fegato, reni, polmoni e ghiandole surrenali. Sono state segnalate lesioni anche in milza, ovaie ed encefalo. Istologicamente, è stato possibile individuare solo forme di vasculite nei punti associati alle aree di necrosi accompagnate dalla presenza di un infiltrato infiammatorio composto da linfociti, macrofagi e neutrofili. La proliferazione infiammatoria era presentata in associazione ad una espansione della tunica media e avventizia del vaso e a una riduzione del calibro di arterie e arteriole. La placenta, inoltre, presentava segni macroscopici simili dovuti ad una vasculite corionallantoidea (Johnson et al. 2009).

A livello epatico, sono stati segnalati anche epatociti di dimensioni irregolari riunite in agglomerati dalla forma di corda. Molti epatociti presentavano numerosi nuclei, spesso più di 10. Si tratta di segni compatibili con l'epatopatia a cellule giganti, patologia già descritta nel cavallo (Car e Anderson 1988; Wilkie et al. 1988).

Recentemente, è stato riportato in un puledro di 3,5 mesi un grave caso di colangioepatite suppurativa subacuta accompagnata da segni di fibrosi associato alla presenza di *B. henselae* nel parenchima epatico. L'animale presentava macroscopicamente segni d'itterizia delle mucose e delle sclere. I campioni biotici di parenchima epatico hanno riportato un moderato infiltrato infiammatorio composto principalmente da neutrofili, linfociti, plasma cellule e cellule fusiformi. Presenti anche proliferazioni infiltrative di tessuto fibroso. L'estensione della lesione dalla zona portale a quella centrolobulare è conforme all'origine ematogena delle forme patologiche sostenute da *Bartonella* spp. (Breischwerdt et al. 2010). Presenti anche microascessi disseminati su tutto l'organo in associazione ad agglomerati neutrofilici. A livello cutaneo è stata segnalata anche una vasculopatia fotosensibilizzante (Setlakwe et al. 2014).

Cherry et al. hanno riportato anche un grave caso di anemia emolitica. Alla necropsia, l'animale riportava segni di ittero, emoglobinuria e una lieve iperplasia del sistema ematopoietico a livello del midollo osseo femorale. Lo studio istopatologico ha confermato l'iperplasia midollare e ha permesso di individuare una lieve emosiderosi splenica oltre che un processo multifocale di tubulonefrosi con coinvolgimento delle cromoproteine (Cherry et al. 2011).

Jones et al. hanno per la prima volta descritto un caso letale di anemia emolitica in una cavalla adulta che presentava lesioni riconducibili a porpora emorragica. L'animale presentava mucose pallide e

petecchie sulla mucosa orale e nasale. Era presente anche edema degli arti anteriori (Jones et al. 2008). Questa descrizione è conforme a casi riportati in medicina umana che associano patologie vascolari all'infezione di *B. henselae* come nel caso di pazienti affetti da CSD che riportano forme di vasculite leucocitoclastica, lesione comune nelle forme di porpora emorragica (Schmoor et al. 1998).

DIAGNOSI

I casi di Bartonellosi riportati nella specie equina sono pochissimi e il campo di studio della patologia clinica resta relativamente inesplorato. Sono stati riportati soltanto pochi casi clinici in cui è stato evidenziato il chiaro coinvolgimento di *Bartonella* spp (Jones et al. 2008; Johnson et al. 2009; Cherry et al. 2011; Setlakwe et al. 2014). La scarsa conoscenza riguardante l'infezione nella specie equina e la sintomatologia aspecifica riportata nei casi presenti in bibliografia (e riportati nelle altre specie) non permettono una diagnosi clinica della patologia. La diagnosi può realizzarsi solo attraverso esami di laboratorio ma risulta comunque complicato confermare la presenza di un'infezione attiva. La ciclicità della batteriemia, la sua bassa intensità in infezioni croniche nonché la sensibilizzazione del sistema immunitario ad infezioni pregresse, rendono difficile la diagnosi di infezione da *Bartonella* spp. (Breischwerdt et al. 2010a; Breitschwerdt 2016). Gli esami ematologici, che possono rivelare eventuali alterazioni patologiche, sono generalmente aspecifici e variano in base alla presentazione clinica. L'agente patogeno risulta evidenziabile solo attraverso una diagnosi diretta fermo restando che, negli studi riportati, la diagnosi è stata spesso il risultato di una combinazione di valutazioni cliniche, anatomopatologiche, istologiche e molecolari. Questo criterio diagnostico è dovuto alla mancanza di test in grado di individuare sempre e senza difficoltà l'organismo (Setlakwe et al. 2014). Le nuove scoperte riguardanti questo genere inducono una continua evoluzione degli approcci diagnostici (Breitschwerdt et al. 2010a).

DIAGNOSI DIRETTA

Il campione di eccellenza per la diagnosi di *Bartonella* spp. è il sangue. La ricerca del batterio può essere eseguita anche su campioni istologici. Nei tessuti fortemente infetti, i batteri possono essere evidenziati tramite impregnazione argentea (o colorazione Warthin-Starry) piccoli bacilli che tendono ad apparire in raggruppamenti molto compattati. Rilievi simili possono essere rinvenuti negli eritrociti tramite la colorazione di Grunwald-Giemsa. Johnson et al. hanno potuto indirizzare la diagnosi verso l'agente eziologico proprio grazie alla colorazione di Warthin-Starry nell'analisi istologica di campioni di polmone e fegato prelevati da un feto abortito di cavallo (Johnson et al. 2009).

Notoriamente, le bartonelle sono considerate batteri molto esigenti e necessitano di un lungo periodo d'incubazione (dai 5-15 ai 45 gg). Sono coltivabili in Agar-sangue fresco di coniglio, pecora o cavallo e sono altamente eme-dipendenti (Chomel et al. 2004). La crescita ottimale si sviluppa a 35°C (28°C solo per *B. bacilliformis*) con 5% di CO₂ (Lynch e tal. 2011). L'isolamento culturale presenta però

dei limiti dovuti al lungo periodo d'incubazione (2-4 settimane) e all'alto numero di falsi negativi dovuto spesso ad un basso numero di organismi presenti nel campione da testare. Casi di endocardite canina e umana accompagnate da colture negative risultano ormai essere situazioni abbastanza comuni e indicano la bassa sensibilità dell'isolamento colturale (Duncan et al. 2007). La ciclicità della batteriemia e la localizzazione intracellulare rappresentano, come già detto, un grosso ostacolo all'isolamento di *Bartonella* spp. (Ebani et al. 2012).

Il batterio si sviluppa in diverse linee cellulari quali HUVEC (human umbilical vein endothelial cell) o HeLa ma questi metodi non trovano utilità nella diagnosi clinica a causa dei lunghi tempi di attesa (McCord et al. 2007).

L'aumento delle conoscenze riguardanti *Bartonella* spp. è stato permesso soprattutto grazie allo sviluppo nelle ultime decadi di metodologie molecolari notevolmente più specifiche e sensibili.

La tecnica più utilizzata ed affidabile resta l'identificazione del patogeno tramite PCR convenzionale, nested o real-time. La specificità è molto alta anche se talvolta si sono registrati bassi livelli di sensibilità probabilmente per le stesse ragioni di ciclicità della batteriemia. Nested-PCR e real-time PCR sono risultate maggiormente sensibili in uno studio svolto nella specie canina (Duncan et al. 2007). La PCR è il metodo diagnostico più rapido (Todd et al. 2004). La metodica viene eseguita da campioni ematici raccolti in provette addizionate con EDTA. Generalmente, vengono amplificati tratti dei geni 16S rRNA, 16S-23S ITS (intergenic transcribed sequence), *pap31* (phage-associated gene), *fla* o *gltA*. Per la ricerca di *B. bacilliformis* in campo umano, uno studio ha confrontato 3 target (16S-rRNA, ITS e *fla*) valutando come migliore 16S-rRNA (Gomes et al. 2016). Non esistono al momento studi in grado di poter affermare lo stesso nella ricerca sul cavallo.

BAPGM (Bartonella-Alphaproteobacteria growth medium) è un efficiente terreno di pre-arricchimento utilizzato spesso in combinazione con le tecniche diagnostiche PCR convenzionale o real-time che permette di risolvere problematiche diagnostiche dovute a batteriemie di bassissima intensità. L'utilizzo di questo terreno alza significativamente la sensibilità della PCR (Duncan et al. 2007). Il pre-arricchimento richiede però un periodo di 7, 14 o 21 giorni di attesa (Maggi et al. 2005, Duncan et al. 2007; Cherry et al. 2014). Recentemente a questo scopo, è stato formulato anche un terreno liquido specifico per *Bartonella* spp. privo di siero ematico (Muller et al. 2016).

La tipizzazione degli isolati risulta importante soprattutto sotto il punto di vista epidemiologico e della sanità pubblica alla luce dell'esistenza di numerose specie di *Bartonella* spp. con specificità e virulenza diverse (Woestyn et al. 2004).

DIAGNOSI INDIRETTA

La diagnosi sierologica permette di individuare soggetti in cui si è generata sierconversione in

risposta al contatto con antigeni di *Bartonella* spp. Il metodo spesso utilizzato è quello dell'immunofluorescenza indiretta (IFI). La presenza di anticorpi può però indicare una precedente esposizione al patogeno e non è in grado di confermare la presenza di un'infezione realmente attiva (Cherry et al. 2012).

Nel gatto, le IgG verso *B. henselae* risultano essere molto persistenti e permettono l'impiego delle metodiche sierologiche. IFI e EIA (enzyme immunoassay) presentano infatti un'ottima sensibilità (FPV-false predictive value 87%-97%) anche se dimostrano alcune carenze sul piano della specificità (PPV-positive predictive value 39%-46%) (Guptill 2010).

Nel cane e nell'uomo, si presenta uno scenario differente e simile a quello fino ad ora delineato nel cavallo. Solo circa il 50% degli esemplari canini e umani in cui è in corso un'infezione attiva risultano essere positivi ai test IFI (Duncan et al. 2007; Cherry et al. 2009).

Nel cavallo, un'infezione sperimentale condotta da Palmero et al. ha monitorato la risposta sierologica in soggetti infettati con antigeni di *B. henselae* (SA2 ITS strain) e *B. bovis*. Solo in 3 dei 4 cavalli del gruppo infettato con antigeni di *B. henselae* si è registrata una risposta umorale per quanto di breve durata. Sono stati registrati titoli massimi di 1:1024 (per 2 esemplari) e 1:2048. La positività è stata arbitrariamente posta a 1:64. Gli autori hanno però riconosciuto l'assenza in casi non-sperimentali di un test IFI standardizzato e convalidato per l'indagine sierologica nel cavallo (Jones et al. 2008). Mettendo a confronto i risultati di IFI con quelli di PCR/isolamenti colturali, è emersa infatti una discrepanza già segnalata negli studi svolti sulla specie canina (Duncan et al. 2007; Diniz et al. 2007). Lo stesso gruppo di studiosi ha successivamente svolto uno studio su vari cavalli e puledri sani o affetti da varie forme patologiche. I risultati hanno definitivamente dimostrato come IFI non sia in grado di distinguere tra precedenti esposizioni e la presenza di una batteriemia attiva. I falsi negativi possono dipendere dalla diversità antigenica degli isolati utilizzati per l'indagine con tecnica IFI (Drancourt et al. 1996). Inoltre, i cavalli batteriemici possono risultare soggettivamente "anergici" come segnalato in casi di pazienti umani e canini (Maggi et al. 2011). I ricercatori del settore invitano allo sviluppo di metodologie sierologiche adatte alla specie equina (Palmero et al. 2012; Cherry et al. 2012).

DIAGNOSI DIFFERENZIALE

Nel caso della Bartonellosi equina, la sintomatologia aspecifica comporta un ampio ventaglio di patologie associabili. Alla luce di ciò, diventa molto complicato poter stilare una lista di malattie da escludere in maniera differenziale. Disturbi muscoloscheletrici, linfadenomegalie o generici sintomi di letargia e abbattimento sono comuni in cani, gatti e cavalli. Essendo stati riscontrati in bibliografia casi di aborto fetale e epatopatie, bisogna prendere in considerazione gli agenti patogeni equini in

grado di generare questi quadri (Correa et al. 2012; Johnson et al. 2009; Setlakwe et al. 2014). Le forme neurologiche centrali o periferiche, per quanto più rare, annoverano questo patogeno tra le diagnosi differenziali del cavallo. In particolare modo, il sospetto di Bartonellosi deve generarsi nei casi di patologie ricorrenti e croniche. Come documentato in altre specie, l'infezione cronica può anche essere coinvolta nello sviluppo di forme autoimmuni quali tremori o anemia emolitica autoimmune (Breitschwerdt et al. 2004; Cherry et al. 2011). Un altro elemento è legato all'ambiente in cui vivono gli animali. *Bartonella* spp., oltre che per via diretta, viene diffusa tramite vettori ematofagi. Cavalli che vivono in ambienti ad alta densità di ectoparassiti (ambiente aperto) dovrebbero generare un maggior sospetto nei confronti di tale organismo. Concludendo, risulta comunque molto difficile indirizzare una diagnosi sulla base dei dati clinici o di laboratorio senza una ricerca diretta del patogeno.

Le poche diagnosi di *Bartonella* spp. ottenute nella specie equina sono state permesse grazie all'esclusione di altre ben più note e gravi patologie infettive. La difficoltà della diagnosi è dovuta alla forte aspecificità della sintomatologia e dalla bassa conoscenza del patogeno da parte dei veterinari. Di conseguenza, risulta difficile distinguerla da vari agenti quali: herpes virus-1 e herpes virus-4 equini, influenza equina, arterite virale equina, erlichiosi granulocitica equina, erlichiosi monocita equina, porpora emorragica, theileriosi, babesiosi, borreliosi di Lyme, le encefaliti sostenute da arbovirus e le infezioni da *Streptococcus equi* e *Leptospira* spp. nonché *Rhodococcus equi* (Jones et al. 2008; Johnson et al. 2009; Setlakwe et al. 2014)

TERAPIA

L'approccio terapeutico alle varie infezioni da *Bartonella* spp. È scelto sulla base delle presentazioni cliniche e lo stato immunitario del paziente. Esistono pochi dati in bibliografia riguardanti la migliore scelta terapeutica da impiegare. La maggior parte di questi sono riferiti soprattutto ad alcuni casi clinici umani e animali più che a comprovate valutazioni derivanti da lunghi monitoraggi sperimentali *in vivo*. A causa dei disparati dati risultanti dagli studi riportati e alla mancanza di dati sull'efficacia farmacologica, il trattamento dell'infezione da *Bartonella* spp. resta controverso e poco studiato nella specie umana ancor meno in quelle animali (Breitschwerdt et al. 2010a).

Il problema è legato ad una significativa differenza tra gli antibiotici risultati efficaci *in vitro* e la loro effettiva utilità nel trattamento dei casi clinici *in vivo*. Il tropismo intracellulare e la mancanza di un effetto propriamente battericida sono le principali cause di questa discrepanza (Rolain et al. 2004; Mogollon-Pasapera et al. 2008). Come ricordato, i casi riportati di fallimento terapeutico sono numerosi in tutte le specie studiate (Rolain et al. 2004). Di conseguenza, i test *in vitro* possono solo segnalare le molecole potenzialmente efficaci nella loro applicazione *in vivo* (Breitschwerdt et al. 2010a). Le specie di *Bartonella* si sono dimostrate sensibili a diverse classi di farmaci tra cui: aminoglicosidi, ciprofloxacina, cefalosporine ad ampio spettro (cefotetan, cefotaxime, ceftazidime, ceftriaxone), doxiciclina, trimethoprim-sulfametazolo, rifampicina, macrolidi (azitromicina, claritromicina, eritromicina) e beta-lattamici (penicillina G, amoxicillina). Si tratta però di risultati eseguiti *in vitro* (Maurin et al. 1995; Musso et al. 1995; Ives et al. 1997a, 1997b; Bass et al. 1998; Margileth 2000; Raoult et al. 2003).

L'azitromicina è un antibiotico macrolide dotato di una buona penetrazione cellulare e significativi effetti antiinfiammatori ed immunomodulatori. Queste ultime sue proprietà possono migliorare lo stato clinico del paziente e ciò rende ancora più complicato valutare la sua effettiva azione antimicrobica nei confronti di *Bartonella* spp. (Guptill 2010).

Il "Intracellular Pathogens Research Laboratory" raccomanda l'uso di azitromicina in infezioni da *Bartonella* spp. nel cane (10 mg/Kg per 1-7 settimane) (Breitschwerdt et al. 2010a). L'azione dell'enrofloxacina (5mg/Kg PO) si è dimostrata efficace in casi di gatti affetti da forme febbrili sostenute da *B. henselae*. La mancanza di un gruppo di controllo negativo complica però tale affermazione (Bradbury e Lappin 2010). Infezioni sperimentali e dati clinici, riportano così dati contrastanti sull'efficacia dei trattamenti a base di doxiciclina, ampicillina, rifampicina e enrofloxacina utilizzate singolarmente o in combinazione (Breitschwerdt et al. 2004; Rolain et al. 2004; Miller et al. 2009).

Doxiciclina si è dimostrata inutile in cani infettati con *B. vinsonii* subsp. *berkhoffii* ma si suppone che

dosi alte (10 mg/Kg PO ogni 12 h. per 4-6 settimane) siano in grado di contrastare l'infezione da alcune specie di *Bartonella* quali *B. henselae* e *B. clarridgeiae* (Margileth 2000).

I fallimenti terapeutici possono essere associati anche a fenomeni di antibiotico-resistenza che si sviluppano a causa dei lunghi periodi di trattamento oltre che ad una mancata o difficile valutazione dei risultati ottenuti (Higgins et al. 1996; Finkelstein et al. 2002; Angelakis et al. 2008, 2009). Specifici geni relativi all'antibiotico-resistenza sono stati segnalati in ceppi di *B. bacilliformis*, *B. henselae* e *B. quintana* sottoposto a varie esposizioni eseguite *in vitro* (Biswas et al. 2006, 2007; Pendle et al. 2006; Gomes et al. 2016). Per questa ragione, in caso di animali positivi ai test diagnostici ma in buone condizioni è consigliato non trattare automaticamente i pazienti e lasciare che sia l'animale ad eliminare l'infezione. L'alta prevalenza del batterio nella popolazione felina, il suo dubbio ruolo patologico e il rischio di antibiotico-resistenze sono i motivi che sostengono questa raccomandazione (Breitschwerdt et al. 2010a).

Concludendo, nel campo umano le infezioni da *Bartonella* spp. vengono preferibilmente trattate con doxiciclina, eritromicina e rifampicina anche se sono stati segnalati successi terapeutici anche con altre classi di farmaci (Breitschwerdt et al. 2010a). Complessivamente, sono a disposizione poche informazioni sul tema e pochissime sulla loro applicazione nella specie equina.

Tra i casi clinici riportati in bibliografia, Jones et al. segnalano che l'utilizzo di cloramfenicolo (50 mg/Kg PO ogni 6h) per 45 giorni abbia permesso la risoluzione di ricorrenti disturbi dell'apparato muscoloscheletrico (zoppie al movimento) in un cavallo purosangue inglese castrato di 11 anni positivo ai test per *B. henselae*. L'animale presentava da anni episodi di zoppia ricorrenti ed intermittenti e mai risolti con i precedenti trattamenti. Dopo 30 giorni dall'inizio del trattamento, l'isolamento colturale e la PCR hanno dato risultati negativi. Dopo il miglioramento clinico, il cavallo ha riacquisito le sue normali performance. Dopo 4 mesi è stato però ritirato definitivamente dalle attività a causa del riemergere della zoppia (Jones et al. 2008).

