

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 30/07/2023.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – Unesp
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS (FCAV)
CAMPUS JABOTICABAL

ISOLAMENTO E GENOTIPAGEM DE *Bartonella henselae*
EM AMOSTRAS DE SANGUE DE GATOS (*Felis catus*) DO
ESTADO DE GOIÁS

Clara Morato Dias

Médica-Veterinária

2022

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – Unesp
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS (FCAV)
CAMPUS JABOTICABAL

ISOLAMENTO E GENOTIPAGEM DE *Bartonella henselae*
EM AMOSTRAS DE SANGUE DE GATOS (*Felis catus*) DO
ESTADO DE GOIÁS

Clara Morato Dias

Orientador: Prof. Dr. Marcos Rogério André

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária, área de concentração Patologia Animal.

D541i

Dias, Clara Morato

Isolamento e genotipagem de Bartonella henselae em amostras de sangue de gatos (Felis catus) do estado de Goiás / Clara Morato Dias.

-- Jaboticabal, 2022

35 p. : il., tabs., mapas

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal

Orientador: Marcos Rogério André

1. Medicina Veterinária. 2. Saúde Única. 3. Doença da Arranhadura do Gato. 4. Bartonella henselae. 5. Genotipagem. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: ISOLAMENTO E GENOTIPAGEM DE *Bartonella henselae* EM AMOSTRAS DE SANGUE DE GATOS (*Felis catus*) DO ESTADO DE GOIÁS

AUTORA: CLARA MORATO DIAS

ORIENTADOR: MARCOS ROGÉRIO ANDRÉ

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em MEDICINA VETERINÁRIA, área: Patologia Animal pela Comissão Examinadora:

Marcos R André

Prof. Dr. MARCOS ROGÉRIO ANDRÉ (Participação Virtual)
Departamento de Patologia Reprodução e Saúde Única / FCAV UNESP Jaboticabal

Rosângela Zacarias Machado
Profa. Dra. ROSÂNGELA ZACARIAS MACHADO (Participação Virtual)
Departamento de Patologia, Reprodução e Saúde Única / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Ananda Müller P.
Profa. Dra. ANANDA MÜLLER PEREIRA (Participação Virtual)
Ross University School of Veterinary Medicine / Basseterre/Ilha de São Cristovão/Caribe

Jaboticabal, 30 de julho de 2022

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Clara Morato Dias – nascida na cidade de Goiânia, Goiás, em 19 de abril de 1996. Graduada em Medicina Veterinária (Bacharelado) pela Universidade Federal de Goiás (UFG), Goiânia, Goiás, no ano de 2019. Durante a graduação, foi monitora das disciplinas de Anatomia Animal e Parasitologia Veterinária e aluna de Inovação Tecnológica no Laboratório de Patologia de Invertebrados do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública (IPTSP) pelo programa PIBITI/CNPq, trabalhando na área de controle biológico de ectoparasitas com ênfase no desenvolvimento de produto com formulação à base de fungo entomopatogênico para controle do carrapato *Rhipicephalus microplus* sob orientação do Prof. Dr. Éverton Kort Kamp Fernandes. Em 2017, vencedora do V Prêmio UFG Melhores Trabalhos em Desenvolvimento Tecnológico e Inovação - 2016/2017 pela UFG com o trabalho “Substituição de componente orgânico por inorgânico na composição de bioproduto a base de fungo entomopatogênico, e avaliação da sua esporulação em solo não esterilizado, e da sua eficácia contra o carrapato *Rhipicephalus microplus*”. Posteriormente, foi aluna de Iniciação Científica no laboratório de Bacteriologia do Departamento de Medicina Veterinária preventiva pelo programa PIBIC/CNPq, trabalhando na área de Saúde Pública com ênfase em investigação de sorotipos zoonóticos de *Salmonella* circulantes em aves caipiras comercializadas em feiras livres de Goiânia e seus respectivos perfis de suscetibilidade antimicrobiana entre os anos de 2017 e 2018 sob orientação da Profa. Dra. Maria Auxiliadora Andrade. No ano 2019, foi coordenadora do Grupo de Estudo em Tecnologia e Inspeção de Produtos de Origem Animal (GETIPOA). No seguinte ano, ingressou no curso de Mestrado em Patologia Veterinária na Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – FCAV/UNESP, Campus de Jaboticabal, sob orientação do Prof. Dr. Marcos Rogério André, e foi beneficiada com bolsa da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES). Atualmente, também é coordenadora da Liga Acadêmica em Saúde Pública (LASP) da FCAV/UNESP.