Setlawke et al. hanno riportato invece il caso di un puledro purosangue inglese affetto da una grave forma di colangioepatite suppurativa. In questo caso, il trattamento con trimetoprim-sulfametossazolo (TMS, 30 mg/Kg PO ogni 12 h) e rifampicina (5 mg/Kg PO ogni 12h) permette di trattare infezioni epatiche ad ampio spettro ed è considerata una scelta ragionevole per contrastare l'infezione di *Bartonella* spp. Pentossifillina (7,5 mg/Kg PO ogni 12h) e S-adenosil metionina (SAM, 12 mg/Kg PO ogni 24 h) sono stati aggiunti al trattamento in quanto dotati di proprietà antifibrotiche ed antiossidanti a livello epatico (Setlakwe et al. 2014).

In campo umano, l'utilizzo di gentamicina, TMS, rifampicina e ciprofloxacina da soli o in combinazione ha una riconosciuta efficacia nel trattamento di sindromi epatospleniche (Arisoy et al. 1999; Massei et al. 2005). In questo caso, la rifampicina è stata eliminata dal trattamento dopo 13 giorni e il puledro ha proseguito il trattamento in attesa di un miglioramento del profilo enzimatico

del fegato. Nonostante un miglioramento dal punto di vista clinico, i livelli degli enzimi epatici (GGT) si sono mantenuti in crescita fino a 4 mesi successivi all'inizio del trattamento. La sostituzione del TMS con la minociclina (4 mg/Kg PO ogni 12h) ha portato ad una diminuzione dei livelli degli enzimi epatici. La totale normalizzazione si è ottenuta a 7 mesi dal cambio terapeutico.

Malgrado il trattamento a base di TMS e rifampicina abbia migliorato le condizioni del puledro, *B. henselae* restava rilevabile tramite PCR nel fegato del puledro.

La minociclina sembra abbia portato ad un miglioramento del profilo enzimatico del fegato. Questo miglioramento potrebbe essere dovuto ad una maggiore penetrazione cellulare del farmaco ma nuove indagini sul tema sono necessarie per fare chiarezza su questo elemento.

In base alle presentazioni cliniche, i cavalli possono trarre giovamento da una terapia antiinfiammatoria non-steroidica di supporto (fenilbutazone 2 mg/Kg PO ogni 12h, flunixin meglumina 1,1mg/Kg IV ogni 24 h) sempre considerando le controindicazioni d'uso. Dev'essere evitato in soggetti affetti da patologie cardiache, epatiche, gastriche come anche in presenza di emoglobinuria, disturbi della coagulazione ed edemi. Il flunixin meglumine è anche sconsigliato in disturbi muscoloscheletrici di tipo cronico

Qualora insorgessero fenomeni di laminite, dev'essere tempestivamente ed appropriatamente trattata al fine di evitare ulteriori complicazioni.

PROFILASSI

Nessun vaccino è al momento disponibile in commercio per la profilassi in cani e gatti, gli animali considerati più pericolosi per il passaggio dell'infezione all'uomo. Le misure profilattiche, come per altre malattie trasmesse da artropodi ematofagi, si basano principalmente su misure ambientali volte a controllare l'esposizione agli ectoparassiti. Si tratta di misure che nella specie felina hanno dimostrato un'ottima efficacia (Brunt et al. 2006; Bradbury e Lappin 2009).

Attualmente, il controllo dei vettori è effettuato mediante una serie di metodi, adattati alle diverse aree geografiche ed è basato sull'uso di repellenti. L'utilizzo di tali sostanze non si dimostra sempre efficace ed è spesso accompagnato da effetti dannosi quali la contaminazione ambientale e la selezione di parassiti resistenti alle molecole impiegate. Lo sviluppo di un vaccino offrirebbe un beneficio non solo sul piano economico ma eliminerebbe questi problemi affatto secondari (de la Fuente et al. 2004).

SANITA' PUBBLICA

Gli aspetti di sanità pubblica relativi all'infezione da *Bartonella* spp. rappresentano un campo di studio in continua evoluzione. Come detto, si tratta di una zoonosi emergente che ha attirato l'attenzione della comunità scientifica negli ultimi 25 anni. Oggi, il 75% delle malattie emergenti e il 60% di tutte le malattie umane sono causate da agenti zoonotici. Ben il 28% delle forme emergenti sono associate alla trasmissione sostenuta da vettori. La loro distribuzione e diffusione varia spesso in base alle condizioni climatiche. Il surriscaldamento globale e le conseguenti alterazioni meteorologiche sono fenomeni che possono incidere sulla prevalenza e l'endemismo di *Bartonella* spp. (Maggi et al. 2013; Regier et al. 2016). Ad oggi, sono 13 le specie considerate zoonotiche o potenzialmente zoonotiche. Tra queste ricordiamo: *B. henselae*, *B. clarridgeiae*, *B. koehlerae*, *B. vinsonii* subsp.*berkhoffii*, *B. vinsonii* subsp.*alsatica*, *B. grahamii*, *B. elizabethae*, *B. tamiae*, *B. alsatica*, *B. washoensis* e *B. rochalimae*. La distribuzione mondiale, l'alta prevalenza registrata nelle specie reservoir e l'alto numero di vettori o ospiti mammiferi coinvolti comporta che le implicazioni nei confronti della salute umana siano numerose e dipendano da numerosi fattori. Il pericolo per la salute pubblica è però ancora poco definito e, probabilmente, sottostimato (Regier et al. 2016). Per quanto alcuni meccanismi di trasmissione debbano essere ancora ben descritti e comprovati, il rischio zoonotico sembra derivare dal contatto con animali domestici e da compagnia oppure dal ciclo selvatico del batterio. Nel secondo caso, la trasmissione tramite vettori artropodi potrebbe svolgere un ruolo più significativo (zecche, pulci, mosche ematofaghe).

B. henselae è la specie zoonotica che è stata più spesso associata a manifestazioni cliniche nel campo umano. Le alterazioni variano in base allo stato di immunocompetenza dell'ospite (da manifestazioni locali a patologie sistemiche). Il gatto domestico ne rappresenta il principale ospite reservoir e raramente è soggetto a manifestazioni cliniche. Nel ciclo domestico, la trasmissione di *B. henselae* tramite morsi e graffi veicolanti feci contaminate sembra essere la via di maggiore rilevanza zoonotica. Isolamenti positivi tramite PCR (*B. henselae* e *B. vinsonii* subsp.*berkhoffii*) sono stati ottenuti anche da campioni salivari di cane. Questi dati sostengono la possibilità di una trasmissione di origine canina tramite il morso. Il controllo degli ectoparassiti quali pulci e zecche resta un fattore di fondamentale importanza nella prevenzione di numerose patologie. Oltre a misure ambientali, possono essere contrastati con repellenti in pipetta quali Fipronil+(S)-methoprene (cani e gatti) o DEET (dietilmetilbenzamide o dietiltoluamide) e permetrina (0,5%) mantenendosi alle indicazioni d'uso (per cavalli o ambienti). I rischi zoonotici non derivano però solo da cani e gatti. Negli ultimi anni sono aumentate notevolmente le conoscenze relative alle infezioni sostenute da bartonelle roditori-specifiche anche se i meccanismi di trasmissione (anche nei confronti dell'uomo) restano in

gran parte sconosciuti (Boulouis et al. 2005). L'esposizione a ratti e topi, soprattutto tra la popolazione senza fissa dimora o tra consumatori di droghe intravenose, è stata associata all'infezione da bartonelle roditori-specifiche. In particolare, si tratta di *B. elizabethae*, *B. grahamii*, *B. vinsonii* subsp.*arupensis*(Comer et al. 1996, 2001; Ellis et al. 1999). Un altro fattore associato all'infezione è dato dall'esposizione alle zecche e alla vita in “ambiente aperto” (Pappalardo et al. 1997; Lucey et al. 1992; Zangwill et al. 1993; Eskow et al. 2001).

Alla luce di queste considerazioni, risulta evidente l'esistenza di un forte rischio occupazionale associato a categorie professionali esposte all'ambiente aperto e agli ectoparassiti (guardie forestali, cacciatori, atleti) e/o direttamente agli animali (veterinari, cacciatori, macellai). Proprio intorno alla professione veterinaria sono stati eseguiti e riportati alcuni studi che hanno iniziato a caratterizzare il rischio occupazionale della categoria. I veterinari sono associati ad un alto rischio professionale nei confronti di *Bartonella* spp. (Maggi et al. 2011). Negli ultimi 10 anni sono stati riportati numerosi casi di neurobartonellosi (convulsioni, epilessia, emicrania, fotofobia) (Breitschwerdt et al. 2007, 2008, 2010a, 2010b; Maggi et al. 2011). Riportiamo due casi significativi. Il primo relativo ad un veterinario affetto da manifestazioni neurologiche croniche. Il soggetto è risultato infettato da *Mycoplasma ovis* (*Mycoplasma* sp. emotropico che infetta gli ovini) e *B. henselae* (Sykes et al. 2010). Il secondo caso, riportato da Maggi et al., ha interessato una veterinaria di 27 anni immunocompetente e abituata a svolgere attività sportive di vario tipo. Il soggetto aveva praticato numerose esperienze lavorative in diverse aree del mondo e aveva lavorato con animali domestici, esotici oltre che essere stata coinvolta anche in studi di anatomia-patologica su animali selvatici. Il paziente ha sofferto per 2 anni di manifestazioni neurologiche e neurocognitive. Anche questa volta, il soggetto ha riportato una co-infezione di *B. henselae* e altri due microrganismi caratterizzati, generalmente, da bassa virulenza: *Anaplasma platys* e *Candidatus Mycoplasma haematoparvum*. Malgrado fosse stato instaurato un adeguato trattamento fin dalle prime manifestazioni, il grave stato epilettico (4-7 attacchi convulsivi al giorno) è stato difficilmente controllato e potrebbe aver causato danni neurocognitivi permanenti. Dopo gli ultimi 6 mesi di trattamento con doxiciclina, è stata ancora riscontrabile la presenza di *B. henselae* (Maggi et al. 2013). In accordo con molti casi neurologici, i soggetti non hanno mai riportato febbre, alterazioni ematologiche, biochimiche o del liquido cerebrospinale (Maggi et al. 2013).

RICERCHE PERSONALI

MATERIALI E METODI

CAMPIONAMENTO

Da Marzo a Maggio 2016 sono stati raccolti i campioni ematici di 92 equidi adulti provenienti da diverse strutture localizzate nella provincia di Pisa.

La popolazione di studio era composta da 77 cavalli (39 maschi e 38 femmine) e 15 asini (6 maschi e 9 femmine). I centri in cui è stata svolta l'indagine sono posizionati in zone rurali spesso adiacenti a campi o prati. Si tratta di centri adibiti al ricovero di animali di soggetti privati e di esemplari appartenenti all'Università di Pisa.

Alcuni soggetti vivono costantemente all'aperto, mentre altri sono mantenuti anche in box.

In generale, tutti gli animali sono sottoposti ad un elevato rischio di esposizione a vettori ematofagi.

Gli animali scelti non dimostravano alcuna sintomatologia al momento del campionamento.

I campioni venosi sono stati prelevati in provette vacutainer con EDTA (acido etilendiaminotetracetico) dalla vena giugulare e mantenuti a 4°C fino al momento dell'estrazione del DNA.

ESTRAZIONE DNA

L'estrazione del DNA è stata eseguita con il kit commerciale Dneasy Tissue Kit (Qiagen).

Per ogni campione è stato eseguito il seguente protocollo:

- 200 µL di sangue insieme a 20 µL di proteinasi K e 100 µL di PBS (Phosphate Buffered Saline pH 7,4) sterile, sono stati distribuiti in una microprovetta da 1,5 mL.
- A tale contenuto sono stati aggiunti 200 µL di soluzione di lisi cellulare (Buffer AL).
- Il tutto è stato incubato in bagnomaria a 70°C per 10 minuti.
- Nella stessa microprovetta sono stati aggiunti 200 µL di etanolo al 96-100%.
- Il Campione trattato è stato trasferito in una "Dneasy spin column" (DNsc) inserita in una provetta da 2 mL e centrifugato a 8000 rpm per 1 minuto.

- La DNsc è stata posta in una nuova provetta da 2 mL e sono stati aggiunti 500 µL della prima soluzione di lavaggio (Buffer AW1), contenente il 56,8% di etanolo.
- Il tutto è stato sottoposto a centrifugazione a 8000 rpm per 1 minuto.
- La DNsc è stata trasferita in una nuova provetta da 2 mL e sono stati aggiunti 500 µL della seconda soluzione di lavaggio (Buffer AW2), contenente il 69,76% di etanolo.
- E' stata eseguita una centrifugazione a 12000 rpm per 3 minuti.
- La DNsc è stata posta in una microprovetta da 1,5 mL e sono stati aggiunti 200 µL della soluzione di eluizione (Buffer AE).
- Il tutto è stato incubato a temperatura ambiente per 1 minuti e poi centrifugato a 8000 rpb per 1 minuto.

Il prodotto ottenuto, che rappresenta l'eluato contenente DNA, è stato conservato a 4°C.

Al fine di valutare l'avvenuta estrazione, tutti i campioni sono stati sottoposti a corsa elettroforetica su gel di Agarosio 1,5%.

IDENTIFICAZIONE DI *Bartonella* spp. MEDIANTE POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR)

I 92 campioni di DNA ottenuti sono stati sottoposti a PCR allo scopo di amplificare un frammento di 296 bp appartenente al gene 16S rRNA di *Bartonella* spp. (Relman et al. 1990).

Come controllo positivo è stato utilizzato il DNA estratto da un paziente umano già risultato positivo nei confronti di *B.henselae*.

L'amplificazione è stata condotta, per ciascun campione, su un volume di reazione di 13 µL contenente 2 µL di DNA e 11 µL di master mix composta da 6,6 µl di EconoTaq®(Plus) 2X MasterMix e 2,2 µl di ciascun primer (p12B e p24E) (Relman et al. 1990).

La reazione è stata eseguita in termocicizzatore (Perkin Elmer, GeneAmp PCR System 2700) programmato a 50 cicli.

Ogni ciclo era composto dalle seguenti fasi:

1. Denaturazione: 95°C per 30".
2. Annealing: 55°C per 30".
3. Estensione: 72°C per 60".

I templati sono stati sottoposti a corsa elettroforetica in gel di Agarosio 1,5% a 100V per 45 minuti.

I gel sono, quindi, stati osservati al transilluminatore per la lettura dei risultati.

I campioni risultati positivi sono stati sottoposti ad un secondo protocollo PCR, che permette l'amplificazione di un tratto di 380 bp del gene citrato sintetasi (*gltA*) del genere *Bartonella* e che utilizza i primers BhCs781 e BhCs1137 (Maillard et al. 2006).

I campioni risultati positivi anche al secondo protocollo PCR sono stati inviati ad un laboratorio commerciale per essere sottoposti a sequenziamento, al fine di identificare la specie batterica.

RISULTATI

Le corse elettroforetiche hanno permesso l'osservazione di bande specifiche per *Bartonella* spp. ottenute con entrambi i protocolli di PCR.

I campioni risultati positivi sono stati:

- 9/77 cavalli (11,7 %) - 7 femmine e 2 maschi
- 3/15 asini (20%) - 2 femmine e 1 maschio

Dai 12 campioni positivi sottoposti a sequenziamento, 2 sono risultati appartenere a *B. henselae* biotipo I.

Gli altri 10 campioni sono tutt'ora in corso di studio, poiché la quantità di DNA amplificato ottenuta con la PCR non è sufficiente per fornire risultati attendibili al sequenziamento.

CONCLUSIONI

I risultati ottenuti nel corso di questo studio hanno dimostrato che anche i cavalli e gli asini possono essere infettati da batteri dell'eterogeneo genere *Bartonella*.

Sulla base dei dati riportati nella letteratura internazionale, questa è la prima segnalazione di tale infezione nell'asino (*Equus asinus*), specie animale per la quale quindi non si conosce il potenziale patogeno di questi batteri.

Per quanto riguarda invece le informazioni sulla Bartonellosi nel cavallo, sono disponibili solo alcuni dati, riportati da ricercatori americani, su quadri clinici e anatomo-patologici osservati su pochi soggetti e attribuiti ad infezioni da *Bartonella* spp. Mancano invece dati epidemiologici sulla diffusione di tali patogeni tra gli equidi.

Il riscontro, nel nostro studio, di positività in soggetti clinicamente sani, fa supporre, come del resto ipotizzato da alcuni autori, che le bartonelle possano infettare i cavalli e gli asini senza determinare alcuna sintomatologia. Sembra infatti che più che agenti primari di malattia, le bartonelle possano aggravare un quadro clinico già compromesso da altri agenti eziologici.

Due cavalli da noi esaminati sono risultati positivi per *B. henselae*, specie batterica classicamente associata al gatto, che ne è il reservoir, e all'uomo che sviluppa patologie diverse per sintomi e gravità. Tale risultato dimostra che *B. henselae* può colpire anche altre specie animali, che pertanto possono essere coinvolte nel suo ciclo epidemiologico.

Tutte le bartonelle possono essere trasmesse da artropodi ematofagi, quali pulci, flebotomi, pidocchi e zecche.

I cavalli e gli asini da noi esaminati erano esposti soprattutto al morso di zecche, che pertanto si suppone siano state la fonte di infezione per tali animali.

Alla luce di tali considerazioni, appare quindi estremamente importante la lotta agli artropodi ematofagi, che per altro possono veicolare e trasmettere anche altri patogeni, quali *Anaplasma phagocytophilum* e *Borrelia burgdorferi*.

Inoltre risulta consigliabile la ricerca di *Bartonella* spp. in casi clinici atipici, cronici o ricorrenti, al fine di formulare una diagnosi completa e allo stesso tempo di raccogliere maggiori dati sul potere patogeno di questi batteri in cavalli e asini.

BIBLIOGRAFIA

- Abbot, P., Aviles, A.E., Eller, L., & Durden, L.A. (2007). Mixed infections, cryptic diversity, and vector-borne pathogens: Evidence from *Polygenis* fleas and *Bartonella* species. *Appl Environ Microbiol*, 73:6045–6052.
- Akiba, T., Koyama, K., Ishiki, Y., Kimura, S., & Fukushima, T. (1960). On the mechanism of the development of multiple drug-resistant clones of *Shigella*. *Japanese journal of microbiology*, 4(2), 219-227.
- Alamán Valtierra M., Simón Valencia C., Fuertes Negro H., Unzueta Galarza A., Flores Somarriba B., & Halaihel Kassab N. (2016). Epidemiología molecular de *Bartonella henselae* en gatos callejeros y de albergue en Zaragoza, España. *Rev Esp Salud Pública*, vol. 90: 5 de mayo: e1-e11.
- Alexander, B. (1995). A review of bartonellosis in Ecuador and Colombia. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 52(4), 354-359.
- Alsmark, C.M., Frank, A.C., Karlberg, E.O., Legault, B.A., Ardell, D.H., Canbäck, B., Eriksson, A., Naslund, A.K., Handley, S.A., Holmberg, M., Andersson, S.G.E., & La Scola, B. (2004). The louse-borne human pathogen *Bartonella quintana* is a genomic derivative of the zoonotic agent *Bartonella henselae*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(26), 9716-9721.
- Alvarez-Martinez, C.E., & Christie, P.J. (2009). Biological diversity of prokaryotic type IV secretion systems. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 73(4), 775-808.
- Anderson, B.E., & Neuman, M.A. (1997). *Bartonella* spp. as emerging human pathogens. *Clinical Microbiology Reviews*, 10(2), 203-219.
- Angelakis E., Billeter S.A., Breitschwerdt E.B., Chomel B.B., & Raoult D. (2010) Potential for tick-borne bartonellosis. *Emerg Infect Dis*, 16: 385–391.
- Angelakis, E. (2008). Human Case of *Bartonella alsatica* Lymphadenitis-Volume 14, Number 12—December 2008-*Emerging Infectious Disease journal-CDC*.
- Angelakis, E., & Raoult, D. (2014). Pathogenicity and treatment of *Bartonella* infections. *International journal of antimicrobial agents*, 44(1), 16-25.
- Angelakis, E., Biswas, S., Taylor, C., Raoult, D., & Rolain, J. M. (2008). Heterogeneity of susceptibility to fluoroquinolones in *Bartonella* isolates from Australia reveals a natural mutation in *gyrA*. *Journal of antimicrobial chemotherapy*, 61(6), 1252-1255.
- Angelakis, E., Pulcini, C., Waton, J., Imbert, P., Socolovschi, C., Edouard, S., Dellamonica, P., & Raoult, D. (2010). Scalp eschar and neck lymphadenopathy caused by *Bartonella henselae* after tick bite. *Clinical infectious diseases*, 50(4), 549-551.
- Angelakis, E., Raoult, D., & Rolain, J.M. (2009). Molecular characterization of resistance to fluoroquinolones in *Bartonella henselae* and *Bartonella quintana*. *Journal of antimicrobial chemotherapy*, 63(6), 1288-1289.
- Antequera-Gómez, M.L., Lozano-Almendral, L., Barandika, J.F., González-Martín-Niño, R. M., Rodríguez-Moreno, I., García-Pérez, A.L., & Gil, H. (2015). *Bartonella chomelii* is the most frequent species infecting cattle grazing in communal mountain pastures in Spain. *Applied and environmental microbiology*, 81(2), 623-629.
- Armengol, C.E., & Hendley, J.O. (1999). Cat-scratch disease encephalopathy: a cause of status epilepticus in school-aged children. *The Journal of pediatrics*, 134(5), 635-638.
- Avidor, B., Graidy, M., Efrat, G., Leibowitz, C., Shapira, G., Schattner, A., Zimhony, O., & Giladi, M. (2004). *Bartonella koehlerae*, a new cat-associated agent of culture-negative human endocarditis. *Journal of clinical microbiology*, 42(8), 3462-3468.
- Backert, S., & Meyer, T. F. (2006). Type IV secretion systems and their effectors in bacterial pathogenesis. *Current opinion in microbiology*, 9(2), 207-217.
- Backert, S., Fronzes, R., & Waksman, G. (2008). VirB2 and VirB5 proteins: specialized adhesins in bacterial type-IV secretion systems?. *Trends in microbiology*, 16(9), 409-413.

- Bai Y, Kosoy MY, Ray C, Brinkerhoff RJ, & Collinge SK. (2008a). Temporal and spatial patterns of *Bartonella* infection in black-tailed prairie dogs (*Cynomys ludovicianus*). *Microb. Ecol*, 56:373–382.
- Bai, Y., Kosoy, M., Martin, A., Ray, C., Sheff, K., Chalcraft, L., & Collinge, S. K. (2008b). Characterization of *Bartonella* strains isolated from black-tailed prairie dogs (*Cynomys ludovicianus*). *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 8(1), 1-6.
- Bai, Y., Malania, L., Castillo, D. A., Moran, D., Boonmar, S., Chanlun, A., Suksawat, F., Maruyama, S., Knobel, D., & Kosoy, M. (2013). Global distribution of *Bartonella* infections in domestic bovine and characterization of *Bartonella bovis* strains using multi-locus sequence typing. *PLoS One*, 8(11), e80894.
- Bajer, A., Pawelczyk, A., Behnke, J., Gilbert, F., & Sinski, E. (2001). Factors affecting the component community structure of haemoparasites in bank voles (*Clethrionomys glareolus*) from the Mazury Lake District region of Poland. *Parasitology*, 122(01), 43-54.
- Bass, J.W., Vincent, J.M., & Person, D.A. (1997). The expanding spectrum of *Bartonella* infections: II. Cat-scratch disease. *The Pediatric infectious disease journal*, 16(2), 163-179.
- Batterman, H.J., Peek, J.A., Loutit, J.S., Falkow, S., & Tompkins, L. S. (1995). *Bartonella henselae* and *Bartonella quintana* adherence to and entry into cultured human epithelial cells. *Infection and immunity*, 63(11), 4553-4556.
- Battisti, J.M., Lawyer, P.G., & Minnick, M.F. (2015). Colonization of *Lutzomyia verrucarum* and *Lutzomyia longipalpis* Sand Flies (Diptera: Psychodidae) by *Bartonella bacilliformis*, the Etiologic Agent of Carrión's Disease. *PLoS Negl Trop Dis*, 9(10), e0004128.
- Battistini T.S. (1929). Estudios sobre la verruga peruana. *La Acción Médica*. 1929
- Battistini T.S. (1931). La verrue péruvienne: sa transmission par le Phlébotome. *Revue Sud-Americaine de Médecine et de Chirurgie*. 1931;2:719–24.
- Beerlage, C., Varanat, M., Linder, K., Maggi, R.G., Cooley, J., Kempf, V.A., & Breitschwerdt, E.B. (2012). *Bartonella vinsonii* subsp. *berkhoffii* and *Bartonella henselae* as potential causes of proliferative vascular diseases in animals. *Medical microbiology and immunology*, 201(3), 319-326.
- Ben-Tekaya, H., Gorvel, J. P., & Dehio, C. (2013). *Bartonella* and *Brucella*—weapons and strategies for stealth attack. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 3(8), a010231.
- Benson, L.A., Kar, S., McLaughlin, G., & Ihler, G.M. (1986). Entry of *Bartonella bacilliformis* into erythrocytes. *Infection and immunity*, 54(2), 347-353.
- Benson, M.J., Gawronski, J.D., Eveleigh, D.E., & Benson, D.R. (2004). Intracellular symbionts and other bacteria associated with deer ticks (*Ixodes scapularis*) from Nantucket and Wellfleet, Cape Cod, Massachusetts. *Applied and Environmental Microbiology*, 70(1), 616-620.
- Bereswill, S., Hinkelmann, S., Kist, M., & Sander, A. (1999). Molecular Analysis of Riboflavin Synthesis Genes in *Bartonella henselae* and Use of the ribCGene for Differentiation of *Bartonella* Species by PCR. *Journal of clinical microbiology*, 37(10), 3159-3166.
- Bergh, K., Bevanger, L., Hanssen, I., & Løseth, K. (2002). Low prevalence of *Bartonella henselae* infections in Norwegian domestic and feral cats. *Apmis*, 110(4), 309-314.
- Berglund, E.C., Ellegaard, K., Granberg, F., Xie, Z., Maruyama, S., Kosoy, M. Y., Birtles R.J., & Andersson, S. G. (2010). Rapid diversification by recombination in *Bartonella grahamii* from wild rodents in Asia contrasts with low levels of genomic divergence in Northern Europe and America. *Molecular ecology*, 19(11), 2241-2255.
- Berglund, E.C., Frank, A.C., Calteau, A., Pettersson, O.V., Granberg, F., Eriksson, A.S., Naslund, K., Holmber, M., Lind, H., & Andersson, S.G. (2009). Run-off replication of host-adaptability genes is associated with gene transfer agents in the genome of mouse-infecting *Bartonella grahamii*. *PLoS genetics*, 5(7), e1000546.
- Bergmans A.M., Schellekens J.F., van Embden J.D., & Schouls L.M. (1996). Predominance of two *Bartonella henselae* variants among cat-scratch disease patients in the Netherlands. *J Clin Microbiol*, 34 (2):254– 260
- Berrich, M., Kieda, C., Grillon, C., Monteil, M., Lamerant, N., Gavard, J., Boulouis, H.J., & Haddad,

- N. (2011). Differential effects of *Bartonella henselae* on human and feline macro-and micro-vascular endothelial cells. *PloS one*, 6(5), e20204.
- Billeter, S.A., Levy, M.G., Chomel, B.B., & Breitschwerdt, E.B. (2008). Vector transmission of *Bartonella* species with emphasis on the potential for tick transmission. *Medical and veterinary entomology*, 22(1), 1-15.
- Birtles, R.J. (2005). *Bartonellae* as elegant hemotropic parasites. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1063(1), 270-279.
- Birtles, R.J., Canales, J., Ventosilla, P., Alvarez, E., Guerra, H., Llanos-Cuentas, A., Raoult, D., Doshi, N., & Harrison, T.G. (1999). Survey of *Bartonella* species infecting intradomicillary animals in the Huayllacallán Valley, Ancash, Peru, a region endemic for human bartonellosis. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 60(5), 799-805.
- Birtles, R.J., Harrison, T.G., & Molyneux, D.H. (1994). *Grahamella* in small woodland mammals in the UK: isolation, prevalence and host specificity. *Annals of Tropical Medicine & Parasitology*, 88(3), 317-327.
- Birtles, R.J., Harrison, T.G., Saunders, N.A., & Molyneux, D.H. (1995). Proposals to unify the genera *Grahamella* and *Bartonella*, with descriptions of *Bartonella talpae* comb. nov., *Bartonella peromysci* comb. nov., and three new species, *Bartonella grahamii* sp. nov., *Bartonella taylorii* sp. nov., and *Bartonella doshiae* sp. nov. *Int J Syst Bacteriol* 45, 1±8.
- Birtles, R.J., Hazel, S.M., Bennett, M., Bown, K., Raoult, D., & Begon, M. (2001). Longitudinal monitoring of the dynamics of infections due to *Bartonella* species in UK woodland rodents. *Epidemiology and Infection*, 126(2), 323.
- Biswas, S., Raoult, D., & Rolain, J.M. (2006). Molecular characterization of resistance to macrolides in *Bartonella henselae*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 50(9), 3192-3193.
- Biswas, S., Raoult, D., & Rolain, J. M. (2007). Molecular mechanisms of resistance to antibiotics in *Bartonella bacilliformis*. *Journal of antimicrobial chemotherapy*, 59(6), 1065-1070.
- Bouchouicha, R. (2009). Molecular Epidemiology of Feline and Human *Bartonella henselae* Isolates- Volume 15, Number 5—May 2009-*Emerging Infectious Disease journal-CDC*.
- Bouhsira, E., Ferrandez, Y., Liu, M., Franc, M., Boulouis, H.J., & Biville, F. (2013). *Ctenocephalides felis* an in vitro potential vector for five *Bartonella* species. *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases*, 36(2), 105-111.
- Boulouis H.J., Chang C.C., Henn J.B., Kasten R.W., & Chomel B.B. (2005). Factors associated with the rapid emergence of zoonotic *Bartonella* infections. *Vet Res*, 36:383–410.
- Boulouis, H. J., Barrat, F., Bermond, D., Bernex, F., Thibault, D., Heller, R., Fontaine, J., Piémont, Y., & Chomel, B. B. (2001). Kinetics of *Bartonella birtlesii* infection in experimentally infected mice and pathogenic effect on reproductive functions. *Infection and immunity*, 69(9), 5313-5317.
- Boulouis, H.J., Chang, C.C., Henn, J.B., Kasten, R.W., & Chomel, B.B. (2005). Factors associated with the rapid emergence of zoonotic *Bartonella* infections. *Veterinary research*, 36(3), 383-410.
- Bown, K.J., Bennet, M., & Begon, M. (2004). Flea-borne *Bartonella grahamii* and *Bartonella taylorii* in bank voles. *Emerg Infect Dis*, 10(4), 684-687.
- Bown, K.J., Ellis, B.A., Birtles, R.J., Durden, L.A., Lello, J., Begon, M., & Bennett, M. (2002). New World origins for haemoparasites infecting United Kingdom grey squirrels (*Sciurus carolinensis*), as revealed by phylogenetic analysis of *Bartonella* infecting squirrel populations in England and the United States. *Epidemiology and infection*, 129(03), 647-653.
- Bradbury, C. A., & Lappin, M. R. (2009). Prevention of *Bartonella henselae* transmission from cat fleas (*Ctenocephalides felis*) to cats by topical 10% imidacloprid/1% moxidectin application. *J Am Vet Med Assoc*.
- Bradbury, C.A., & Lappin, M.R. (2010). Evaluation of topical application of 10% imidacloprid–1% moxidectin to prevent *Bartonella henselae* transmission from cat fleas. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 236(8), 869-873.
- Breitschwerdt, E.B., Kordick, D.L., Malarkey, D.E., Keene, B., Hadfield, T.L., & Wilson, K. (1995).

- Endocarditis in a dog due to infection with a novel *Bartonella* subspecies. *Journal of clinical microbiology*, 33(1), 154-160.
- Breitschwerdt, E.B., Atkins, C.E., Brown, T.T., Kordick, D.L., & Snyder, P.S. (1999). *Bartonella vinsonii* subsp. *berkhoffii* and related members of the alpha subdivision of the Proteobacteria in dogs with cardiac arrhythmias, endocarditis, or myocarditis. *Journal of clinical microbiology*, 37(11), 3618-3626.
- Breitschwerdt, E.B., & Kordick, D.L. (2000). *Bartonella* infection in animals: carriership, reservoir potential, pathogenicity, and zoonotic potential for human infection. *Clinical microbiology reviews*, 13(3), 428-438.
- Breitschwerdt, E.B., Sontakke, S., Cannedy, A., Hancock, S.I., & Bradley, J.M. (2001). Infection with *Bartonella weissii* and detection of *Nanobacterium* antigens in a North Carolina beef herd. *Journal of clinical microbiology*, 39(3), 879-882.
- Breitschwerdt, E.B., Blann, K.R., Stebbins, M.E., Muñana, K.R., Davidson, M.G., Jackson, H.A., & Willard, M.D. (2004). Clinicopathological abnormalities and treatment response in 24 dogs seroreactive to *Bartonella vinsonii* (*berkhoffii*) antigens. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 40(2), 92-101.
- Breitschwerdt, E.B., Hegarty, B.C., Maggi, R., Hawkins, E., & Dyer, P. (2005). *Bartonella* species as a potential cause of epistaxis in dogs. *Journal of clinical microbiology*, 43(5), 2529-2533.
- Breitschwerdt, E.B., Maggi, R.G., Sigmon, B., & Nicholson, W.L., (2007). Isolation of *Bartonella quintana* from a woman and a cat following putative bite transmission. *J Clin Microbiol*. 2007;45:270–2.
- Breitschwerdt, E.B. (2007). *Bartonella* species in blood of immunocompetent persons with animal and arthropod contact-Volume 13, Number 6—June-*Emerging Infectious Disease journal-CDC*.
- Breitschwerdt, E.B., Maggi, R.G., Nicholson, W.L., Cherry, N.A., & Woods, C.W. (2008). *Bartonella* sp. bacteremia in patients with neurological and neurocognitive dysfunction. *Journal of clinical microbiology*, 46(9), 2856-2861.
- Breitschwerdt, E.B., Maggi, R.G., Chomel, B.B., & Lappin, M.R. (2010a). Bartonellosis: an emerging infectious disease of zoonotic importance to animals and human beings. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 20(1), 8-30.
- Breitschwerdt, E.B., Maggi, R.G., Mozayeni, B.R., Hegarty, B.C., Bradley, J.M., & Mascarelli, P.E. (2010b). PCR amplification of *Bartonella koehlerae* from human blood and enrichment blood cultures. *Parasites & vectors*, 3(1), 76.
- Breitschwerdt, E.B., Linder, K.L., Day, M.J., Maggi, R.G., Chomel, B.B., & Kempf, V.A.J. (2013). Koch's postulates and the pathogenesis of comparative infectious disease causation associated with *Bartonella* species. *Journal of comparative pathology*, 148(2), 115-125.
- Breitschwerdt, E. (2016). Bartonellosis: One health perspectives on an emerging infectious disease. *Veterinary Dermatology*, 27, 16-17.
- Brenner D.J., O'Connor S.P., Winkler H.J., & Steigerwalt A.G. (1993). Proposals to unify the Genera *Bartonella* and *Rochalimaea*, with descriptions 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 *Richettsiales*. *Int J Syst Bacteriol*, 43 (4):777– 786
- Brenner, D.J., O'Connor, S.P., Hollis, D.G., Weaver, R.E., & Steigerwalt, A.G. (1991). Molecular characterization and proposal of a neotype strain for *Bartonella bacilliformis*. *Journal of clinical microbiology*, 29(7), 1299-1302.
- Brenner, D.J., O'Connor, S.P., Hollis, D.G., Weaver, R.E., & Steigerwalt, A.G. (1991). Molecular characterization and proposal of a neotype strain for *Bartonella bacilliformis*. *Journal of clinical microbiology*, 29(7), 1299-1302.
- Brinkerhoff, R.J., Kabeya, H., Inoue, K., Bai, Y., & Maruyama, S. (2010). Detection of multiple *Bartonella* species in digestive and reproductive tissues of fleas collected from sympatric mammals. *The ISME journal*, 4(7), 955-958.

- Brouqui, P., Lascola, B., Roux, V., & Raoult, D. (1999). Chronic *Bartonella quintana* bacteremia in homeless patients. *N. Engl. J. Med.* 340:184–189.
- Brouqui, P., & Raoult, D. (1996). *Bartonella quintana* invades and multiplies within endothelial cells in vitro and in vivo and forms intracellular blebs. *es. Microbiol.* 147:719–731.
- Brouqui, P., & Raoult, D. (2001). Endocarditis due to rare and fastidious bacteria. *Clin Microbiol Rev.* 14 (1):177–207
- Brouqui, P., & Raoult, D. (2006). Arthropod-Borne Diseases in Homeless. *Annals of the New York academy of sciences*, 1078(1), 223-235.
- Brouqui, P., Lascola, B., Roux, V., & Raoult, D. (1999). Chronic *Bartonella quintana* bacteremia in homeless patients. *New England Journal of Medicine*, 340(3), 184-189.
- Brouqui, P., Stein, A., Dupont, H. T., Gallian, P., Badiaga, S., Rolain, J. M., Mege, J.L., La Scola, B., Berbis, P., & Raoult, D. (2005). Ectoparasitism and vector-borne diseases in 930 homeless people from Marseilles. *Medicine*, 84(1), 61-68.
- Brunetti, E., Fabbi, M., Ferraioli, G., Prati, P., Filice, C., Sassera, D., Della Valle, C., Bandi, C., Vicari, N., & Marone, P. (2013). Cat-scratch disease in Northern Italy: atypical clinical manifestations in humans and prevalence of *Bartonella infection* in cats. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases*, 32(4), 531-534.
- Brunt, J., Guptill, L., Kordick, D.L., Kudrak, S., & Lappin, M.R. (2006). American Association of Feline Practitioners. Panel report on diagnosis, treatment, and prevention of *Bartonella* spp. infections. *Journal of feline medicine and surgery*, 8(4), 213-226.
- Buffet, J. P., Kosoy, M., & Vayssier-Taussat, M. (2013). Natural history of *Bartonella*-infecting rodents in light of new knowledge on genomics, diversity and evolution. *Future microbiology*, 8(9), 1117-1128.
- Byam W, & Lloyd L. (1920). Trench fever: its epidemiology and endemiology. *Proc. R Soc. Med.* 13:1–27.
- Cabassi, C.S., Farnetti, E., Casali, B., Taddei, S., Donofrio, G., Galvani, G., & Cavirani, S. (2002). Isolation of *Bartonella henselae* from domestic cats in an Italian urban area. *The new microbiologica*, 25(2), 253-257.
- Caceres A.G., Galati E.A., Le Pont F., Velasquez C. (1997). Possible role of *Lutzomyia maranonensis* and *Lutzomyia robusta* (Diptera: Psychodidae) as vectors of human bartonellosis in three provinces of region nor Oriental del Maranon, Peru. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo* 39:51–52.
- Cadenas, M.B., Bradley, J., Maggi, R.G., Takara, M., Hegarty, B.C., & Breitschwerdt, E.B. (2008). Molecular characterization of *Bartonella vinsonii* subsp.berkhoffii genotype III. *Journal of clinical microbiology*, 46(5), 1858-1860.
- Canback, B., Andersson, S.G.E., & Kurland, C.G. (2002). The global phylogeny of glycolytic enzymes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(9), 6097-6102.
- Car B.D., Anderson W.I. (1988). Giant cell hepatopathy in three aborted midterm equine fetuses. *Vet Pathol*, 25:389–391.
- Castle, K.T., Kosoy, M., Lerdthusnee, K., Phelan, L., Bai, Y., Gage, K.L., Leepitakrat, W., Monkanna, T., Khlaimanee, N., Chandranoi, K., Coleman, R.E., & Jones, J.W. (2004). Prevalence and diversity of *Bartonella* in rodents of northern Thailand: a comparison with *Bartonella* in rodents from southern China. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 70(4), 429-433.
- Cerimele, F., Brown, L.F., Bravo, F., Ihler, G.M., Kouadio, P., & Arbiser, J.L. (2003). Infectious angiogenesis: *Bartonella bacilliformis* infection results in endothelial production of angiopoietin-2 and epidermal production of vascular endothelial growth factor. *The American journal of pathology*, 163(4), 1321-1327.
- Chang, C.C., Chomel, B.B., Kasten, R.W., Heller, R.M., Ueno, H., Yamamoto, K., Bleich, V.C., Pierce, B.M., Gonzales, B.J., Swift, P.K., Jang, S.S., Boulouis, H.J., Piémont, Y., & Boyce, W. M. (2000). *Bartonella* spp. isolated from wild and domestic ruminants in North America. *Emerging infectious diseases*, 6(3), 306.