EPÍGRAFE

“Quem olha para fora sonha, quem olha para dentro desperta.”

Carl Jung

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Regina Morato Dias e Júlio César de Oliveira Dias, por me ensinarem, por meio de seus gestos e sacrifícios de vida, que o conhecimento e o amor ao próximo nos libertam de nossas mazelas. Eu os amo desde o princípio e para todo o sempre.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Prof. Dr. Marcos Rogério André, um educador exemplar, que se felicita com o crescimento de cada aluno seu. Agradeço pela confiança depositada no meu trabalho e por todas as oportunidades de aprendizado concedidas a mim. Sua mentoria conferiu esteio seguro para cada desafio e enobreceu a pesquisa com os laços da fraternidade.

À Profa. Dra. Rosangela Zacarias Machado, por todos os ensinamentos e auxílio para o desenvolvimento deste trabalho.

Às professoras Dra. Darci Moraes Barros-Battesti e Dra. Ananda Müller por todas as contribuições feitas ao trabalho na banca de qualificação.

Aos amigos Antônia Laila dos Santos, Tarik Fernandes Gonçalves Rocha, Julie Ane Gonçalves, Nailta Gonçalves e minha família, que me auxiliaram nas coletas de amostras destinadas a este estudo. Vocês foram verdadeiros anjos.

Às minhas queridas Carol Secato, Victória Valente e Eliz Franco pelas risadas e o carinho de irmãs espirituais, que se reencontraram em vida para se apoiarem.

Aos amigos do Laboratório de Imunoparasitologia, Renan Amaral, Lívia Perles, Ana Calchi, Priscilla Ikeda, Luiz Gonçalves, Laryssa Borges, Jaqueline Camargo, Matheus Santana, Leidiane Duarte, Anna Mongruel, Ana Carolina Santiago e Kamila Pinheiro, por compartilharem seus conhecimentos e por estarem sempre dispostos a ajudar.

Aos docentes e funcionários do Departamento de Patologia, Reprodução e Saúde Única, em especial à Mabel Custódio e Rafaela Beraldo, pela atenção e ajuda dispensada no decorrer do mestrado.

Aos meus pais, Regina Morato Dias e Júlio César de Oliveira Dias, pelo amor incondicional. O senhor e a senhora trazem amor quando me encontro hostil, trazem

o perdão quando ofendo, trazem a união onde existe discórdia ao meu redor, me enchem de fé e esperança quando sou apenas dúvida e desespero, trazem a verdade quando erro e preenchem meu espírito de alegria e luz quando sou tristeza e trevas. O amor dos senhores me inspira em todos os dias de minha vida. Sou eternamente grata pelos cuidados que os senhores me cercam. A conquista é nossa!

Aos meus irmãos Mariana Morato Oliveira Dias e Matheus Inácio Morato dias pelo apoio que sempre dispensaram a mim. Somos um pelo outro. Amo-os com todas as fibras de minha alma.

Ao meu namorado Amir Alabí pelo amor e amizade. Você encanta os meus dias.

Ao amigo Stanislau Parreira Cardoso pela amizade e carinho que cultivamos desde o nosso trabalho no Laboratório de Bacteriologia. O entusiasmo com que sempre recebeu minhas pequenas conquistas durante a graduação me motivaram a trilhar os caminhos da vida acadêmica.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES),
pela bolsa de estudos.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo auxílio à pesquisa concedido (Processo 2018/02753-0) para o desenvolvimento deste trabalho.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da FCAV/
UNESP Jaboticabal



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Jaboticabal



CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto de pesquisa intitulado "**Tipagem molecular de *Bartonella henselae* por multilocus sequencing analysis (MLSA) em amostras de sangue de gatos do estado de Goiás**", protocolo nº 5439/20, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Marcos Rogério André, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao Filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, no decreto 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), da FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS, UNESP - CÂMPUS DE JABOTICABAL-SP, em reunião ordinária de 10 de dezembro de 2020.

| | |
|---------------------|-------------------------|
| Vigência do Projeto | 02/01/2021 a 31/07/2022 |
| Espécie / Linhagem | Felino doméstico |
| Nº de animais | 100 |
| Peso / Idade | - |
| Sexo | Macho e fêmea |
| Origem | - |

Jaboticabal, 10 de dezembro de 2020.