- Chang, C.C., Kasten, R.W., Chomel, B.B., Simpson, D.C., Hew, C.M., Kordick, D.L., Heller, R., Piémont, Y., & Breitschwerdt, E.B. (2000). Coyotes (*Canis latrans*) as the Reservoir for a Human Pathogenic *Bartonella* sp.: Molecular Epidemiology of *Bartonella vinsonii* subsp.*berkhoffii* Infection in Coyotes from Central Coastal California. *Journal of clinical microbiology*, 38(11), 4193-4200.
- Chang, C.C., Chomel, B.B., Kasten, R.W., Tappero, J.W., Sanchez, M.A., & Koehler, J.E. (2002). Molecular epidemiology of *Bartonella henselae* infection in human immunodeficiency virus–infected patients and their cat contacts, using pulsed-field gel electrophoresis and genotyping. *Journal of Infectious Diseases*, 186(12), 1733-1739.
- Chang A.A., Zeldovich A., Sachdev N.H., Ly C., Beaumont P. (2005). Papillary vasoproliferative changes in cat scratch disease. *Br J Ophthalmol*, 89 (1):122– 123.
- Chang, C.C., Chen, Y.J., Tseng, C.S., Lai, W.L., Hsu, K.Y., Chang, C.L., Lu, C.C., & Hsu, Y.M. (2011). A comparative study of the interaction of *Bartonella henselae* strains with human endothelial cells. *Veterinary microbiology*, 149(1), 147-156.
- Cherry, N.A., Liebisch, G., Liebisch, A., Breitschwerdt, E.B., Jones, S.L., Ulrich, R., Allmers, E., Wolf, P., & Hewicker-Trautwein, M. (2011). Identification of *Bartonella henselae* in a horse from Germany. *Veterinary microbiology*, 150(3), 414-415.
- Cherry, N.A., Jones, S.L., Maggi, R.G., Davis, J.L., & Breitschwerdt, E.B. (2012). *Bartonella* spp. infection in healthy and sick horses and foals from the southeastern United States. *Journal of veterinary internal medicine*, 26(6), 1408-1412.
- Chian, C.A., Arrese, J.E., & Piérard, G.E. (2002). Skin manifestations of *Bartonella* infections. *International journal of dermatology*, 41(8), 461-466.
- Chomel, B.B., Abbott, R.C., Kasten, R.W., Floyd-Hawkins, K.A., Kass, P.H., Glaser, C. A., Pedersen, N.C., & Koehler, J.E. (1995). *Bartonella henselae* prevalence in domestic cats in California: risk factors and association between bacteremia and antibody titers. *Journal of Clinical Microbiology*, 33(9), 2445-2450.
- Chomel, B.B., Kasten, R.W., Floyd-Hawkins, K., Chi, B., Yamamoto, K., Roberts-Wilson, J., Gurfield A.N., Abbott R.C., Pedersen N.C., & Koehler, J.E. (1996). Experimental transmission of *Bartonella henselae* by the cat flea. *Journal of clinical microbiology*, 34(8), 1952-1956.
- Chomel, B.B., Mac Donald, K A., Kasten, R.W., Chang, C.C., Wey, A.C., Foley, J.E., Thomas, W.P., & Kittleson, M.D. (2001). Aortic valve endocarditis in a dog due to *Bartonella clarridgeiae*. *Journal of clinical microbiology*, 39(10), 3548-3554.
- Chomel, B.B., Boulouis, H.J., Petersen, H., Kasten, R.W., Yamamoto, K., Chang, C.C., Gandoin, C., Bouillin, C., & Hew, C.M. (2002). Prevalence of *Bartonella* infection in domestic cats in Denmark. *Veterinary research*, 33(2), 205-213.
- Chomel B.B., Wey A.C., Kasten R.W. (2003a). Isolation of *Bartonella washoensis* from a Dog with Mitral Valve Endocarditis. *Journal of Clinical Microbiology*. 41(11):5327-5332. doi:10.1128/JCM.41.11.5327-5332.2003.
- Chomel, B.B., Wey, A.C., Kasten, R.W., Stacy, B.A., & Labelle, P. (2003b). Fatal case of endocarditis associated with *Bartonella henselae* type I infection in a domestic cat. *Journal of clinical microbiology*, 41(11), 5337-5339.
- Chomel, B.B., Boulouis, H.J., & Breitschwerdt, E.B. (2004). Cat scratch disease and other zoonotic *Bartonella* infections. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 224(8), 1270-1279.
- Chomel, B.B., Boulouis, H.J., Maruyama, S., & Breitschwerdt, E.B. (2006a). *Bartonella* spp. in pets and effect on human health. *Emerg Infect Dis*, 12(3), 389-94.
- Chomel, B.B., Kasten, R.W., Henn, J.B., & Molia, S. (2006b). *Bartonella* infection in domestic cats and wild felids. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1078(1), 410-415.
- Chomel, B.B., Henn, J.B., Kasten, R.W., Nieto, N.C., Foley, J., Papageorgiou, S., Allen, C., & Koehler, J.E. (2009a). Dogs are more permissive than cats or guinea pigs to experimental infection with a human isolate of *Bartonella rochalimae*. *Veterinary research*, 40(4), 1-8.

- Chomel, B.B., Kasten, R.W., Williams, C., Wey, A.C., Henn, J.B., Maggi, R., Carrasco S., Mazet, J., Boulouis, H.J., Maillard, R., & Breitschwerdt, E.B. (2009b). *Bartonella* endocarditis: a pathology shared by animal reservoirs and patients. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1166(1), 120-126.
- Chomel, B.B., Boulouis, H.J., Breitschwerdt, E.B., Kasten, R.W., Vayssier-Taussat, M., Birtles, R.J., Koehler, J.E., & Dehio, C. (2009c). Ecological fitness and strategies of adaptation of *Bartonella* species to their hosts and vectors. *Veterinary research*, 40(2), 1-22.
- Chomel, B.B., & Kasten, R.W. (2010). Bartonellosis, an increasingly recognized zoonosis. *Journal of Applied Microbiology*, 109(3), 743-750.
- Chomel, B.B., Molia, S., Kasten, R.W., Borgo, G.M., Stuckey, M.J., Maruyama, S., Chang, C.C., Haddad, N., & Koehler, J.E. (2016). Isolation of *Bartonella henselae* and two new *Bartonella* Subspecies, *Bartonella koehlerae* Subspecies *boulouisii* subsp. nov. and *Bartonella koehlerae* subspecies *Bothieri* subsp. Nov. From Free-Ranging Californian mountain lions and Bobcats. *PloS one*, 11(3), e0148299.
- Christie, P.J., Atmakuri, K., Krishnamoorthy, V., Jakubowski, S., & Cascales, E. (2005). Biogenesis, architecture, and function of bacterial type IV secretion systems. *Annu. Rev. Microbiol.*, 59, 451-485.
- Chung J.Y., Kim S.W., Han T.H., Lim S.J. (2005). Detection of *Bartonella henselae* gene sequence in lymph nodes of children with Kikuchi's Disease. *Pediatrics*, 115 (4):1112
- Chung, C.Y., Kasten, R.W., Paff, S.M., Van Horn, B.A., Vayssier-Taussat, M., Boulouis, H.J., & Chomel, B.B. (2004). *Bartonella* spp. DNA associated with biting flies from California. *Emerg Infect Dis*, 10(7), 1311-3.
- Clemente, N.S., Ugarte-Gil, C., Solorzano, N., Maguiña, C., & Moore, D. (2016). An Outbreak of *Bartonella bacilliformis* in an Endemic Andean Community. *PloS one*, 11(3), e0150525.
- Comer, J.A., Diaz, T., Vlahov, D., Monterroso, E., & Childs, J.E. (2001). Evidence of rodent-associated *Bartonella* and *Rickettsia* infections among intravenous drug users from Central and East Harlem, New York City. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 65(6), 855-860.
- Comer, J.A., Flynn, C., Regnery, R.L., Vlahov, D., & Childs, J.E. (1996). Antibodies to *Bartonella* species in inner-city intravenous drug users in Baltimore, Md. *Archives of internal medicine*, 156(21), 2491-2495.
- Comer, J.A., Paddock, C.D., & Childs, J.E. (2001). Urban zoonoses caused by *Bartonella*, *Coxiella*, *Ehrlichia*, and *Rickettsia* species. *Vector Borne and Zoonotic Diseases*, 1(2), 91-118.
- Corrêa, F.G., Pontes, C.L.S., Verzola, R.M.M., Mateos, J.C.P., Velho, P.E.N.F., Schijman, A.G., & Selistre-de-Araujo, H.S. (2012). Association of *Bartonella* spp bacteremia with Chagas cardiomyopathy, endocarditis and arrhythmias in patients from South America. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 45(7), 644-651.
- Cotté, V., Bonnet, S., Le Rhun, D., Le Naour, E., Chauvin, A., Boulouis, H. J., Lecuelle, B., Lilin, T., & Vayssier-Taussat, M. (2008). Transmission of *Bartonella henselae* by *Ixodes ricinus*. *Emerging infectious diseases*, 14(7), 1074.
- Couper K.N., Blount D.G., Riley E.M. (2008). IL-10: The master regulator of immunity to infection. *J Immunol* 180: 5771–5777
- Cross, J.R., Rossmesl, J.H., Maggi, R.G., Breitschwerdt, E.B., & Duncan, R.B. (2008). *Bartonella*-Associated Meningoradiculoneuritis and Dermatitis or Panniculitis in 3 Dogs. *Journal of veterinary internal medicine*, 22(3), 674-678.
- Dalton, M.J., Robinson, L.E., Cooper, J., Regnery, R.L., Olson, J.G., & Childs, J.E. (1995). Use of *Bartonella* antigens for serologic diagnosis of cat-scratch disease at a national referral center. *Archives of internal medicine*, 155(15), 1670-1676.
- Daly, J.S., Worthington, M.G., Brenner, D.J., Moss, C.W., Hollis, D.G., Weyant, R.S., Steigerwalt, A.G., Weaver R.E., Daneshvar, M.I., & O'Connor, S.P. (1993). *Rochalimaea elizabethae* sp. nov. isolated from a patient with endocarditis. *Journal of Clinical Microbiology*, 31(4), 872-881.

- de la Fuente, J., Naranjo, V., Ruiz-Fons, F., Vicente, J., Estrada-Peña, A., Almazán, C., Kokan, K.M., Martín, M.P., & Gortázar, C. (2004). Prevalence of tick-borne pathogens in ixodid ticks (*Acari: Ixodidae*) collected from European wild boar (*Sus scrofa*) and Iberian red deer (*Cervus elaphus hispanicus*) in central Spain. *European Journal of Wildlife Research*, 50(4), 187-196.
- de Paiva Diniz, P.P.V., Wood, M., Maggi, R.G., Sontakke, S., Stepnik, M., & Breitschwerdt, E.B. (2009). Co-isolation of *Bartonella henselae* and *Bartonella vinsonii* subsp. *berkhoffii* from blood, joint and subcutaneous seroma fluids from two naturally infected dogs. *Veterinary microbiology*, 138(3), 368-372.
- Debre, R., Lamy, M., Jammet, M., Costil, L., & Mozzicon, P. (1950). La maladie des griffes de chat. *Bull Mem Soc Med Hop Paris*, 66 :76– 79
- Dehio, C., Meyer, M., Berger, J., Schwarz, H., & Lanz, C. (1997). Interaction of *Bartonella henselae* with endothelial cells results in bacterial aggregation on the cell surface and the subsequent engulfment and internalisation of the bacterial aggregate by a unique structure, the invasome. *Journal of Cell Science*, 110(18), 2141-2154.
- Dehio, C., & Sander, A. (1999). *Bartonella* as emerging pathogens. *Trends in microbiology (Personal ed.)*, 7(6), 226-228.
- Dehio, C., Lanz, C., Pohl, R., Behrens, P., Bermond, D., Piémont, Y., Pelz, K., & Sander, A. (2001). *Bartonella schoenbuchii* sp. nov., isolated from the blood of wild roe deer. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 51(4), 1557-1565.
- Dehio C., Sauder U., Hiestand R. (2004). Isolation of *Bartonella schoenbuchensis* from *Lipoptena cervi*, a blood-sucking arthropod causing deer ked dermatitis. *J. Clin. Microbiol.* 42:5320 – 5323.
- Dehio, C. (2004). Molecular and cellular basis of *Bartonella* pathogenesis. *Annu. Rev. Microbiol.*, 58, 365-390.
- Dehio, C. (2005). *Bartonella*–host-cell interactions and vascular tumour formation. *Nature Reviews Microbiology*, 3(8), 621-631.
- Dehio, C. (2008). Infection-associated type IV secretion systems of *Bartonella* and their diverse roles in host cell interaction. *Cellular microbiology*, 10(8), 1591-1598.
- Deng, H.K., Le Rhun, D., Lecuelle, B., Le Naour, E., & Vayssier-Taussat, M. (2012). Role of the spleen in *Bartonella* spp. infection. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, 64(1), 143-145.
- Diniz, P., Maggi, R.G., Schwartz, D.S., Cadenas, M.B., Bradley, J.M., Hegarty, B., & Breitschwerdt, E.B. (2007). Canine bartonellosis: serological and molecular prevalence in Brazil and evidence of co-infection with *Bartonella henselae* and *Bartonella vinsonii* subsp. *berkhoffii*. *Veterinary research*, 38(5), 697-710.
- Drancourt, M., Birtles, R., Raoult, D., Chaumentin, G., Vandenesch, F., & Etienne, J. (1996). New serotype of *Bartonella henselae* in endocarditis and cat-scratch disease. *The Lancet*, 347(8999), 441-443.
- Drancourt, M., Mainardi, J.L., Brouqui, P., Vandenesch, F., Carta, A., Lehnert, F., Etienne, J., Goldstein, F., Acar, J., & Raoult, D. (1995). *Bartonella (Rochalimaea) quintana* endocarditis in three homeless men. *New England Journal of Medicine*, 332(7), 419-423.
- Droz, S., Chi, B., Horn, E., Steigerwalt, A.G., Whitney, A.M., & Brenner, D.J. (1999). *Bartonella koehlerae* sp. nov., isolated from cats. *Journal of clinical microbiology*, 37(4), 1117-1122.
- Dumler, J.S., Barbet, A.F., Bekker, C.P., Dasch, G.A., Palmer, G.H., Ray, S.C., Rikihisa, Y., & Rurangirwa, F.R. (2001). Reorganization of genera in the families *Rickettsiaceae* and *Anaplasmataceae* in the order *Rickettsiales*: unification of some species of *Ehrlichia* with *Anaplasma*, *Cowdria* with *Ehrlichia* and *Ehrlichia* with *Neorickettsia*, descriptions of six new species combinations and designation of *Ehrlichia equi* and 'HGE agent' as subjective synonyms of *Ehrlichia phagocytophila*. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 51(6), 2145-2165.
- Duncan, A.W. (2007). *Bartonella* DNA in Dog Saliva-Volume 13, Number 12—December 2007-*Emerging Infectious Disease journal-CDC*.

- Duncan, A.W., Maggi, R.G., & Breitschwerdt, E.B. (2007). A combined approach for the enhanced detection and isolation of *Bartonella* species in dog blood samples: pre-enrichment liquid culture followed by PCR and subculture onto agar plates. *Journal of microbiological methods*, 69(2), 273-281.
- Dunn M.W., Berkowitz F.E., Miller J.J., Snitzer J.A. (1997). Hepatosplenic cat-scratch disease and abdominal pain. *Pediatr Infect Dis J*.16 (3):269– 272
- Duponchelle, F., Paradis, E., Ribbink, A.J., & Turner, G.F. (2008). Parallel life history evolution in mouthbrooding cichlids from the African Great Lakes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(40), 15475-15480.
- Durden, L.A., Ellis, B.A., Banks, C.W., Crowe, J.D., & Oliver Jr, J.H. (2004). Ectoparasites of gray squirrels in two different habitats and screening of selected ectoparasites for bartonellae. *Journal of Parasitology*, 90(3), 485-489.
- Ebani, V.V., Cerri, D., & Andreani, E. (2002). Cat scratch disease. Survey on the presence of *Bartonella henselae* among cats of Tuscany. *The new microbiologica*, 25(3), 307-313.
- Ebani, V. V., Bertelloni, F., & Fratini, F. (2012). Occurrence of *Bartonella henselae* types I and II in Central Italian domestic cats. *Research in veterinary science*, 93(1), 63-66.
- Eicher, S.C., & Dehio, C. (2012). *Bartonella* entry mechanisms into mammalian host cells. *Cellular microbiology*, 14(8), 1166-1173.
- Eicher, S.C., & Dehio, C. (2012). *Bartonella* entry mechanisms into mammalian host cells. *Cellular microbiology*, 14(8), 1166-1173.
- Ellis, B.A., Regnery, R.L., Beati, L., Bacellar, F., Rood, M., Glass, G G., Marston, E., Ksiazek, T.G., Jones, D., & Childs, J.E. (1999). Rats of the genus *Rattus* are reservoir hosts for pathogenic *Bartonella* species: an Old World origin for a New World disease?. *Journal of Infectious Diseases*, 180(1), 220-224.
- Engbaek, K., & Lawson, P.A. (2004). Identification of *Bartonella* species in rodents, shrews and cats in Denmark: detection of two *B. henselae* variants, one in cats and the other in the long-tailed field mouse. *Apmis*, 112(6), 336-341.
- Engel, P., Salzburger, W., Liesch, M., Chang, C. C., Maruyama, S., Lanz, C., Calteau, A., Lajus, A., Médique, C., Schuster, S.C., & Dehio, C. (2011). Parallel evolution of a type IV secretion system in radiating lineages of the host-restricted bacterial pathogen *Bartonella*. *PLoS Genet*, 7(2), e1001296.
- Engvall, E.O., Fath, C., Brändström, B., Fermer, C., Blomqvist, G., & Englund, L. (2003). Prevalence of *Bartonella henselae* in young, healthy cats in Sweden. *Veterinary record*, 152(12), 366-369.
- Eremeeva, M.E., Gerns, H.L., Lydy, S.L., Goo, J.S., Ryan, E.T., Mathew, S.S., Ferraro, M.J., Holden, J.M., Nicholson, W.L., Dasch, G.A., & Koehler, J.E. (2007). Bacteremia, fever, and splenomegaly caused by a newly recognized *Bartonella* species. *New England Journal of Medicine*, 356(23), 2381-2387.
- Erol, E., Jackson, C., Bai, Y., Sells, S., Locke, S., & Kosoy, M. (2013). *Bartonella bovis* isolated from a cow with endocarditis. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 25(2), 288-290.
- Eskow, E., Rao, R.V.S., & Mordechai, E. (2001). Concurrent infection of the central nervous system by *Borrelia burgdorferi* and *Bartonella henselae*: evidence for a novel tick-borne disease complex. *Archives of neurology*, 58(9), 1357-1363.
- Fabbi, M., De Giuli, L., Tranquillo, M., Bragoni, R., Casiraghi, M., & Genchi, C. (2004). Prevalence of *Bartonella henselae* in Italian stray cats: evaluation of serology to assess the risk of transmission of *Bartonella* to humans. *Journal of clinical microbiology*, 42(1), 264-268.
- Fenollar, F., Sire, S., & Raoult, D. (2005). *Bartonella vinsonii* subsp.*arupensis* as an agent of blood culture-negative endocarditis in a human. *Journal of clinical microbiology*, 43(2), 945-947.
- Finkelstein, J.L., Brown, T.P., O'reilly, K.L., Wedincamp, J., & Foil, L.D. (2002). Studies on the growth of *Bartonella henselae* in the cat flea (*Siphonaptera: Pulicidae*). *Journal of medical entomology*, 39(6), 915-919.
- Fiskus, W., Padmalayam, I., Kelly, T., Guibao, C., & Baumstark, B.R. (2003). Identification and

- characterization of the DdlB, FtsQ and FtsA genes upstream of FtsZ in *Bartonella bacilliformis* and *Bartonella henselae*. *DNA and cell biology*, 22(11), 743-752.
- Foil, L., Andress, E., Freeland, R.L., Roy, A.F., Rutledge, R., Triche, P.C., & O'Reilly, K.L. (1998). Rapid Communication: Experimental Infection of Domestic Cats with *Bartonella henselae* by Inoculation of *Ctenocephalides felis* (Siphonaptera: Pulicidae) Feces. *Journal of medical entomology*, 35(5), 625-628.
- Fournier, P.E., Lelievre, H., Eykyn, S.J., Mainardi, J.L., Marrie, T.J., Bruneel, F., Roure, C., Nash, J., Clave, D., James, E., Deforges, L., Tissot-dupont, H., Raoult, D., & Benoit-lemercier, C. (2001). Epidemiologic and clinical characteristics of *Bartonella quintana* and *Bartonella henselae* endocarditis: a study of 48 patients. *Medicine*, 80(4), 245-251.
- Fournier P.E., Minnick M.F., Lepidi H., Salvo E., Raoult D. (2001). Experimental model of human body louse infection using green fluorescent protein-expressing *Bartonella quintana*. *Infect. Immun.* 69:1876–1879.
- Fournier P.E., Robson J., Zeaiter Z., McDougall R., Byrne S., Raoult D. (2002). Improved culture from lymph nodes of patients with cat scratch disease and genotypic characterization of *Bartonella henselae* isolates in Australia. *J Clin Microbiol.* 40 (10):3620– 362.
- Frank, A.C., Alsmark, C.M., Thollessen, M., & Andersson, S.G. (2005). Functional divergence and horizontal transfer of type IV secretion systems. *Molecular biology and evolution*, 22(5), 1325-1336.
- Franz, B., & Kempf, V.A. (2011). Adhesion and host cell modulation: critical pathogenicity determinants of *Bartonella henselae*. *Parasites & vectors*, 4(1), 54.
- Gabriel, M.W., Henn, J., Foley, J.E., Brown, R.N., Kasten, R.W., Foley, P., & Chomel, B.B. (2009). Zoonotic *Bartonella* species in fleas collected on gray foxes (*Urocyon cinereoargenteus*). *Vector-borne and zoonotic diseases*, 9(6), 597-602.
- Garcia-Caceres U., & Garcia F.U. (1991) Bartonellosis: an immunodepressive disease and the life of Daniel Alcides Carrion. *J. Clin. Pathol.* 95 (Suppl. 1) S58–S66
- Garcia, F.U., Wojta, J., Broadley, K.N., Davidson, J.M., & Hoover, R.L. (1990). *Bartonella bacilliformis* stimulates endothelial cells in vitro and is angiogenic in vivo. *The American journal of pathology*, 136(5), 1125.
- Gazineo, J.L., Trope, B.M., Maceira, J.P., May, S.B., Coelho, J., Lambert, J.S., & Nogueira, S.A. (2001). *Bacillary angiomatosis*: description of 13 cases reported in five reference centers for AIDS treatment in Rio de Janeiro, Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 43(1), 01-06.
- Gerrikagoitia, X., Gil, H., García-Esteban, C., Anda, P., Juste, R.A., & Barral, M. (2012). Presence of *Bartonella* species in wild carnivores of northern Spain. *Applied and environmental microbiology*, 78(3), 885-888.
- Gillespie J.J., Brayton K.A., Williams K.P., Diaz M.A., Brown W.C., Azad A.F., Sobral B.W. (2010). Phylogenomics reveals a diverse *Rickettsiales* type IV secretion system. *Infect Immun* 78:1809–1823.
- Gillespie, J.J., Phan, I.Q., Driscoll, T.P., Guillotte, M.L., Lehman, S.S., Rennoll-Bankert, K.E., Subramanian, S., Beier-sexton, M., Myler, P.J., Rahman, M.S., & Azad, A.F. (2016). The *Rickettsia* type IV secretion system: unrealized complexity mired by gene family expansion. *Pathogens and Disease*, 74(6), ftw058.
- Gillespie, T.N., Washabau, R.J., Goldschmidt, M.H., Cullen, J.M., Rogala, A.R., & Breitschwerdt, E.B. (2003). Detection of *Bartonella henselae* and *Bartonella clarridgeiae* DNA in hepatic specimens from two dogs with hepatic disease. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 222(1), 47-51.
- Gomes, C., Martinez-Puchol, S., Pons, M.J., Bazán, J., Tinco, C., del Valle, J., & Ruiz, J. (2016). Evaluation of PCR approaches for detection of *Bartonella bacilliformis* in blood samples. *PLoS Negl Trop Dis*, 10(3), e0004529.
- Goodman, R.A., & Breitschwerdt, E.B. (2005). Clinicopathologic findings in dogs seroreactive to *Bartonella henselae* antigens. *American journal of veterinary research*, 66(12), 2060-2064.

- Gouriet, F., Fenollar, F., Patrice, J.Y., Drancourt, M., & Raoult, D. (2005). Use of shell-vial cell culture assay for isolation of bacteria from clinical specimens: 13 years of experience. *Journal of clinical microbiology*, 43(10), 4993-5002.
- Greub, G., & Raoult, D. (2002). *Bartonella*: new explanations for old diseases. *Journal of medical microbiology*, 51(11), 915-923.
- Gundi, V.A. (2004). *Bartonella clarridgeiae* and *B. henselae* in Dogs, Gabon-Volume 10, Number 12—December 2004-*Emerging Infectious Disease journal-CDC*.
- Guptill, L., Slater, L., Wu, C.C., Lin, T.L., Glickman, L.T., Welch, D.F., & HogenEsch, H. (1997). Experimental infection of young specific pathogen-free cats with *Bartonella henselae*. *Journal of Infectious Diseases*, 176(1), 206-216.
- Guptill, L., Slater, L.N., Wu, C.C., Lin, T.L., Glickman, L.T., Welch, D.F., Tobolski, J., & HogenEsch, H. (1998). Evidence of reproductive failure and lack of perinatal transmission of *Bartonella henselae* in experimentally infected cats. *Veterinary immunology and immunopathology*, 65(2), 177-189.
- Guptill, L., Slater, L., Wu, C.C., Glickman, L.T., Lin, T.L., Welch, D.F., Crippen, J.T., & HogenEsch, H. (1999). Immune response of neonatal specific pathogen-free cats to experimental infection with *Bartonella henselae*. *Veterinary immunology and immunopathology*, 71(3), 233-243.
- Guptill, L. (2003). Bartonellosis. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 33(4), 809-825.
- Guptill, L., Wu, C.C., HogenEsch, H., Slater, L.N., Glickman, N., Dunham, A., Syme, H., & Glickman, L. (2004). Prevalence, risk factors, and genetic diversity of *Bartonella henselae* infections in pet cats in four regions of the United States. *Journal of clinical microbiology*, 42(2), 652-659.
- Guptill, L. (2010). Bartonellosis. *Veterinary microbiology*, 140(3), 347-359.
- Gurfield, A.N., Boulouis, H.J., Chomel, B.B., Kasten, R.W., Heller, R., Bouillin, C., Gandoin C., Thibault, D., Chang, C.C., Barrat, F., & Piemont, Y. (2001). Epidemiology of *Bartonella* infection in domestic cats in France. *Veterinary microbiology*, 80(2), 185-198.
- Gutiérrez, R., Krasnov, B., Morick, D., Gottlieb, Y., Khokhlova, I.S., & Harrus, S. (2015). *Bartonella* infection in rodents and their flea ectoparasites: an overview. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 15(1), 27-39.
- Guy, L., Nystedt, B., Toft, C., Zaremba-Niedzwiedzka, K., Berglund, E.C., Granberg, F., Naslund, K., Eriksson, A.S., & Andersson, S.G. (2013). A gene transfer agent and a dynamic repertoire of secretion systems hold the keys to the explosive radiation of the emerging pathogen *Bartonella*. *PLoS Genet*, 9(3), e1003393.
- Halos, L., Jamal, T., Maillard, R., Beugnet, F., Le Menach, A., Boulouis, H.J., & Vayssier-Taussat, M. (2005). Evidence of *Bartonella* sp. in questing adult and nymphal *Ixodes ricinus* ticks from France and co-infection with *Borrelia burgdorferi* sensu lato and *Babesia* sp. *Veterinary research*, 36(1), 79-87.
- Halos, L., Jamal, T., Maillard, R., Girard, B., Guillot, J., Chomel, B., Vayssier-Taussat, M., & Boulouis, H.J. (2004). Role of *Hippoboscidae* flies as potential vectors of *Bartonella* spp. infecting wild and domestic ruminants. *Applied and environmental microbiology*, 70(10), 6302-6305.
- Harms, A., & Dehio, C. (2012). Intruders below the radar: molecular pathogenesis of *Bartonella* spp. *Clinical microbiology reviews*, 25(1), 42-78.
- Harrison A., Bown K.J., Montgomery W.I., Birtles R.J. (2012). *Ixodes ricinus* is not an epidemiologically relevant vector of *Bartonella* species in the wood mouse (*Apodemus sylvaticus*). *Vector Borne Zoonotic Dis*, 12:366–371.
- Heller, R., Artois, M., Xemar, V., De Briel, D., Gehin, H., Jaulhac, B., Monteil H., & Piemont, Y. (1997). Prevalence of *Bartonella henselae* and *Bartonella clarridgeiae* in stray cats. *Journal of Clinical Microbiology*, 35(6), 1327-1331.
- Heller, R., Riegel, P., Hansmann, Y., Delacour, G., Bermond, D., Dehio, C., Lamarque, F., Monteil, H., Chomel, B., & Piémont, Y. (1998). *Bartonella tribocorum* sp. nov., a new *Bartonella*

- species isolated from the blood of wild rats. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 48(4), 1333-1339.
- Henn, J.B., Gabriel, M.W., Kasten, R.W., Brown, R.N., Koehler, J.E., MacDonald, K.A., Kittleson, M.D., Thomas, W.P., & Chomel, B.B. (2009). Infective endocarditis in a dog and the phylogenetic relationship of the associated “*Bartonella rochalimae*” strain with isolates from dogs, gray foxes, and a human. *Journal of clinical microbiology*, 47(3), 787-790.
- Henn, J.B., Gabriel, M.W., Kasten, R.W., Brown, R.N., Theis, J.H., Foley, J.E., & Chomel, B.B. (2007). Gray foxes (*Urocyon cinereoargenteus*) as a potential reservoir of a *Bartonella clarridgeiae*-like bacterium and domestic dogs as part of a sentinel system for surveillance of zoonotic arthropod-borne pathogens in northern California. *Journal of clinical microbiology*, 45(8), 2411-2418.
- Henn, J.B., Liu, C.H., Kasten, R.W., VanHorn, B.A., Beckett, L.A., Kass, P.H., & Chomel, B.B. (2005). Seroprevalence of antibodies against *Bartonella* species and evaluation of risk factors and clinical signs associated with seropositivity in dogs. *American journal of veterinary research*, 66(4), 688-694.
- Hercik, K., Hášová, V., Janeček, J., & Branny, P. (2007). Molecular evidence of *Bartonella* DNA in ixodid ticks in Czechia. *Folia microbiologica*, 52(5), 503-509.
- Hertig, M. (1942). *Phlebotomus* and Carrion's Disease I. Introduction. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 1(4 Suppl), 2-10.
- Higgins, J.A., Radulovic, S., Jaworski, D.C., & Azad, A.F. (1996). Acquisition of the cat scratch disease agent *Bartonella henselae* by cat fleas (*Siphonaptera: Pulicidae*). *Journal of medical entomology*, 33(3), 490-495.
- Hill, E.M., Raji, A., Valenzuela, M.S., Garcia, F., & Hoover, R. (1992). Adhesion to and invasion of cultured human cells by *Bartonella bacilliformis*. *Infection and immunity*, 60(10), 4051-4058.
- Hofmeister, E.K., Kolbert, C.P., Abdulkarim, A.S., Magera, J.M.H., Hopkins, M.K., Uhl, J.R., Ambyaye, A., Telford, S.R., Cockerill, F.R., & Persing, D.H. (1998). Cosegregation of a novel *Bartonella* species with *Borrelia burgdorferi* and *Babesia microti* in *Peromyscus leucopus*. *Journal of Infectious Diseases*, 177(2), 409-416.
- Holden, K., Boothby, J.T., Kasten, R.W., & Chomel, B.B. (2006). Co-detection of *Bartonella henselae*, *Borrelia burgdorferi*, and *Anaplasma phagocytophilum* in *Ixodes pacificus* ticks from California, USA. *Vector-Borne & Zoonotic Diseases*, 6(1), 99-102.
- Holmberg, M., Mills, J.N., McGill, S., Benjamin, G., & Ellis, B.A. (2003). *Bartonella* infection in sylvatic small mammals of central Sweden. *Epidemiology and infection*, 130(01), 149-157.
- Houpikian, P., & Raoult, D. (2005). Blood culture-negative endocarditis in a reference center: etiologic diagnosis of 348 cases. *Medicine*, 84(3), 162-173.
- Hsieh, J.W., Tung, K.C., Chen, W.C., Lin, J.W., Chien, L.J., Hsu, Y.M., Wang, H.C., Chomel, B.B., & Chang, C.C. (2010). Epidemiology of *Bartonella* infection in rodents and shrews in Taiwan. *Zoonoses and public health*, 57(6), 439-446.
- Huang, R. (2011). *Bartonella quintana* Infections in Captive Monkeys, China-Volume 17, Number 9—September 2011-*Emerging Infectious Disease journal-CDC*.
- Huarcaya, E., Maguiña, C., Torres, R., Rupay, J., & Fuentes, L. (2004). Bartonellosis (Carrion's Disease) in the pediatric population of Peru: an overview and update. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 8(5), 331-339.
- Ihler, G. M. (1996). *Bartonella bacilliformis*: dangerous pathogen slowly emerging from deep background. *FEMS Microbiology Letters*, 144(1), 1-11.
- Infante, B., Villar, S., Palma, S., Merello, J., Valencia, R., Torres, L., Cok, J., Ventosilla, P., Maquina, C., Guerra, H., & Henriquez, C. (2008). BALB/c Mice resist infection with *Bartonella bacilliformis*. *BMC research notes*, 1(1), 103.
- Inoue, K., Maruyama, S., Kabeya, H., Yamada, N., Ohashi, N., Sato, Y., Yukawa M, Masuzawa T, Kawamori F, Kadosaka T, Fujita H, & Takada, N. (2008). Prevalence and genetic diversity of *Bartonella* species isolated from wild rodents in Japan. *Applied and environmental Microbiology*, 74(16), 5086-5092.