Fabiana Pilarski

Profa. Dra. Fabiana Pilarski
Coordenadora – CEUA

ISOLAMENTO E GENOTIPAGEM DE *Bartonella henselae* EM AMOSTRAS DE SANGUE DE GATOS (*Felis catus*) NO ESTADO DE GOIÁS

RESUMO - *Bartonella henselae* é um patógeno zoonótico responsável por ocasionar a Doença da Arranhadura do Gato (DAG) e outras manifestações clínicas em humanos. Os gatos domésticos são os principais reservatórios dessa espécie de bactéria e estudos prévios sugeriram que determinados genótipos de *B. henselae* podem ser mais associados a infecções humanas. O presente estudo objetivou genotipar isolados de *B. henselae* a partir de amostras sanguíneas de gatos domésticos do estado de Goiás, centro-oeste do Brasil. A associação de PCR em tempo real quantitativa (qPCR) baseada no gene *nuoG* de *Bartonella* spp. das amostras sanguíneas, antes e após incubação em meio líquido de pré-enriquecimento (BAPGM) e isolamento em ágar chocolate, mostraram frequência de positividade de 43% (43/100) para *Bartonella* spp. Doze isolados de *B. henselae* obtidos em ágar chocolate a partir de amostras sanguíneas de seis gatos (dois isolados de cada animal) foram caracterizados por Multi-locus Sequencing Typing (MLST) e revelaram pertencer às *Sequence Types* ST1 e ST5. Um dos gatos (1/6) apresentou as duas STs, demonstrando que gatos domésticos podem ser coinfetados com diferentes variantes da bactéria. As STs detectadas neste estudo distribuem-se mundialmente e já foram detectadas em humanos com manifestações clínicas por bartonelose. O presente trabalho traz a primeira detecção das variantes zoonóticas ST1 e ST5 de *B. henselae* em gatos domésticos no Brasil.

Palavras-chaves: bartonelose, Doença da Arranhadura do Gato, MLST, *Sequence Type*

ISOLATION AND GENOTYPING OF *Bartonella henselae* IN BLOOD SAMPLES OF CATS (*Felis catus*) IN THE STATE OF GOIÁS

ABSTRACT - *Bartonella henselae* is a zoonotic pathogen responsible for causing Cat Scratch Disease (CAD) and other clinical manifestations in humans. Domestic cats are the main reservoir of this species of bacteria and previous studies have suggested that certain genotypes of *B. henselae* may be more associated with human infections. The present study aimed to genotype *B. henselae* isolates from blood samples from domestic cats in the state of Goiás, midwestern Brazil. The association of quantitative real-time PCR (qPCR) based on the *nuoG* gene from *Bartonella* spp. of blood samples, before and after incubation in pre-enrichment liquid medium (BAPGM) and isolation on chocolate agar, showed a positivity frequency of 43% (43/100) for *Bartonella* spp. Twelve *B. henselae* isolates obtained on agar chocolate from blood samples from six cats (two isolates from each animal) were characterized by Multi-locus Sequencing Typing (MLST) and revealed to belong to Sequence Types ST1 and ST5. One of the cats (1/6) presented both STs, demonstrating that domestic cats can be coinfecting with different variants of the bacteria. The STs detected in this study are distributed worldwide and have already been detected in humans with clinical manifestations of bartonellosis. This is the first report of the zoonotic variants ST1 and ST5 of *B. henselae* in domestic cats from Brazil.

Keywords: bartonellosis, Cat Scratch Disease, MLST, Sequence Type

Capítulo 1 – Considerações Gerais

1. Introdução

O gênero *Bartonella* engloba α -proteobactérias de distribuição mundial e que infectam uma ampla variedade de espécies de mamíferos (BREITSCHWERDT, 2017). As espécies de *Bartonella* são transmitidos por diferentes artrópodes hematófagos aos hospedeiros vertebrados (KOSOY et al., 2012). No homem, a infecção por tais bactérias tem sido associada a doenças emergentes e reemergentes, dentre as quais a Doença da Arranhadura do Gato (DAG) é a mais frequentemente reportada e causada por *Bartonella henselae* (BREITSCHWERDT, 2017). Pulgas da espécie *Ctenocephalides felis* são os principais vetores desta espécie entre os gatos domésticos, que atuam como principais reservatórios do referido agente (GUPTILL, 2010). O homem se infecta pela inoculação da bactéria viável em resquícios de fezes de pulgas presentes nas garras ou saliva ao ser arranhado ou mordido por gatos infectados, embora exista um potencial risco de transmissão da bactéria durante transfusões sanguíneas em humanos (GUPTILL, 2010; PITASSI et al., 2015). DAG é a manifestação clínica benigna e autolimitante de *B. henselae*, porém manifestações atípicas podem ser fatais em indivíduos imunocomprometidos (CANNETTI et al., 2019).