- Iredell, J., McHattan, J., Kyme, P., Dillon, B., & Blanckenberg, D. (2002). Antigenic and genotypic relationships between *Bartonella henselae* strains. *Journal of clinical microbiology*, 40(11), 4397-4398.
- Ishida, C., Tsuneoka, H., Iino, H., Murakami, K., Inokuma, H., Ohnishi, T., & Tsukahara, M. (2001). [*Bartonella henselae* infection in domestic cat and dog fleas]. *Kansenshogaku zasshi. The Journal of the Japanese Association for Infectious Diseases*, 75(2), 133-136.
- Ives, T.J., Marston, E.F., Regnery, R.L., Butts, J.D., Kebede, M., & Majerus, T.C. (1997). In vitro susceptibilities of *Rickettsia akari*, *R. conorii*, *R. prowazekii*, *R. rickettsii*, *Bartonella elizabethae*, *B. henselae*, and *B. quintana* to 14-hydroxycyclarithmeticin as determined by immunofluorescent antibody analysis of infected vero cell monolayers. *Pharmacotherapy, The Journal Of Human Pharmacology And Drug Therapy*, 17(5), 1095-1096.
- Ives, T.J., Manzewitsch, P., Regnery, R.L., Butts, J.D., & Kebede, M. (1997a). In vitro susceptibilities of *Bartonella henselae*, *B. quintana*, *B. elizabethae*, *Rickettsia rickettsii*, *R. conorii*, *R. akari*, and *R. prowazekii* to macrolide antibiotics as determined by immunofluorescent-antibody analysis of infected Vero cell monolayers. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 41(3), 578-582.
- Iwaki-Egawa, S., & Ihler, G.M. (1997). Comparison of the abilities of proteins from *Bartonella bacilliformis* and *Bartonella henselae* to deform red cell membranes and to bind to red cell ghost proteins. *FEMS microbiology letters*, 157(1), 207-217.
- Jackson, L.A., Spaeh, D.H., Kippen, D.A., Sugg, N.K., Regnery, R.L., Sayers, M.H., & Stamm, W.E. (1996). Seroprevalence to *Bartonella quintana* among patients at a community clinic in downtown Seattle. *Journal of Infectious Diseases*, 173(4), 1023-1026.
- Janecek, E. (2012). *Bartonella* spp. Infection Rate and *B. grahamii* in Ticks-Volume 18, Number 10—October 2012-*Emerging Infectious Disease journal-CDC*.
- Jardine, C., Appleyard, G., Kosoy, M.Y., McColl, D., Chirino-Trejo, M., Wobeser, G., & Leighton, F.A. (2005). Rodent-associated *Bartonella* in Saskatchewan, Canada. *Vector-Borne & Zoonotic Diseases*, 5(4), 402-409.
- Jeanclaude, D., Godmer, P., Leveiller, D., Pouedras, P., Fournier, P.E., Raoult, D., & Rolain, J.M. (2009). *Bartonella alsatica* endocarditis in a French patient in close contact with rabbits. *Clinical Microbiology and Infection*, 15(s2), 110-111.
- Johnson, R., Ramos-Vara, J., Vemulapalli, R., 2009. Identification of *Bartonella henselae* in an aborted equine fetus. *Vet. Pathol.* 46 (2), 277–281.
- Jones S.L., Maggi R., Shuler J., Alward A., Breitschwerdt E.B. (2008). Detection of *Bartonella henselae* in the blood of 2 adult horses. *J Vet Intern Med* 22:495– 498.
- Kabeya, H., Inoue, K., Izumi, Y., Morita, T., Imai, S., & Maruyama, S. (2011). *Bartonella* species in wild rodents and fleas from them in Japan. *Journal of Veterinary Medical Science*, 73(12), 1561-1567.
- Kaiser P.O., Riess T., O'Rourke F., Linke D., Kempf V.A.J. (2011). *Bartonella* spp.: throwing light on uncommon human infections. *Int J Med Microbiol.* 301:7–15.
- Kaiser, P.O., Riess, T., Wagner, C.L., Linke, D., Lupas, A.N., Schwarz, H., Raddatz, G., Schafer, A., & Kempf, V.A. (2008). The head of *Bartonella* adhesin A is crucial for host cell interaction of *Bartonella henselae*. *Cellular microbiology*, 10(11), 2223-2234.
- Karem, K.L. (2000). Immune aspects of *Bartonella*. *Critical reviews in microbiology*, 26(3), 133-145.
- Karem, K.L., Dubois, K.A., McGill, S.L., & Regnery, R.L. (1999). Characterization of *Bartonella henselae*-specific immunity in BALB/c mice. *Immunology*, 97(2), 352-358.
- Karem, K.L., Paddock, C.D., & Regnery, R.L. (2000). *Bartonella henselae*, *B. quintana*, and *B. bacilliformis*: historical pathogens of emerging significance. *Microbes and Infection*, 2(10), 1193-1205.
- Kelly, P. (2006). *Bartonella quintana* Endocarditis in Dogs-Volume 12, Number 12—December 2006-*Emerging Infectious Disease journal-CDC*.
- Kempf, V.A.J., Schaller, M., Behrendt, S., Volkmann, B., Aepfelbacher, M., Cakman, I., & Autenrieth, I.B. (2000). Interaction of *Bartonella henselae* with endothelial cells results in rapid bacterial

- rRNA synthesis and replication. *Cellular microbiology*, 2(5), 431-441.
- Kempf, V.A., Hitziger, N., Riess, T., & Autenrieth, I.B. (2002). Do plant and human pathogens have a common pathogenicity strategy?. *TRENDS in Microbiology*, 10(6), 269-275.
- Kempf, V.A., Schairer, A., Neumann, D., Grassl, G.A., Lauber, K., Lebidziejewski, M., Schaller, M., Kyme, P., Wesselborg, S., & Autenrieth, I.B. (2005). *Bartonella henselae* inhibits apoptosis in Mono Mac 6 cells. *Cellular microbiology*, 7(1), 91-104.
- Kempf, V.A., Volkmann, B., Schaller, M., Sander, C.A., Alitalo, K., Rieß, T., & Autenrieth, I.B. (2001). Evidence of a leading role for VEGF in *Bartonella henselae*-induced endothelial cell proliferations. *Cellular microbiology*, 3(9), 623-632.
- Kim, B.J., Kim, S.J., Kang, J.G., Ko, S., Won, S., Kim, H., Chong, S.T., Klein, T.A., Chae, J.S., & Lee, S. (2013). First report for the seasonal and annual prevalence of flea-borne *Bartonella* from rodents and soricomorphs in the Republic of Korea. *Vector-borne and Zoonotic Diseases*, 13(7), 457-467.
- Kim, C., Kim, J., Yi, Y., Lee, M., Cho, M.R., Shah, D.H., Chong, S.T., Klein, T.A., Chae, J.S., & O'Guinn, M.L. (2005). Detection of *Bartonella* species from ticks, mites and small mammals in Korea. *Journal of veterinary science*, 6(4), 327.
- Kitchell, B.E., Fan, T.M., Kordick, D., Breitschwerdt, E.B., Wollenberg, G., & Lichtensteiger, C.A. (2000). Peliosis hepatis in a dog infected with *Bartonella henselae*. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 216(4), 519-523.
- Klein, J.L., Nair, S.K., Harrison, T.G., Hunt, I., Fry, N.K., & Friedland, J.S. (2002). Prosthetic valve endocarditis caused by *Bartonella quintana*. (Dispatches). *Emerging infectious diseases*, 8(2), 202-204.
- Koehler J.E., Cederberg L. (1995). Intra-abdominal mass associated with gastrointestinal hemorrhage: a new manifestation of bacillary angiomatosis. *Gastroenterology*. 109 (6):2011– 2014
- Koehler, J.E., Quinn, F.D., Berger, T.G., LeBoit, P.E., & Tappero, J.W. (1992). Isolation of *Rochalimaea* species from cutaneous and osseous lesions of bacillary angiomatosis. *New England Journal of Medicine*, 327(23), 1625-1631.
- Koehler, J.E., Sanchez, M.A., Garrido, C.S., Whitfeld, M.J., Chen, F.M., Berger, T.G., Rodriguez-Barradas, M.C., LeBoit, P.E., & Tappero, J.W. (1997). Molecular epidemiology of *Bartonella* infections in patients with bacillary angiomatosis–peliosis. *New England Journal of Medicine*, 337(26), 1876-1883.
- Koesling J., Aebischer T., Falch C., Schulein R., Dehio C. (2001). Antibody-mediated cessation of hemotropic infection by the intraerythrocytic mouse pathogen *Bartonella grahamii*. *J. Immunol.* 167:11–14.
- Koesling, J., Aebischer, T., Falch, C., Schülein, R., & Dehio, C. (2001). Cutting edge: antibody-mediated cessation of hemotropic infection by the intraerythrocytic mouse pathogen *Bartonella grahamii*. *The Journal of Immunology*, 167(1), 11-14.
- Kordick D.L., Brown T.T., Shin K., Breitschwerdt E.B. (1999). Clinical and pathologic evaluation of chronic *Bartonella henselae* or *Bartonella clarridgeiae* infection in cats. *J Clin Microbiol*, 37:1536–47.
- Kordick, D. L., & Breitschwerdt, E. B. (1995). Intraerythrocytic presence of *Bartonella henselae*. *Journal of Clinical Microbiology*, 33(6), 1655-1656.
- Kordick, D.L., & Breitschwerdt, E.B. (1997). Relapsing bacteremia after blood transmission of *Bartonella henselae* to cats. *American journal of veterinary research*, 58(5), 492-497.
- Kosoy, M.Y., Regnery, R.L., Tzianabos, T., Marston, E.L., Jones, D.C., Green, D., Maupin, G.O., Olson, J.G., & Childs, J.E. (1997). Distribution, diversity, and host specificity of *Bartonella* in rodents from the southeastern United States. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 57(5), 578-588.
- Kosoy, M.Y., Saito, E.K., Green, D., Marston, E.L., Jones, D.C., & Childs, J.E. (2000). Experimental evidence of host specificity of *Bartonella* infection in rodents. *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases*, 23(4), 221-238.
- Kosoy, M., Hayman, D.T., & Chan, K.S. (2012). *Bartonella* bacteria in nature: where does population

- variability end and a species start? *Infection, Genetics and Evolution*, 12(5), 894-904.
- Kosoy, M., Murray, M., Gilmore Jr, R.D., Bai, Y., & Gage, K.L. (2003). *Bartonella* strains from ground squirrels are identical to *Bartonella washoensis* isolated from a human patient. *Journal of clinical microbiology*, 41(2), 645-650.
- Kostrzewski, J. (1949). The epidemiology of trench fever. *Bull. Internat. Acad. Polonaise des Sci. et des Lettres.*, (7/10), 233-263.
- Krasnov, B.R., Morand, S., Hawlena, H., Khokhlova, I.S., & Shenbrot, G.I. (2005). Sex-biased parasitism, seasonality and sexual size dimorphism in desert rodents. *Oecologia*, 146(2), 209-217.
- Kronforst, M.R., Kapan, D.D., & Gilbert, L.E. (2006). Parallel genetic architecture of parallel adaptive radiations in mimetic *Heliconius* butterflies. *Genetics*, 174(1), 535-539.
- Ku, J.C., Ross, M.B., Schatz, G.C., & Mirkin, C.A. (2015). Conformal, Macroscopic Crystalline Nanoparticle Sheets Assembled with DNA. *Advanced Materials*, 27(20), 3159-3163.
- Kumsa, B., Parola, P., Raoult, D., & Socolovschi, C. (2014). *Bartonella melophagi* in *Melophagus ovinus* (sheep ked) collected from sheep in northern Oromia, Ethiopia. *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases*, 37(1), 69-76.
- Kyme, P.A., Haas, A., Schaller, M., Peschel, A., Iredell, J., & Kempf, V.A. (2005). Unusual trafficking pattern of *Bartonella henselae*-containing vacuoles in macrophages and endothelial cells. *Cellular microbiology*, 7(7), 1019-1034.
- La Scola, B., Liang, Z., Zeaiter, Z., Houpiqian, P., Grimont, P.A., & Raoult, D. (2002). Genotypic characteristics of two serotypes of *Bartonella henselae*. *Journal of clinical microbiology*, 40(6).
- La Scola, B., Zeaiter, Z., Khamis, A., & Raoult, D. (2003). Gene-sequence-based criteria for species definition in bacteriology: the *Bartonella* paradigm. *Trends in microbiology*, 11(7), 318-321.
- La, V.D., Tran-Hung, L., Aboudharam, G., Raoult, D., & Drancourt, M. (2005). *Bartonella quintana* in domestic cat. *Emerging infectious diseases*, 11(8), 1287.
- Lamps, Laura W., and Margie A. Scott. "Cat-scratch disease: historic, clinical, and pathologic perspectives." *American journal of clinical pathology*, 121 (2004): S71-80.
- Lantos, P.M., Maggi, R.G., Ferguson, B., Varkey, J., Park, L.P., Breitschwerdt, E.B., & Woods, C.W. (2014). Detection of *Bartonella* species in the blood of veterinarians and veterinary technicians: a newly recognized occupational hazard?. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 14(8), 563-570.
- Lappin M.R., Davis W.L., Hawley J.R., Brewer M., Morris A., Stanneck D. (2013). A flea and tick collar containing 10 % imidacloprid and 4.5 % flumethrin prevents flea transmission of *Bartonella henselae* in cats. *Parasit Vectors*. 2013;6:26.
- Lappin, M.R., & Hawley, J. (2009). 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*, 20(5-6), 509-514.
- Leibovitz, K., Pearce, L., Brewer, M., & Lappin, M.R. (2008). *Bartonella* species antibodies and DNA in cerebral spinal fluid of cats with central nervous system disease. *Journal of feline medicine and surgery*, 10(4), 332-337.
- Lepidi, H., Coulibaly, B., Casalta, J.P., & Raoult, D. (2006). Autoimmunohistochemistry: a new method for the histologic diagnosis of infective endocarditis. *Journal of Infectious Diseases*, 193(12), 1711-1717.
- Lepidi, H., Fournier, P.E., & Raoult, D. (2000). Quantitative analysis of valvular lesions during *Bartonella* endocarditis. *American journal of clinical pathology*, 114(6), 880-889.
- Li, D.M., Yu, D.Z., Liu, Q.Y., & Gong, Z.D. (2004). Study on the prevalence of *Bartonella* species in rodent hosts from different environmental areas in Yunnan. *Zhonghua liu xing bing xue za zhi= Zhonghua liuxingbingxue zazhi*, 25(11), 934-937.
- Li, W., Raoult, D., & Fournier, P. E. (2007). Genetic diversity of *Bartonella henselae* in human infection detected with multispacer typing. *Emerging infectious diseases*, 13(8), 1178.
- Lin, J.W., Hsu, Y.M., Chomel, B.B., Lin, L.K., Pei, J.C., Wu, S.H., & Chang, C.C. (2012).

- Identification of novel *Bartonella* spp. in bats and evidence of Asian gray shrew as a new potential reservoir of *Bartonella*. *Veterinary microbiology*, 156(1), 119-126.
- Linke, D., Riess, T., Autenrieth, I.B., Lupas, A., & Kempf, V.A. (2006). Trimeric autotransporter adhesins: variable structure, common function. *Trends in microbiology*, 14(6), 264-270.
- Lucey, D., Dolan, M.J., Moss, C.W., Garcia, M., Hollis, D.G., Wegner, S., Morgan, G., Almeida, R., Leong, D., Greisen K.S., & Welch, D.F. (1992). Relapsing illness due to *Rochalimaea henselae* in immunocompetent hosts: implication for therapy and new epidemiological associations. *Clinical Infectious Diseases*, 14(3), 683-688.
- Lynch, T., Iverson, J., & Kosoy, M. (2011). Combining culture techniques for *Bartonella*: the best of both worlds. *Journal of clinical microbiology*, 49(4), 1363-1368.
- MacDonald, K.A., Chomel, B.B., Kittleson, M.D., Kasten, R.W., Thomas, W.P., & Pesavento, P. (2004). A prospective study of canine infective endocarditis in northern California (1999–2001): emergence of *Bartonella* as a prevalent etiologic agent. *Journal of veterinary internal medicine*, 18(1), 56-64.
- MacKichan, J.K., Gerns, H.L., Chen, Y.T., Zhang, P., & Koehler, J.E. (2008). A SacB mutagenesis strategy reveals that the *Bartonella quintana* variably expressed outer membrane proteins are required for bloodstream infection of the host. *Infection and immunity*, 76(2), 788-795.
- Maco, V., Maguiña, C., Tirado, A., Maco, C., & Vidal, J.E. (2004). Carrion's disease (*Bartonellosis bacilliformis*) confirmed by histopathology in the High Forest of Peru. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 46(3), 171-174.
- Maggi, R.G. (2009). Isolation of Candidatus *Bartonella melophagi* from Human Blood1-Volume 15, Number 1—January 2009-*Emerging Infectious Disease journal-CDC*.
- Maggi, R.G., Chomel, B., Hegarty, B.C., Henn, J., & Breitschwerdt, E.B. (2006). A *Bartonella vinsonii* subsp. *berkhoffii* typing scheme based upon 16S–23S ITS and Pap31 sequences from dog, coyote, gray fox, and human isolates. *Molecular and cellular probes*, 20(2), 128-134.
- Maggi, R.G., Duncan, A.W., & Breitschwerdt, E.B. (2005). Novel chemically modified liquid medium that will support the growth of seven *Bartonella* species. *Journal of clinical microbiology*, 43(6), 2651-2655.
- Maggi, R.G., Ericson, M., Mascarelli, P.E., Bradley, J.M., & Breitschwerdt, E.B. (2013). *Bartonella henselae* bacteremia in a mother and son potentially associated with tick exposure. *Parasites & vectors*, 6(1), 1.
- Maggi, R.G., Mascarelli, P.E., Pultorak, E.L., Hegarty, B.C., Bradley, J.M., Mozayeni, B.R., & Breitschwerdt, E.B. (2011). *Bartonella* spp. bacteremia in high-risk immunocompetent patients. *Diagnostic microbiology and infectious disease*, 71(4), 430-437.
- Maggi, R.G., Raverty, S.A., Lester, S.J., Huff, D.G., Haulena, M., Ford, S.L., Nielsen, O., Robinson, J.H., & Breitschwerdt, E.B. (2008). *Bartonella henselae* in captive and hunter-harvested beluga (*Delphinapterus leucas*). *Journal of wildlife diseases*, 44(4), 871-877.
- Maguiña, C., & Gotuzzo, E. (2000). Bartonellosis: new and old. *Infectious disease clinics of North America*, 14(1), 1-22.
- Maillard, R. (2007). Endocarditis in Cattle Caused by *Bartonella bovis*-Volume 13, Number 9—September 2007-*Emerging Infectious Disease journal-CDC*.
- Maillard, R., Grimard, B., Chastant-Maillard, S., Chomel, B., Delcroix, T., Gandoin, C., Bouillin, C., Halos, L., Vayssier-Taussat, M., & Boulouis, H.J. (2006). Effects of cow age and pregnancy on *Bartonella* infection in a herd of dairy cattle. *Journal of clinical microbiology*, 44(1), 42-46.
- Mändle, T., Einsele, H., Schaller, M., Neumann, D., Vogel, W., Autenrieth, I.B., & Kempf, V.A. (2005). Infection of human CD34+ progenitor cells with *Bartonella henselae* results in intraerythrocytic presence of *B. henselae*. *Blood*, 106(4), 1215-1222.
- Mansueto, P., Pepe, I., Cillari, E., Arcoleo, F., Micalizzi, A., Bonura, F., Seidita, A., Palillo, L., Di Gregorio, M.F., Affronti, M., Rini, G., Vitale, G., & Di Rosa, S. (2012). Prevalence of antibodies anti-*Bartonella henselae* in western Sicily: children, blood donors, and cats. *Journal of Immunoassay and Immunochemistry*, 33(1), 18-25.

- Margileth, A.M. (2000). Recent advances in diagnosis and treatment of cat scratch disease. *Current Infectious Disease Reports*, 2(2), 141-146.
- Marignac, G., Barrat, F., Chomel, B., Vayssier-Taussat, M., Gandoin, C., Bouillin, C., & Boulouis, H.J. (2010). Murine model for *Bartonella birtlesii* infection: New aspects. *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases*, 33(2), 95-107.
- Marston, E.L., Sumner, J.W., & Regnery, R.L. (1999). Evaluation of intraspecies genetic variation within the 60 kDa heat-shock protein gene (groEL) of *Bartonella* species. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 49(3), 1015-1023.
- Maruyama, S., Izumikawa, K., Miyashita, M., Kabeya, H., Mikami, T., Yamanouchi, H., Sasaki, E., Yoshida, H., & Izumikawa, K. (2004). First Isolation of *Bartonella henselae* Type I from a Cat-Scratch Disease Patient in Japan and Its Molecular Analysis. *Microbiology and immunology*, 48(2), 103-109.
- Maruyama, S., Kabeya, H., Nakao, R., Tanaka, S., Sakai, T., Xuan, X., Katsube, Y., & Mikami, T. (2003). Seroprevalence of *Bartonella henselae*, *Toxoplasma gondii*, FIV and FeLV infections in domestic cats in Japan. *Microbiology and immunology*, 47(2), 147-153.
- Maruyama, S., Nakamura, Y., Kabeya, H., Tanaka, S., Sakai, T., & Katsube, Y. (2000). Prevalence of *Bartonella henselae*, *Bartonella clarridgeiae* and the 16S rRNA gene types of *Bartonella henselae* among pet cats in Japan. *Journal of Veterinary Medical Science*, 62(3), 273-279.
- Mascarelli, P.E., Iredell, J.R., Maggi, R.G., Weinberg, G., & Breitschwerdt, E.B. (2011). *Bartonella* species bacteremia in two patients with epithelioid hemangioendothelioma. *Journal of clinical microbiology*, 49(11), 4006-4012.
- Massei F., Gori L., Macchia P., Maggiore G. (2005). The expanded spectrum of bartonellosis in children. *Infect Dis Clin North Am.*, 19 (3):691– 711
- Massei F., Massimetti M., Messina F., Macchia P., Maggiore G. (2000a). *Bartonella henselae* and inflammatory bowel disease. *Lancet*. 356 (9237):1245– 1246.
- Massei, F., Messina, F., Talini, I., Massimetti, M., Palla, G., Macchia, P., & Maggiore, G. (2000b). Widening of the clinical spectrum of *Bartonella henselae* infection as recognized through serodiagnostics. *European journal of pediatrics*, 159(6), 416-419.
- Massei, F., Messina, F., Gori, L., Macchia, P., & Maggiore, G. (2004). High prevalence of antibodies to *Bartonella henselae* among Italian children without evidence of cat scratch disease. *Clinical infectious diseases*, 38(1), 145-148.
- Matsumoto K., Berrada Z.L., Klinger E., Goethert H.K., Telford S.R., III. (2008). Molecular detection of *Bartonella schoenbuchensis* from ectoparasites of deer in Massachusetts. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 8:549 –554.
- Matsumoto, K., Cook, J.A., Goethert, H.K., & Telford III, S.R. (2010). *Bartonella* sp. infection of voles trapped from an interior Alaskan site where ticks are absent. *Journal of wildlife diseases*, 46(1), 173-178.
- Maurin, M., Gasquet, S., Ducco, C., & Raoult, D. (1995). MICs of 28 antibiotic compounds for 14 *Bartonella* (formerly Rochalimaea) isolates. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 39(11), 2387-2391.
- McCord, A.M., Burgess, A.W., Whaley, M.J., & Anderson, B.E. (2005). Interaction of *Bartonella henselae* with endothelial cells promotes monocyte/macrophage chemoattractant protein 1 gene expression and protein production and triggers monocyte migration. *Infection and immunity*, 73(9), 5735-5742.
- McCord, A.M., Cuevas, J., & Anderson, B.E. (2007). *Bartonella*-induced endothelial cell proliferation is mediated by release of calcium from intracellular stores. *DNA and cell biology*, 26(9), 657-663.
- McGill, S., Rajs, J., Hjelm, E., Lindquist, O., & Friman, G. (2003). A study on forensic samples of *Bartonella* spp. antibodies in Swedish intravenous heroin addicts. *Apmis*, 111(4), 507-513.
- McGill, S., Wesslen, L., Hjelm, E., Holmberg, M., Rolf, C., & Friman, G. (2001). Serological and epidemiological analysis of the prevalence of *Bartonella* spp. antibodies in Swedish elite orienteers 1992-93. *Scandinavian journal of infectious diseases*, 33(6), 423-428.

- Mehock, J.R., Greene, C.E., Gherardini, F.C., Hahn, T.W., & Krause, D.C. (1998). *Bartonella henselae* invasion of feline erythrocytes in vitro. *Infection and immunity*, 66(7), 3462-3466.
- Mellor, P.J., Fetz, K., Maggi, R.G., Haugland, S., Dunning, M., Villiers, E.J., Mellanby, R.J., Williams, D., Breitschwerdt, E., & Herrtage, M.E. (2006). Alphas-Proteinase Inhibitor Deficiency and *Bartonella* Infection in Association with Panniculitis, Polyarthritits, and Meningitis in a Dog. *Journal of veterinary internal medicine*, 20(4), 1023-1028.
- Mernaugh, G., & Ihler, G.M. (1992). Deformation factor: an extracellular protein synthesized by *Bartonella bacilliformis* that deforms erythrocyte membranes. *Infection and immunity*, 60(3), 937-943.
- Messam, L.L.M., Kasten, R.W., Ritchie, M.J., & Chomel, B.B. (2005). *Bartonella henselae* and domestic cats, Jamaica. *Emerging infectious diseases*, 11(7), 1146.
- Mikolajczyk, M.G., & O'Reilly, K.L. (2000). Clinical disease in kittens inoculated with a pathogenic strain of *Bartonella henselae*. *American journal of veterinary research*, 61(4), 375-379.
- Minnick, M.F., Anderson, B.E., Lima, A., Battisti, J.M., Lawyer, P.G., & Birtles, R.J. (2014). Oroya fever and verruga peruana: bartonelloses unique to South America. *PLoS Negl Trop Dis*, 8(7), e2919.
- Minnick, M.F., Battisti, J.F., 2009. Pestilence, persistence and pathogenicity: infection strategies of *Bartonella*. *Future Microbiol.* 4 (6), 743–758.
- Mogollon-Pasapera, E., Otvos, L., Giordano, A., & Cassone, M. (2009). *Bartonella*: emerging pathogen or emerging awareness?. *International Journal of Infectious Diseases*, 13(1), 3-8.
- Mohandas, N., & An, X. (2006). New insights into function of red cell membrane proteins and their interaction with spectrin-based membrane skeleton. *Transfusion clinique et biologique*, 13(1), 29-30.
- Morales, S.C., Breitschwerdt, E.B., Washabau, R.J., Matise, I., Maggi, R.G., & Duncan, A.W. (2007). Detection of *Bartonella henselae* DNA in two dogs with pyogranulomatous lymphadenitis. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 230(5), 681-685.
- Morick, D., Krasnov, B. R., Khokhlova, I. S., Gottlieb, Y., & Harrus, S. (2011). Investigation of *Bartonella* acquisition and transmission in *Xenopsylla ramesis fleas* (Siphonaptera: Pulicidae). *Molecular ecology*, 20(13), 2864-2870.
- Morick, D., Krasnov, B.R., Khokhlova, I.S., Gutiérrez, R., Gottlieb, Y., & Harrus, S. (2013). Vertical nontransovarial transmission of *Bartonella* in fleas. *Molecular ecology*, 22(18), 4747-4752.
- Mosbacher, M.E., Klotz, S., Klotz, J., & Pinnas, J.L. (2011). *Bartonella henselae* and the potential for arthropod vector-borne transmission. *Vector-borne and Zoonotic Diseases*, 11(5), 471-477.
- Moutailler, S., Moro, C.V., Vaumourin, E., Michelet, L., Tran, F.H., Devillers, E., Cosson, J.F., Gasqui, P., Van, V.T., Mavingui, P., Vourc'h, G., & Vayssier-Taussat, M. (2016). Co-infection of ticks: The rule rather than the exception. *PLoS Negl Trop Dis*, 10(3), e0004539.
- Müller, A., Reiter, M., Mantlik, K., Schötta, A.M., Stockinger, H., & Stanek, G. (2016). Development of a serum-free liquid medium for *Bartonella* species. *Folia microbiologica*, 61(5), 393-398.
- Müller, N.F., Kaiser, P.O., Linke, D., Schwarz, H., Riess, T., Schäfer, A., Eble, J.A., & Kempf, V.A. (2011). Trimeric autotransporter adhesin-dependent adherence of *Bartonella henselae*, *Bartonella quintana*, and *Yersinia enterocolitica* to matrix components and endothelial cells under static and dynamic flow conditions. *Infection and immunity*, 79(7), 2544-2553.
- Musso, D., Drancourt, M., & Raoult, D. (1995). Lack of bactericidal effect of antibiotics except aminoglycosides on *Bartonella (Rochalimaea) henselae*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 36(1), 101-108.
- Noguchi H. 1926. Etiology of Oroya fever. The behavior of *Bartonella bacilliformis* in *Macacus rhesus*. *J. Exp. Med.* 44:697–713.
- O'halloran, H.S., Kmbe, M., Rivardo, A.K., & Pearson P.A. (1998). Leber's neuroretinitis in a patient with serologic evidence of *Bartonella elizabethae*. *Retina*, 18(3), 276-27.
- O'Reilly, K.L., Bauer, R.W., Freeland, R.L., Foil, L.D., Hughes, K.J., Rohde, K.R., Roy, A.F., Stout, R.W., & Triche, P.C. (1999). Acute clinical disease in cats following infection with a pathogenic strain of *Bartonella henselae* (LSU16). *Infection and immunity*, 67(6), 3066-3072.

- O'Rourke, F., Schmidgen, T., Kaiser, P.O., Linke, D., & Kempf, V.A. (2011). Adhesins of *Bartonella* spp. In *Bacterial Adhesion* (pp. 51-70). Springer Netherlands.
- Ochman, H., Lawrence, J.G., & Groisman, E.A. (2000). Lateral gene transfer and the nature of bacterial innovation. *Nature*, 405(6784), 299-304.
- Oksi, J., Rantala, S., Kilpinen, S., Silvennoinen, R., Vornanen, M., Veikkolainen, V., Eerola, E., & Pulliainen, A.T. (2013). Cat scratch disease caused by *Bartonella grahamii* in an immunocompromised patient. *Journal of clinical microbiology*, 51(8), 2781-2784.
- Okujava, R., Guye, P., Lu, Y.Y., Misl, C., Polus, F., Vayssier-Taussat, M., Halin, C., Rolink, A.G., & Dehio, C. (2014). A translocated effector required for *Bartonella* dissemination from derma to blood safeguards migratory host cells from damage by co-translocated effectors. *PLoS Pathog*, 10(6), e1004187.
- Oliver, M.K., Telfer, S., & Piertney, S.B. (2009). Major histocompatibility complex (MHC) heterozygote superiority to natural multi-parasite infections in the water vole (*Arvicola terrestris*). *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 276(1659), 1119-1128.
- Pachas, P. (2000). "Epidemiología de la Bartonelosis en el Perú." Módulo técnico. Lima: Oficina General de Epidemiología, *Instituto Nacional de Salud*.
- Palmero, J., Pusterla, N., Cherry, N.A., Kasten, R.W., Mapes, S., Boulouis, H.J., Breitschwerdt, E., & Chomel, B.B. (2012). Experimental infection of horses with *Bartonella henselae* and *Bartonella bovis*. *Journal of veterinary internal medicine*, 26(2), 377-383.
- Pandak, N., Đaković-Rode, O., Čabraja, I., Krištof, Ž., & Kotarac, S. (2009). Prevalence of *Bartonella henselae* antibodies in children and blood donors in Croatia. *Infection*, 37(2), 166-167.
- Pappalardo, B.L., Brown, T.T., Tompkins, M., & Breitschwerdt, E.B. (2001). Immunopathology of *Bartonella vinsonii* (berkhoffii) in experimentally infected dogs. *Veterinary immunology and immunopathology*, 83(3), 125-147.
- Pappalardo, B.L., Brown, T., Gebhardt, D., Sontakke, S., & Breitschwerdt, E.B. (2000). Cyclic CD8+ lymphopenia in dogs experimentally infected with *Bartonella vinsonii* subsp.berkhoffii. *Veterinary immunology and immunopathology*, 75(1), 43-57.
- Pappalardo, B.L., Correa, M.T., York, C.C., Peat, C.Y., & Breitschwerdt, E.B. (1997). Epidemiologic evaluation of the risk factors associated with exposure and seroreactivity to *Bartonella vinsonii* in dogs. *American journal of veterinary research*, 58(5), 467-471.
- Parinaud H. (1889). Conjunctivite infectieuse transmise par les animaux. *Ann. D'Oculistique*, 101 :252– 253
- Paul, S., Minnick, M.F., & Chattopadhyay, S. (2016). Mutation-Driven Divergence and Convergence Indicate Adaptive Evolution of the Intracellular Human-Restricted Pathogen, *Bartonella bacilliformis*. *PLoS Negl Trop Dis*, 10(5), e0004712.
- Paziewska, A., Siński, E., & Harris, P.D. (2012). Recombination, diversity and allele sharing of infectivity proteins between *Bartonella* species from rodents. *Microbial ecology*, 64(2), 525-536.
- Pendle, S., Ginn, A., & Iredell, J. (2006). Antimicrobial susceptibility of *Bartonella henselae* using Etest methodology. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 57(4), 761-763.
- Pennisi, M.G., La Camera, E., Giacobbe, L., Orlandella, B.M., Lentini, V., Zummo, S., & Fera, M.T. (2010). Molecular detection of *Bartonella henselae* and *Bartonella clarridgeiae* in clinical samples of pet cats from Southern Italy. *Research in veterinary science*, 88(3), 379-384.
- Perez, C., Maggi, R.G., Diniz, P.P.V.P., & Breitschwerdt, E.B. (2011). Molecular and serological diagnosis of *Bartonella* infection in 61 dogs from the United States. *Journal of veterinary internal medicine*, 25(4), 805-810.
- Pitassi, L.H.U., Cintra, M.L., Ferreira, M.R.M., Magalhães, R.F., & Velho, P.E.N.F. (2010). Blood cell findings resembling *Bartonella* spp. Ultrastructural pathology, 34(1), 2-6.
- Plettenberg, A., Lorenzen, T., Burtsche, B.T., Rasokat, H., Kaliebe, T., Albrecht, H., Mertenskötter, T., Bogner, J.R., Stoehr, A., & Schöfer, H. (2000). Bacillary angiomatosis in HIV-infected patients—an epidemiological and clinical study. *Dermatology*, 201(4), 326-331.

- Podsiadly, E., Chmielewski, T., Sochon, E., & Tylewska-Wierzbanowska, S. (2007). *Bartonella henselae* in *Ixodes ricinus* ticks removed from dogs. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 7(2), 189-192.
- Pretorius, A.M., Kuyl, J.M., Isherwood, D.R., & Birtles, R.J. (2004). *Bartonella henselae* in African lion, South Africa. *Emerg Infect Dis*, 10, 2257-2258.
- Probert, W., Louie, J.K., Tucker, J.R., Longoria, R., Hogue, R., Moler, S., Graves, M., Palmer, H.J., Cassady, J., & Fritz, C. L. (2009). Meningitis due to a “*Bartonella washoensis*”-like human pathogen. *Journal of clinical microbiology*, 47(7), 2332-2335.
- Pulliaainen A.T., & Dehio C. (2012). Persistence of *Bartonella* spp. stealth pathogens: from subclinical infections to vasoproliferative tumor formation. *FEMS Microbiol Rev*, 36:563–99.
- Pulliaainen A.T. (2015). Structural insight into how bacteria prevent interference between multiple divergent type IV secretion systems. *mBio* 6(6):e01867-15. *Doi:10.1128/ mBio.01867-15*.
- Raoult, D., & Roux, V. (1999). The body louse as a vector of reemerging human diseases. *Clinical infectious diseases*, 29(4), 888-911.
- Raoult, D., Fournier, P.E., Drancourt, M., Marrie, T.J., Etienne, J., Cosserat, J., Cacoub, P., Poinignon, Y., Leclercq, P., & Sefton, A.M. (1996). Diagnosis of 22 new cases of *Bartonella* endocarditis. *Annals of internal medicine*, 125(8), 646-652.
- Raoult, D., Fournier, P.E., Vandenesch, F., Mainardi, J.L., Eykyn, S.J., Nash, J., James, E., Benoit-Lemercier, C., & Marrie, T.J. (2003). Outcome and treatment of *Bartonella* endocarditis. *Archives of Internal Medicine*, 163(2), 226-230.
- Raoult, D., Roblot, F., Rolain, J.M., Besnier, J.M., Loulergue, J., Bastides, F., & Choutet, P. (2006). First isolation of *Bartonella alsatica* from a valve of a patient with endocarditis. *Journal of clinical microbiology*, 44(1), 278-279.
- Reed J.B., Scales D.K., Wong M.T., Lattuada C.P. Jr, Dolan M.J., Schwab I.R. (1998). *Bartonella henselae* neuroretinitis in cat scratch disease: diagnosis, management and sequelae. *Ophthalmology*.105 (3):459– 466
- Reeves, W.K., Szumlas, D.E., Moriarity, J.R., Loftis, A.D., Abbassy, M.M., Helmy, I.M., & Dasch, G.A. (2006). Louse-borne bacterial pathogens in lice (*Phthiraptera*) of rodents and cattle from Egypt. *Journal of Parasitology*, 92(2), 313-318.
- Reeves, W.K., Nelder, M.P., Cobb, K.D., & Dasch, G.A. (2006). *Bartonella* spp. in deer keds, *Lipoptena mazamae* (Diptera: Hippoboscidae), from Georgia and South Carolina, USA. *Journal of wildlife diseases*, 42(2), 391-396.
- Regier, Y., O'Rourke, F., & Kempf, V.A. (2016). *Bartonella* spp.-a chance to establish One Health concepts in veterinary and human medicine. *Parasites & vectors*, 9(1), 261.
- Regnery R.L., Olson J.G., Perkins B.A., Bibb W. (1992). Serological response to “*Rochalimaea henselae*” antigen in suspected cat-scratch disease. *Lancet*. 339 (8807):1443– 1445
- Regnery, R., & Tappero, J. (1995). Unraveling mysteries associated with cat-scratch disease, bacillary angiomatosis, and related syndromes. *Emerging infectious diseases*, 1(1), 16.
- Reis, C., Cote, M., Le Rhun, D., Lecuelle, B., Levin, M.L., Vayssier-Taussat, M., & Bonnet, S.I. (2011). Vector competence of the tick *Ixodes ricinus* for transmission of *Bartonella birtlesii*. *PLoS Negl Trop Dis*, 5(5), e1186.
- Resto-Ruiz S, Burgess A, Anderson B.E. (2003). The role of the host immune response in pathogenesis of *Bartonella henselae*. *DNA Cell Biol*. 22 (6):431– 440
- Rhomberg, T.A., Truttmann, M.C., Guye, P., Ellner, Y., & Dehio, C. (2009). A translocated protein of *Bartonella henselae* interferes with endocytic uptake of individual bacteria and triggers uptake of large bacterial aggregates via the invasome. *Cellular microbiology*, 11(6), 927-945.
- Riess, T., Andersson, S.G., Lupas, A., Schaller, M., Schäfer, A., Kyme, P., Martin, J., Walzlein, J.H., Eehalt, U., Lindroos, H., Nordheim, A., Autenrieth, I.B., Kempf, V.A., & Schirle, M. (2004). *Bartonella* adhesin a mediates a proangiogenic host cell response. *Journal of Experimental Medicine*, 200(10), 1267-1278.
- Rolain J.M., Chanet V., Laurichesse H., Lepidi H., Beytout J., Raoult D. (2003a). Cat scratch disease with lymphadenitis, vertebral osteomyelitis, and spleen abscesses. *Ann N Y Acad Sci*.