Com os avanços nas metodologias empregadas na detecção e isolamento de *Bartonella*, muitas espécies têm sido descritas e a sua ocorrência registrada em muitos países. No Brasil, a frequência molecular de *B. henselae* em gatos varia entre 1,7% e 97%. A ocorrência molecular deste agente foi registrada no estados do Maranhão (BRAGA et al., 2012), Pernambuco (FONTALVO et al., 2017), Mato Grosso (MICELI et al., 2013; BRAGA et al., 2015), Mato Grosso do Sul (ANDRÉ et al., 2015), Rio Grande do Sul (STAGGEMEIER et al., 2010; STAGGEMEIER, 2014; MALHEIROS et al., 2016), Santa Catarina (PEDRASSANI et al., 2019), São Paulo (BORTOLI et al., 2012; ANDRÉ et al., 2014; DRUMMOND et al., 2018; FURQUIM et al., 2021), Minas Gerais (FURQUIM et al., 2021) , Rio de Janeiro (SOUZA et al., 2010;

CRISSIUMA et al., 2011; SOUZA et al., 2017; SILVA et al., 2019; RAIMUNDO et al., 2019) e Bahia (CRUZ et al., 2022).

Esforços para genotipar isolados de *B. henselae*, objetivando investigar a diversidade genética deste patógeno, revelaram a existência de variantes encontradas somente em gatos domésticos e que, aparentemente, são menos aptas a infectarem seres humanos (ARVAND et al., 2007; BOUCHOUICHA et al., 2009; GIL et al., 2013; LI et al., 2007). Por meio do método de tipagem “Multi-locus Sequence Typing” (MLST) empregado em amostras sanguíneas de gatos domésticos e amostras biológicas humanas, foram detectadas 37 variantes de *B. henselae* em 447 isolados da bactéria (<https://pubmlst.org/organisms/Bartonella-henselae>). As variantes se distribuem pela Austrália, Reino Unido, Estados Unidos (EUA), Alemanha, Croácia, Espanha, Itália, França, China, Argélia, Argentina e Brasil (IREDELL et al., 2003; ARVAND et al., 2007; CHALONER et al., 2011; MIETZE et al., 2011; YUAN et al., 2011; AZZAG et al., 2012; GIL et al., 2013; CICUTTIN et al., 2014; STEPANIĆ et al., 2019; FURQUIM et al., 2021).

Embora a ocorrência molecular de *Bartonella* já tenha sido detectada em muitos estados brasileiros, até o momento não há relatos da sua ocorrência no estado de Goiás (Centro-Oeste brasileiro) e escassos são os dados das variantes de *B. henselae* circulantes no Brasil. Neste sentido, Furquim et al. (2021) detectaram as Sequence Types 9 e 37 em amostras sanguíneas de gatos domésticos nos estados de São Paulo e Minas Gerais, respectivamente. O presente estudo objetivou genotipar isolados de *B. henselae* obtidos de amostras de sangue de gatos domésticos no estado de Goiás (Centro-Oeste brasileiro) por meio da técnica de MLST.

5. Conclusões

O presente estudo relatou, pela primeira vez, a ocorrência de *B. henselae* em gatos amostrados no estado de Goiás, centro-oeste do Brasil. Trata-se da primeira detecção das variantes zoonóticas ST1 e ST5 de *B. henselae* no Brasil, previamente associadas a infecções em humanos e felinos em outras regiões do mundo. Por fim, este trabalho mostra a coinfeção pelas variantes ST1 e ST5 em um gato naturalmente infectado.

Declaração do autor: Metodologia, M.R.A (Marcos Rogério André), C.M.D (Clara Morato Dias), R.B.A (Renan Bressianini do Amaral), R.Z.M (Rosangela Zacarias Machado), L.P (Lívia Perles); Programa, C.M.D, R.B.A, L.P; Validação, M.R.A, R.Z.M Análise formal, C.M.D, R.B.A, L.P; Investigação, C.M.D; Curadoria de dados, C.M.D, R.B.A, L.P, M.R.A; Escrita - preparação do rascunho original, C.M.D, M.R.A, R.Z.M; Escrita – revisão e edição, C.M.D, M.R.A, R.Z.M; Visualização, C.M.D, M.R.A, R.Z.M; Supervisão, M.R.A, R.Z.M; Administração do projeto, M.R.A; Aquisição de financiamento, M.R.A. Todos os autores leram e concordaram com a versão publicada do manuscrito.

Conflito de Interesses

Os autores declaram não ter conflitos de interesse.

Financiamento: Esta pesquisa foi financiada pela FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – Processo nº 2018/02753-0); CNPq (Conselho

Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) para a Bolsa de Produtividade ao MRA (Processo CNPq nº 303701/2021-8). Os financiadores não tiveram nenhum papel no desenho do estudo; na coleta, análise ou interpretação dos dados; na redação do manuscrito, ou na decisão de publicar os resultados.

6. Referências

André, M. R., Baccarim Denardi, N. C., Marques de Sousa, K. C., Gonçalves, L. R., Henrique, P. C., Grosse Rossi Ontivero, C. R., Lima Gonzalez, I. H., Cabral Nery, C. V., Fernandes Chagas, C. R., Monticelli, C., Alexandre de Santis, A. C., Machado, R. Z. 2014. Arthropod-borne pathogens circulating in free-roaming domestic cats in a zoo environment in Brazil. *Ticks and Tick-borne Diseases*. 5, 545–551. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2014.03.011>

André, M.R., Dumler, J.S., Herrera, H.M., Gonçalves, L.R., de Sousa, K.C., Scorpio, D.G., de Santis, A.C., Domingos, I.H., de Macedo, GC, Machado RZ. 2016. Assessment of a quantitative 5' nuclease real-time polymerase chain reaction using the nicotinamide adenine dinucleotide dehydrogenase gamma subunit (*nuoG*) for *Bartonella* species in domiciled and stray cats in Brazil. *Journal Feline Medicine and Surgery*.18, 783-90. <https://doi.org/10.1177/1098612X15593787>.

Arvand, M., Feil E.J., Giladi, M., Boulouis, H.J., Viezens, J. 2007. Multi-locus sequence typing of *Bartonella henselae* isolates from three continents reveals hypervirulent and feline-associated clones. *PLoS One*. 2, e1346. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0001346>

Ansil, B. R., Mendenhall, I. H., Ramakrishnan, U. 2021. High prevalence and diversity of *Bartonella* in small mammals from the biodiverse Western Ghats. *PLoS Neglected Tropical Diseases*. 15, e0009178. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0009178>

Azzag, N., Haddad, N., Durand, B., Petit, E., Ammouche, A., Chomel, B., Boulouis, H.J. 2012. Population structure of *Bartonella henselae* in Algerian urban stray cats. *PLoS One*. 7, e43621. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0043621>.

Benson, D.A., Cavanaugh, M., Clark, K., Karsch-Mizrachi, I., Ostell, J., Pruitt, K.D., Sayers, E.W. 2018. GenBank. Nucleic acids research. 46, D41-D47. <https://doi.org/10.1093/nar/gkx1094>

Birkenheuer, A.J., Levy, M.G., Breitschwerdt, E.B. 2003. Development and evaluation of a seminested PCR for detection and differentiation of *Babesia gibsoni* (Asian genotype) and *B. canis* DNA in canine blood samples. *Journal of clinical microbiology*. 41, 4172-4177. <https://doi.org/10.1128/JCM.41.9.4172-4177.2003>

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, 383-410. <https://doi.org/10.1051/vetres:2005009>

Bouchouicha, R., Durand, B., Monteil, M., Chomel, B. B., Berrich, M., Arvand, M., Birtles, R. J., Breitschwerdt, E. B., Koehler, J. E., Maggi, R., Maruyama, S., Kasten, R., Petit, E., Boulouis, H. J., Haddad, N. 2009. Molecular epidemiology of feline and human *Bartonella henselae* isolates. *Emerging infectious diseases*. 15, 813-816. <https://doi.org/10.3201/eid1505.080995>

Braga, M., Diniz, P.P., André, M.R., Bortoli, C.P., Machado, R.Z. 2012. Molecular characterisation of *Bartonella* species in cats from São Luís, state of Maranhão, north-eastern Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 107, 772-777. <https://doi.org/10.1590/s0074-02762012000600011>

Breitschwerdt, E.B., Maggi, R.G., Chomel, B.B., Lappin, M.R. 2010. Bartonellosis: an emerging infectious disease of zoonotic importance to animals and human beings. *Journal of veterinary emergency and critical care*. 20, 8-30. <https://doi.org/10.1111/j.1476-4431.2009.00496.x>

Breitschwerdt, E.B. 2017. Bartonellosis, One Health and all creatures great and small. *Veterinary dermatology*. 28, e21. <https://doi.org/10.1111/vde.12413>.