- Rolain J.M., Franc M., Davoust B., Raoult D. (2003b). Molecular detection of *Bartonella quintana*, *B. koehlerae*, *B. henselae*, *B. clarridgeiae*, *Rickettsia felis*, and *Wolbachia pipientis* in cat fleas, France. *Emerg Infect Dis.* 9:338–42.
- Rolain J.M., Maurin M., Raoult D. (2000). Bactericidal effect of antibiotics on *Bartonella* and *Brucella* spp.: clinical implications. *J Antimicrob Chemother.* 46 (5):811– 814
- Rolain, J.M., Brouqui, P., Koehler, J.E., Maguina, C., Dolan, M.J., & Raoult, D. (2004). Recommendations for treatment of human infections caused by *Bartonella* species. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 48(6), 1921-1933.
- Roux, V., Eykyn, S.J., Wyllie, S., & Raoult, D. (2000). *Bartonella vinsonii* subsp. *berkhoffii* as an agent of afebrile blood culture-negative endocarditis in a human. *Journal of Clinical Microbiology*, 38(4), 1698-1700.
- Rydkina, E.B., Roux, V., Gagua, E.M., Predtechenski, A.B., Tarasevich, I.V., & Raoult, D. (1999). *Bartonella quintana* in body lice collected from homeless persons in Russia. *Emerging infectious diseases*, 5(1), 176.
- Rynkiewicz, E.C., Hemmerich, C., Rusch, D.B., Fuqua, C., & Clay, K. (2015). Concordance of bacterial communities of two tick species and blood of their shared rodent host. *Molecular ecology*, 24(10), 2566-2579.
- Saenz, H.L., Engel, P., Stoeckli, M.C., Lanz, C., Raddatz, G., Vayssier-Taussat, M., Birtles, R., Schuster, S.C., & Dehio, C. (2007). Genomic analysis of *Bartonella* identifies type IV secretion systems as host adaptability factors. *Nature genetics*, 39(12), 1469-1476.
- Sander A., Berner R., Ruess M. (2001). Serodiagnosis of cat scratch disease: response to *Bartonella henselae* in children and a review of diagnostic methods. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 20 (6):392– 401
- Sander A., Posselt M., Bohm N., Ruess M., Altwegg M. (1999). Detection of *Bartonella henselae* DNA by two different PCR assays and determination of the genotypes of strains involved in histologically defined cat scratch disease. *J Clin Microbiol.* 37 (4):993– 997
- Sander, A., Posselt, M., Oberle, K., & Brecht, W. (1998). Seroprevalence of antibodies to *Bartonella henselae* in patients with cat scratch disease and in healthy controls: evaluation and comparison of two commercial serological tests. *Clinical and diagnostic laboratory immunology*, 5(4), 486-490.
- Sander, A., Zagrosek, A., Brecht, W., Schiltz, E., Piémont, Y., Lanz, C., & Dehio, C. (2000). Characterization of *Bartonella clarridgeiae* flagellin (FlaA) and detection of anti-flagellin antibodies in patients with lymphadenopathy. *Journal of clinical microbiology*, 38(8), 2943-2948.
- Sanogo, Y.O., Zeaiter, Z., Caruso, G., Merola, F., Shpynov, S., Brouqui, P., & Raoult, D. (2003). *Bartonella henselae* in *Ixodes ricinus* ticks (*Acari: Ixodida*) removed from humans, Belluno province, Italy. *Emerging infectious diseases*, 9(3), 329-332.
- Sasaki, T., Kobayashi, M., & Agui, N. (2002). Detection of *Bartonella quintana* from body lice (*Anoplura: Pediculidae*) infesting homeless people in Tokyo by molecular technique. *Journal of medical entomology*, 39(3), 427-429.
- Sasaki, T., Poudel, S.K.S., Isawa, H., Hayashi, T., Seki, N., Tomita, T., Sawabe, K., & Kobayashi, M. (2006). First molecular evidence of *Bartonella quintana* in *Pediculus humanus capitis* (*Phthiraptera: Pediculidae*), collected from Nepalese children. *Journal of medical entomology*, 43(1), 110-112.
- Saunders, G.K., & Monroe, W.E. (2006). Systemic granulomatous disease and sialometaplasia in a dog with *Bartonella* infection. *Veterinary Pathology Online*, 43(3), 391-392.
- Scherer, D.C., DeBuron-Connors, I., & Minnick, M.F. (1993). Characterization of *Bartonella bacilliformis* flagella and effect of anti-flagellin antibodies on invasion of human erythrocytes. *Infection and immunity*, 61(12), 4962-4971.
- Schluter, D. (2000). The ecology of adaptive radiation. *OUP Oxford*.
- Schmid, M.C., Scheidegger, F., Dehio, M., Balmelle-Devaux, N., Schulein, R., Guye, P.,

- Chennakesava, C.S., Biedermann, B., & Dehio, C. (2006). A translocated bacterial protein protects vascular endothelial cells from apoptosis. *PLoS Pathog*, 2(11), e115.
- Schmoor, P., Darie, H., Maccari, F., Gros, P., & Millet, P. (1998). Cutaneous vasculitis disclosing cat-scratch disease. In *Annales de Dermatologie et de Venereologie* (Vol. 125, No. 12, pp. 894-896).
- Schönknecht, G., Weber, A.P., & Lercher, M.J. (2014). Horizontal gene acquisitions by eukaryotes as drivers of adaptive evolution. *Bioessays*, 36(1), 9-20.
- Schülein, R., Seubert, A., Gille, C., Lanz, C., Hansmann, Y., Piémont, Y., & Dehio, C. (2001). Invasion and persistent intracellular colonization of erythrocytes. *Journal of experimental medicine*, 193(9), 1077-1086.
- Schulein, R., Guye, P., Rhomberg, T.A., Schmid, M.C., Schröder, G., Vergunst, A. C., Carena, I., & Dehio, C. (2005). A bipartite signal mediates the transfer of type IV secretion substrates of *Bartonella henselae* into human cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(3), 856-861.
- Schulte, B., Linke, D., Klumpp, S., Schaller, M., Riess, T., Autenrieth, I.B., & Kempf, V.A. (2006). *Bartonella quintana* variably expressed outer membrane proteins mediate vascular endothelial growth factor secretion but not host cell adherence. *Infection and immunity*, 74(9), 5003-5013.
- Schultz M.G. (1968). A history of bartonellosis (Carrion's disease). *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 17(4): p. 503–15. pmid:4876803
- Seki, N., Kasai, S., Saito, N., Komagata, O., Mihara, M., Sasaki, T., Tomita, T., Sasaki, T., & Kobayashi, M. (2007). Quantitative analysis of proliferation and excretion of *Bartonella quintana* in body lice, *Pediculus humanus* L. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 77(3), 562-566.
- Setlakwe, E.L., Lemos, K.R., Lavoie-Lamoureux, A., Duguay, J.D., & Lavoie, J.P. (2014). Airway collagen and elastic fiber content correlates with lung function in equine heaves. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*, 307(3), L252-L260.
- Seubert, A., Hiestand, R., De La Cruz, F., & Dehio, C. (2003). A bacterial conjugation machinery recruited for pathogenesis. *Molecular microbiology*, 49(5), 1253-1266.
- Silaghi, C., Pfeffer, M., Kiefer, D., Kiefer, M., & Obiegala, A. (2016). *Bartonella*, rodents, fleas and ticks: a molecular field study on host-vector-pathogen associations in Saxony, Eastern Germany. *Microbial ecology*, 72(4), 965-974.
- Slater, L.N., Welch, D.F., & Min, K.W. (1992). *Rochalimaea henselae* causes bacillary angiomatosis and peliosis hepatis. *Archives of internal medicine*, 152(3), 602-606.
- Smith, H.M., Reporter, R., Rood, M.P., Linscott, A.J., Mascola, L.M., Hogrefe, W., & Purcell, R.H. (2002). Prevalence study of antibody to ratborne pathogens and other agents among patients using a free clinic in downtown Los Angeles. *Journal of Infectious Diseases*, 186(11), 1673-1676.
- Solano-Gallego L., Bradley J., Hegarty B., Sigmon B., Breitschwerdt E. (2004). *Bartonella henselae* IgG antibodies are prevalent in dogs from southeastern USA. *Vet Res*. 35 (5):585– 595
- Sormunen, J.J., Penttinen, R., Klemola, T., Hänninen, J., Vuorinen, I., Laaksonen, M., Saaksjarvi, I.E., Ruohomaki, K., & Vesterinen, E.J. (2016). Tick-borne bacterial pathogens in southwestern Finland. *Parasites & vectors*, 9(1), 1.
- Steiner, F.E., Pinger, R.R., Vann, C.N., Grindle, N., Civitello, D., Clay, K., & Fuqua, C. (2008). Infection and co-infection rates of *Anaplasma phagocytophilum* variants, *Babesia* spp., *Borrelia burgdorferi*, and the rickettsial endosymbiont in *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) from sites in Indiana, Maine, Pennsylvania, and Wisconsin. *Journal of medical entomology*, 45(2), 289-297.
- Sumner, J.W., Nicholson, W.L., & Massung, R.F. (1997). PCR amplification and comparison of nucleotide sequences from the groESL heat shock operon of *Ehrlichia* species. *Journal of Clinical Microbiology*, 35(8), 2087-2092.
- Sun, J., Fu, G., Lin, J., Song, X., Lu, L., & Liu, Q. (2010). Seroprevalence of *Bartonella* in Eastern

- China and analysis of risk factors. *BMC infectious diseases*, 10(1), 121.
- Sun, J., Liu, Q., Lu, L., Ding, G., Guo, J., Fu, G., Zhang, J., Meng, F., Wu, H., Song, X., Li, D., Guo, Y., Wang, J., Li, G., Liu, J., Lin, H., & Ren, D. (2008). Coinfection with four genera of bacteria (*Borrelia*, *Bartonella*, *Anaplasma*, and *Ehrlichia*) in *Haemaphysalis longicornis* and *Ixodes sinensis* ticks from China. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 8(6), 791-796.
- Sykes, J.E., Lindsay, L.L., Maggi, R.G., & Breitschwerdt, E.B. (2010). Human coinfection with *Bartonella henselae* and two hemotropic mycoplasma variants resembling *Mycoplasma ovis*. *Journal of clinical microbiology*, 48(10), 3782-3785.
- Syvanen, M. (2012). Evolutionary implications of horizontal gene transfer. *Annual review of genetics*, 46, 341-358.
- Szczesny, P., Linke, D., Ursinus, A., Bär, K., Schwarz, H., Riess, T. M., Kempf, V.A., Lupas, A.N., Martin, J., & Zeth, K. (2008). Structure of the head of the *Bartonella* adhesin BadA. *PLoS Pathog*, 4(8), e1000119.
- Tappero, J.W., Koehler, J.E., Berger, T.G., Cockerell, C.J., Lee, T.H., Busch, M.P., Stites, D.P., Mohle-Boetani, J., Reingold, A.L., & LeBoit, P.E. (1993). Bacillary angiomatosis and bacillary splenitis in immunocompetent adults. *Annals of internal medicine*, 118(5), 363-365.
- Tea, A. (2004). *Bartonella* species isolated from rodents, Greece-Volume 10, Number 5—May 2004-*Emerging Infectious Disease journal-CDC*.
- Telfer, S., Clough, H.E., Birtles, R.J., Bennett, M., Carslake, D., Helyar, S., & Begon, M. (2007). Ecological differences and coexistence in a guild of microparasites: *Bartonella* in wild rodents. *Ecology*, 88(7), 1841-1849.
- Telford S.R., Wormser G.P. (2010). *Bartonella* spp. transmission by ticks not established. *Emerg Infect Dis* 16: 379–384.
- Todd, S., Xu, J., Millar, B. C., Moore, J. E., Crowe, M., Raoult, D., Harrison, T., Hill, C., & Douglas, J. (2004). Culture-negative *Bartonella* endocarditis in a patient with renal failure: the value of molecular methods in diagnosis. *British journal of biomedical science*, 61(4), 190-193.
- Truttmann, M.C., Rhomberg, T.A., & Dehio, C. (2011). Combined action of the type IV secretion effector proteins BepC and BepF promotes invasome formation of *Bartonella henselae* on endothelial and epithelial cells. *Cellular microbiology*, 13(2), 284-299.
- Tsai Y.L., Chang C.C., Chuang S.T., Chomel B.B. (2011). *Bartonella* species and their ectoparasites: Selective host adaptation or strain selection between the vector and the mammalian host? *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 34:299–314.
- Ueno, H., Hohdatsu, T., Muramatsu, Y., Koyama, H., & Morita, C. (1996). Does coinfection of *Bartonella henselae* and FIV induce clinical disorders in cats?. *Microbiology and immunology*, 40(9), 617-620.
- Ussery, D.W., Tindbæk, N., & Hallin, P.F. (2004). Genome update: promoter profiles. *Microbiology*, 150(9), 2791-2793.
- Valentine, K.H., Harms, C.A., Cadenas, M.B., Birkenheuer, A.J., Marr, H.S., Braun-McNeill, J., Maggi, R.G., & Breitschwerdt, E.B. (2007). *Bartonella* DNA in loggerhead sea turtles. *Emerging infectious diseases*, 13(6), 949.
- Van Audenhove, A., Verhoef, G., Peetermans, W.E., Boogaerts, M., & Vandenberghe, P. (2001). Autoimmune haemolytic anaemia triggered by *Bartonella henselae* infection: a case report. *British journal of haematology*, 115(4), 924-925.
- Varanat, M., Travis, A., Lee, W., Maggi, R.G., Bissett, S.A., Linder, K.E., & Breitschwerdt, E.B. (2009). Recurrent osteomyelitis in a cat due to infection with *Bartonella vinsonii* subsp.berkhoffii genotype II. *Journal of veterinary internal medicine*, 23(6), 1273-1277.
- Vayssier-Taussat M., Le Rhun D., Deng H.K., Biville F., Cescau S., Danchin A., Marignac G., Lenaour E., Boulouis H.J., Mavris M., Arnaud L., Yang H., Wang J., Quebatte M., Engel P., Saenz H., Dehio C. (2010). The Trw type IV secretion system of *Bartonella* mediates host-specific adhesion to erythrocytes. *PloS Pathog* 6:e1000946.
- Vayssier-Taussat, M., Moutailler, S., Michelet, L., Devillers, E., Bonnet, S., Cheval, J., Hébert, C., & Eloit, M. (2013). Next generation sequencing uncovers unexpected bacterial pathogens in

- ticks in western Europe. *PloS one*, 8(11), e81439.
- Vayssier-Taussat, M., Moutailler, S., Féménia, F., Raymond, P., Croce, O., La Scola, B., Fournier, P.E., & Raoult, D. (2016). Identification of novel zoonotic activity of *Bartonella* spp., France. *Emerging infectious diseases*, 22(3), 457.
- Verma, A., Davis, G.E., & Ihler, G.M. (2000). Infection of human endothelial cells with *Bartonella bacilliformis* is dependent on Rho and results in activation of Rho. *Infection and immunity*, 68(10), 5960-5969.
- Verma, A., & Ihler, G.M. (2002). Activation of Rac, Cdc42 and other downstream signalling molecules by *Bartonella bacilliformis* during entry into human endothelial cells. *Cellular microbiology*, 4(9), 557-569.
- Vermi, W., Facchetti, F., Riboldi, E., Heine, H., Scutera, S., Stornello, S., Ravarino, D., Cappello, P., Giovarelli, M., Badolato, R., Gentili, F., Chilosi, M., Doglioni, C., Ponzi, A.N., Sozzani, S., Musso, T., & Zucca, M. (2006). Role of dendritic cell-derived CXCL13 in the pathogenesis of *Bartonella henselae* B-rich granuloma. *Blood*, 107(2), 454-462.
- Villaseca, P., Padilla, C., Ventura, G., Samalvides, F., Yañez, H., Chevarría, L., & Beati, L. (1999). Importancia de la *Lutzomyia peruensis* en la transmisión de la enfermedad de Carrión en el Valle Sagrado de los Incas, Urubamba-Cusco, Perú. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica*, 16(1-2), 28-30.
- Vinson J.W., Varela G., Molina-Pasquel C., Trench fever, III. Induction of clinical disease in volunteers inoculated with *Rickettsia quintana* propagated on blood agar, *Am. J. Trop. Med. Hyg.* (1969)18:713–722.
- Vorou, R.M., Papavassiliou, V.G., & Tsiodras, S. (2007). Emerging zoonoses and vector-borne infections affecting humans in Europe. *Epidemiology and Infection*, 135(08), 1231-1247.
- Wade N.K., Levi L., Jones M.R., Bhisitkul R., Fine L., Cunningham E.T. (2000). Optic disk edema associated with peripapillary serous retinal detachment: an early sign of systemic *Bartonella henselae* infection. *Am J Ophthalmol.* 130 (3):327– 334
- Welch, D.F., Carroll, K.C., Hofmeister, E.K., Persing, D.H., Robison, D.A., Steigerwalt, A.G., & Brenner, D.J. (1999). Isolation of a New Subspecies, *Bartonella vinsonii* subsp.*arupensis*, from a Cattle Rancher: Identity with Isolates Found in Conjunction with *Borrelia burgdorferi* and *Babesia microti* among Naturally Infected Mice. *Journal of clinical microbiology*, 37(8), 2598-2601.
- Wilkie I.W., Prescott J.F., Hazlett M.J., Maxie M.G., Van Dreumel A.A. (1988). Giant cell hepatitis in four aborted foals: a possible leptospiral infection. *Can Vet J* 29:1003–1004
- Winoto, I.L., Goethert, H., Ibrahim, I.N., Yuniherlina, I., Stoops, C., Susanti, I., Kania, W., Maguirre, J.D., Bangs, M.J., Telford, S.R., & Wongsrichanalai, C. (2005). *Bartonella* species in rodents and shrews in the greater Jakarta area.
- Woestyn, S., Olivé, N., Bigaignon, G., Avesani, V., & Delmée, M. (2004). Study of genotypes and virB4 secretion gene of *Bartonella henselae* strains from patients with clinically defined cat scratch disease. *Journal of clinical microbiology*, 42(4), 1420-1427.
- Yamamoto, K., Chomel, B.B., Kasten, R.W., Chang, C.C., Tseggai, T., Decker, P.R., Mackowiak, M., Floyd-Hawkins, K.A., & Pedersen, N.C. (1998). Homologous protection but lack of heterologous-protection by various species and types of *Bartonella* in specific pathogen-free cats. *Veterinary immunology and immunopathology*, 65(2), 191-204.
- Yamamoto, K., Chomel, B.B., Kasten, R.W., Hew, C.M., Weber, D.K., Lee, W.I., Droz, S., & Koehler, J.E. (2002). Experimental infection of domestic cats with *Bartonella koehlerae* and comparison of protein and DNA profiles with those of other *Bartonella* species infecting felines. *Journal of clinical microbiology*, 40(2), 466-474.
- Ying, B.A. I., Kosoy, M.Y., & Maupin, G.O. (2002). Discovery of *Bartonella* species in rodents in Yunnan [J]. *Chinese Journal of Zoonoses*, 3, 000.
- Zangwill, K.M., Hamilton, D.H., Perkins, B.A., Regnery, R.L., Plikaytis, B.D., Hadler, J.L., Cartter, M.L. and Wenger, J.D. (1993) Cat scratch disease in Connecticut. Epidemiology, risk factors, and evaluation of a new diagnostic test. *N Engl J Med* 329, 8–13.

- Zeaiter, Z., Liang, Z., & Raoult, D. (2002). Genetic classification and differentiation of *Bartonella* species based on comparison of partial ftsZ gene sequences. *Journal of clinical microbiology*, 40(10), 3641-3647.
- Zhang, P., Chomel, B.B., Schau, M.K., Goo, J.S., Droz, S., Kelminson, K. L., George, S.S., Lerche, N.W., & Koehler, J. E. (2004). A family of variably expressed outer-membrane proteins (Vomp) mediates adhesion and autoaggregation in *Bartonella quintana*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(37), 13630-13635.
- Zhu, Q., Kosoy, M., Olival, K.J., & Dittmar, K. (2014). Horizontal transfers and gene losses in the phospholipid pathway of *Bartonella* reveal clues about early ecological niches. *Genome biology and evolution*, 6(8), 2156-2169.
- Ziedins, A.C., Chomel, B.B., Kasten, R.W., Kjemtrup, A.M., & Chang, C.C. (2016). Molecular epidemiology of *Bartonella* species isolated from ground squirrels and other rodents in northern California. *Epidemiology and infection*, 144(09), 1837-1844.

LINKOGRAFIA

LPSN bacterio.net DATABASE (2016)
<http://www.bacterio.net/bartonella.html>