Breitschwerdt, E.B., Greenberg, R., Maggi, R.G., Mozayeni, B.R., Lewis, A., Bradley, J.M. 2019. *Bartonella henselae* Bloodstream Infection in a Boy With Pediatric Acute-Onset Neuropsychiatric Syndrome. *Journal of central nervous system disease*. 11, 1179573519832014. <https://doi.org/10.1177/1179573519832014>

- Breitschwerdt, E.B., Bradley, J.M., Maggi, R.G., Lashnits, E., Reicherter, P. 2020. *Bartonella* Associated Cutaneous Lesions (BACL) in People with Neuropsychiatric Symptoms. *Pathogens*. 9, 1023. <https://doi.org/10.3390/pathogens9121023>
- Bustin, S.A., Benes, V., Garson, J.A., Hellems, J., Huggett, J., Kubista, M., Mueller, R., Nolan, T., Pfaffl, M.W., Shipley, G. L., Vandesompele, J., & Wittwer, C.T. 2009. The MIQE guidelines: minimum information for publication of quantitative real-time PCR experiments. *Clinical chemistry*. 55, 611-622. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2008.112797>
- Chaloner, G.L., Harrison, T.G., Coyne, K.P., Aanensen, D.M., Birtles, R.J. 2011. Multilocus sequence typing of *Bartonella henselae* in the United Kingdom indicates that only a few, uncommon sequence types are associated with zoonotic disease. *Journal of clinical microbiology*. 49, 2132-7. <https://doi.org/10.1128/JCM.00275-11>
- Cicuttin, G. L., Brambati, D. F., De Gennaro, M. F., Carmona, F., Isturiz, M. L., Pujol, L. E., Belerenian, G. C., Gil, H. 2014. *Bartonella* spp. in cats from Buenos Aires, Argentina. *Veterinary Microbiology*. 168, 225–228. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2013.10.016>
- Cruz, T.N.A.O., Gonçalves, L.R., Furquim, M.E.C., André, M.R., Munhoz, A.D., Carlos, R.S.A., Silva, F.L. 2022 Threat under cats' claws: Molecular detection and risk factors for zoonotic *Bartonella* species in blood and claw samples from cats in Brazil. *Acta tropica*. 1, 106496. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2022.106496>
- do Amaral, R.B., Cardozo, M.V., Varani, A.M., Gonçalves, L.R., Furquim, M.E.C., Dias, C.M., Santana, M.S., de Assis, W.O., da Silva, A.R., Herrera, H.M., André, M.R. 2022. *Bartonella machadoae* sp. nov. isolated from wild rodents in the Pantanal wetland. *Acta Tropica*. 229, 106368. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.106368>
- Drummond, M.R., Lania, B.G., Diniz, P.P.V.P., Gilioli, R., Demolin, D.M.R., Scorpio, D.G., Breitschwerdt, E.B., Velho, P.E.N.F. 2018. Improvement of *Bartonella henselae* DNA Detection in Cat Blood Samples by Combining Molecular and Culture Methods. *Journal of clinical microbiology*. 25, e01732-17. <https://doi.org/10.1128/JCM.01732-17>
- 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, 273-281. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2007.01.010>

Ewing, B., Green, P. 1998. Base-calling of automated sequencer traces using phred. II. Error probabilities. *Genome research*. 8, 186-194.

Ewing, B., Hillier, L., Wendl, M.C., Green, P. 1998. Base-calling of automated sequencer traces using phred. I. Accuracy assessment. *Genome research*. 8, 175-185. <https://doi.org/10.1101/gr.8.3.175>

Favacho, A.R., Roger, I., Akemi, A.K., Pessoa, A.A.Jr, Varon, A.G., Gomes, R., Godoy, D.T., Pereira, S., Lemos, E.R. 2014. Molecular identification of *Bartonella henselae* in a seronegative cat scratch disease patient with AIDS in Rio de Janeiro, Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 56, 363-5. <https://doi.org/10.1590/s0036-46652014000400017>

Furquim, M.E.C., do Amaral, R., Dias, C.M., Gonçalves, L.R., Perles, L., Lima, C.A.P., Barros-Battesti, D.M., Machado, R.Z., André, M.R. 2021. Genetic diversity and Multilocus Sequence Typing Analysis of *Bartonella henselae* in domestic cats from Southeastern Brazil. *Acta Tropica*. 222, 106037. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2021.106037>

Gil, H., Escudero, R., Pons, I., Rodríguez-Vargas, M., García-Esteban, C., Rodríguez-Moreno, I., García-Amil, C., Lobo, B., Valcárcel, F., Pérez, A., Jiménez, S., Jado, I., Juste, R., Segura, F., Anda, P. 2013. Distribution of *Bartonella henselae* variants in patients, reservoir hosts and vectors in Spain. *PLoS One*. 9, e68248. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0068248>

Guptill, L. 2010. Bartonellosis. *Veterinary microbiology*. 140, 347-359. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2009.11.011>

Guy, L., Nystedt, B., Sun, Y., Näslund, K., Berglund, E.C., Andersson, S.G. 2012. A genome-wide study of recombination rate variation in *Bartonella henselae*. *BMC evolutionary biology*. 11, 65. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-12-65>

Huson, D.H., Bryant, D. 2006. Application of phylogenetic networks in evolutionary studies. *Molecular biology and evolution*. 23, 254-267. <https://doi.org/10.1093/molbev/msj030>

Huwlyer, C., Heiniger, N., Chomel, B. B., Kim, M., Kasten, R. W., Koehler, J. E. 2017. Dynamics of Co-Infection with *Bartonella henselae* Genotypes I and II in Naturally Infected

Cats: Implications for Feline Vaccine Development. *Microbial Ecology*. 74, 474–484. <https://doi.org/10.1007/s00248-017-0936-8>

Iredell, J., Blanckenberg, D., Arvand, M., Grauling, S., Feil, E.J., Birtles, R.J. 2003. Characterization of the natural population of *Bartonella henselae* by Kmultilocus sequence typing. *Journal of clinical microbiology*. 41, 5071-5079. <https://doi.org/10.1128/JCM.41.11.5071-5079.2003>

Karrer, E.E., Lincoln, J.E., Hogenhout, S., Bennett, A.B., Bostock, R.M., Martineau, B., Lucas, W.J., Gilchrist, D.G., Alexander, D. 1995. In situ isolation of mRNA from individual plant cells: creation of cell-specific cDNA libraries. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 25, 3814-8. <https://doi.org/10.1073/pnas.92.9.3814>

Keim, P., Price, L.B., Klevytska, A.M., Smith, K.L., Schupp, J.M., Okinaka, R., Jackson, P.J., Hugh-Jones, M.E. 2000. Multiple-locus variable-number tandem repeat analysis reveals genetic relationships within *Bacillus anthracis*. *Journal of bacteriology*. 182, 2928-2936. <https://doi.org/10.1128/JB.182.10.2928-2936.2000>

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 : journal of molecular epidemiology and evolutionary genetics in infectious diseases*. 12, 894-904. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2012.03.005>

Kosoy, M., McKee, C., Albayrak, L., Fofanov, Y. 2017. Genotyping of *Bartonella* bacteria and their animal hosts: current status and perspectives. *Parasitology*. 145, 543-562. <https://doi.org/10.1017/S0031182017001263>

Kuramae-Izioka, E.E. 1997. A rapid, easy and high yield protocol for total genomic dna isolation of *Colletotrichum gloeosporioides* and *Fusarium oxysporum*. *Revista Unimar*. 19, 683-689.

Lashnits, E., Maggi, R., Jarskog, F., Bradley, J., Breitschwerdt, E., Frohlich, F. 2021. Schizophrenia and *Bartonella* spp. *Infection: A Pilot Case-Control Study. Vector borne and Zoonotic Diseases*. 21, 413–421. <https://doi.org/10.1089/vbz.2020.2729>

- Li, W., Raoult, D., Fournier, P.E. 2007. Genetic diversity of *Bartonella henselae* in human infection detected with multispacer typing. *Emerging infectious diseases*. 13, 1178-1183. <https://doi.org/10.3201/eid1308.070085>
- Librado, P., Rozas, J., 2009. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics* 25. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp187>.
- Lins, K.A., Drummonda, M.R., Velho, P.E.N.F. 2019. Manifestações cutâneas das bartoneloses. *Anais Brasileiros de Dermatologia*. 94 25 <https://doi.org/10.1016/j.abd.2019.09.024>
- List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature, 1997. Genus *Bartonella*. <https://lpsn.dsmz.de/genus/bartonella> (acessado em 10 de junho de 2022).
- Lu, M., Tang, G., Ren, Z., Zhang, J., Wang, W., Qin, X., & Li, K. 2022. *Ehrlichia*, *Coxiella* and *Bartonella* infections in rodents from Guizhou Province, Southwest China. *Ticks and tick-borne diseases*. 13, 101974. Advance online publication. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2022.101974>
- 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, 2651-2655. <https://doi.org/10.1128/JCM.43.6.2651-2655.2005>
- Maria, H.K.S., Gazzoli, E., Drummond, M.R., Almeida, A.R., Santos, L.S.D., Pereira, R.M., Tresoldi, A.T., Velho, P.E.N.F. 2022. Two-year history of lymphadenopathy and fever caused by *Bartonella henselae* in a child. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*. 16, e15. <https://doi.org/10.1590/S1678-9946202264015>.
- Mietze, A., Morick, D., Köhler, H., Harrus, S., Dehio, C., Nolte, I., Goethe, R. 2011. Combined MLST and AFLP typing of *Bartonella henselae* isolated from cats reveals new sequence types and suggests clonal evolution. *Veterinary Microbiology*, 148, 238–245. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2010.08.012>
- Okaro, U., Addisu, A., Casanas, B., Anderson, B. 2017. *Bartonella* Species, an Emerging Cause of Blood-Culture-Negative Endocarditis. *Clinical microbiology reviews*. 30, 709-746. <https://doi.org/10.1128/CMR.00013-17>

Pedrassani, D., Biolchi, J., Gonçalves, L.R., Mendes, N.S., Zanatto, D.C.S., Calchi, A.C., Machado, R.Z., André, M.R. 2019. Molecular detection of vector-borne agents in cats in Southern Brazil. *Revista brasileira de parasitologia veterinária*. 28, 632-643. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612019077>

Pitassi, L.H., de Paiva Diniz, P.P., Scorpio, D.G., Drummond, M.R., Lania, B.G., Barjas-Castro, M.L., Gilioli, R., Colombo, S., Sowya, S., Breitschwerdt, E.B., Nicholson, W.L., Velho, P.E. 2015. *Bartonella* spp. bacteremia in blood donors from Campinas, Brazil. *PLoS neglected tropical diseases*. 15, e0003467. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003467>

Public databases for molecular typing and microbial genome diversity, 1998. *Bartonella henselae*. <https://pubmlst.org/organisms/Bartonella-henselae> (acessado em 10 de junho de 2022)

Raimundo, J.M., Guimarães, A., Amaro, G.M., da Silva, A.T., Botelho, C., Massard, C.L., de Lemos, E., Favacho, A., Baldani, C.D. 2019. Molecular Survey of *Bartonella* Species in Shelter Cats in Rio De Janeiro: Clinical, Hematological, and Risk Factors. *The American journal of tropical medicine and hygiene*. 100, 1321-1327. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.18-0585>

Sanger, F., Nicklen, S., Coulson, A.R. 1977. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 74, 5463-5467. <https://doi.org/10.1073/pnas.74.12.5463>

Souza, A.M., De Almeida, D.N.P., Guterres, A., Gomes, R., Favacho, A.R.M., Moreira, N. S., Maia, L.M.P., Rozental, T., Torres, R. de A., Cerqueira, A.M.F., Lemos, E.R.S., Pereira, A.N.R. 2010. Bartonelose: análise molecular e sorológica em gatos do Rio de Janeiro Brasil. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*. 17,7-11. <http://dx.doi.org/10.4322/rbcv.2014.135>

Stepanić, M., Duvnjak, S., Reil, I., Špičić, S., Kompes, G., Beck, R. 2019. First isolation and genotyping of *Bartonella henselae* from a cat living with a patient with cat scratch disease in Southeast Europe. *BMC Infectious Diseases*. 19, 299. <https://doi.org/10.1186/s12879-019-3929-z>

Velho, P.E., Pimentel, V., Del Negro, G.M., Okay, T.S., Diniz, P.P., Breitschwerdt, E.B. 2007. Severe anemia, panserositis, and cryptogenic hepatitis in an HIV patient infected

with *Bartonella henselae*. *Ultrastruct Pathol.* 31, 373-7.
<https://doi.org/10.1080/01913120701696601>. PMID: 18098054.

Yuan, C., Zhu, C., Wu, Y., Pan, X., Hua, X. 2011. Bacteriological and molecular identification of *Bartonella* species in cats from different regions of China. *PLoS neglected tropical diseases.* 5, e1301. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001301>

Zhou, Z., Alikhan, N. F., Sergeant, M. J., Luhmann, N., Vaz, C., Francisco, A. P., Carriço, J. A., Achtman, M. 2018. GrapeTree: visualization of core genomic relationships among 100,000 bacterial pathogens. *Genome research.* 28, 1395-1404.
<https://doi.org/10.1101/gr.232397.117>