



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN Y DE LA
SALUD ANIMAL

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

Detección de *Bartonella spp.* en coatíes (*Nasua narica*) y mapaches (*Procyon lotor*) en
Parque-Museo La Venta, Villahermosa, Tabasco, México

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE
MAESTRA EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN DE LA SALUD ANIMAL

Presenta:

Anahí García Baltazar

Tutor:

Dr. Álvaro Aguilar Setién

UIM Inmunología, Centro Médico SXXI IMSS

Comité Tutoral:

M. en C. Claudia Irais Muñoz García

Universidad Autónoma Metropolitana, Xochimilco

Dr. Rafael Ojeda Flores

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Universidad Nacional Autónoma de México

Ciudad Universitaria Ciudad de México

Marzo 2020



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Agradecimientos institucionales

Al Posgrado en Ciencias de la Producción de la Salud Animal de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Al Consejo Nacional y Tecnología, por la beca otorgada.

Al Instituto Mexicano del Seguro Social, por el financiamiento para la realización del proyecto (R-2017-785-068) así como el apoyo para la estancia en la Universidad de Davis, California.

A mi tutor, Dr. Álvaro Aguilar Setién, por aceptarme como su alumna y permitirme trabajar en el laboratorio, por la confianza, paciencia, compartir su conocimiento y la gran pasión por la ciencia.

A mi comité tutorial, Dra. Claudia Muñoz y al Dr. Rafael Ojeda por guiarme en la realización del trabajo, sus aportaciones, paciencia y la vocación por la enseñanza.

Al grupo de trabajo durante la captura en Tabasco, al Dr. Emilio Rendón por todo el conocimiento, la paciencia, profesionalismo y principalmente la confianza durante todo este tiempo, a la Dra. Claudia Muñoz por su apoyo en la realización del escrito de este trabajo pero también durante el muestreo. A la Dra. Claudia Villanueva, Dr. Rafael Ávila y Dra. Alba, muchas gracias por compartir sus conocimientos y hospitalidad, finalmente a los alumnos que nos apoyaban durante las capturas y aprendíamos a la par.

A mis compañeros de trabajo de la Unidad de Investigación Médica en Inmunología, Centro Médico Siglo XXI, Mony, Memo, Martha, Judith, Toledo, Cirani, Cenia, Mariem por todo el apoyo y los conocimientos compartidos. A la Dra. Nidia Aréchiga por permitirme entrar al mundo de la ciencia, por el apoyo y confianza.

Al Dr. Bruno Chomel por brindarme la oportunidad de realizar una estancia en su laboratorio, *Department of Population Health And Reproduction, School of Veterinary Medicine, Davis, California*, por compartir el conocimiento sobre esta curiosa y compleja bacteria *Bartonella*, a David Jaffe por la capacitación y asesoramiento en el laboratorio. A Kimie y Lucero que realizaron mi estancia más divertida y por su hospitalidad en California.

Agradecimientos personales:

A mi familia nuclear, mis padres Zoila y Armando, muchas gracias por su apoyo incondicional, la paciencia y todo el cariño que me han brindado, por enseñarme a ser constante y luchar por mis sueños y mi libertad.

A mis hermanos, Armando y Faby, muchas gracias por el amor, por nuestras travesuras, por su apoyo. A mi sobrino Uri, que me llena de amor, ternura, motivación y de volver a ser curiosa con la vida, y a Trixie por los paseos, siestas y su amor incondicional perruno.

A mis tíos, primos que siempre andan pendiente de mí a pesar de la distancia, pero cuando los visito me hacen sentir en casa, a mis abuelitas y a mi nana por enseñarme amar a la naturaleza y a ser fuerte.

A mi segunda familia que son mis amigos, no sé qué haría sin ustedes, muchas gracias por todas las risas, las salidas, por el apoyo, por las pláticas terapéuticas, por nuestras aventuras, me gusta ver como hemos crecido y les deseo el mejor desarrollo personal y académica, los admiro mucho.

Amigos jarochos, que nos conocemos desde la secundaria: Manuel, Andrea, Valeria, Selva, Aldo, Ángel.

Amigos Uameros: Areli, André, Eder, Daniel, Emmanuel, Emma Jr., Luis, Nadia, Liz, Paco, Osvaldo, Roberto, Laura, Ivonne, Joaquín, somos iguales de despistados y con un gran corazón.

A Cenía y Mariem, por ser tan diferentes las tres, pero nos complementamos tan bien, gracias por las risas, las quiero.

A Malva y a Darcy, por hacer las clases más divertidas, y saber que puedo contar con su apoyo fuera del aula.

A mi tercera familia, mi compañero de tazas de café, Gerardo, por el crecimiento personal y la admiración mutua, a mis críos, Zeldita y Berlioz, muchas gracias por todo el apoyo, el amor, la libertad y la paz que me transmiten.

A los animales que son fuente de inspiración, motivación para que este en este camino.

INDICE

1. Introducción	6
1.1 Infección	10
1.2 Patogenicidad	11
1.3 Parasitismo eritrocitario	11
1.4 Infección a las células endoteliales	12
1.5 Invasión a las células hospederas	12
2. <i>Bartonella</i> enfermedad infecciosa emergente	14
2.1 Antecedentes de <i>Bartonella</i> en carnívoros	15
2.2 Coatíes	16
2.3 Mapaches	17
3. Justificación	19
4. Hipótesis	19
5. Objetivo general	19
5.1 Objetivo específico	19
6. Material y métodos	20
6.1 Sitio de estudio y colección de muestras	20
6.2 Extracción de ADN y detección por PCR.	22
6.3 Análisis estadístico	23
7. Resultados	23
8. Discusión	26
9. Referencias	29

Resumen:

Bartonella es un patógeno zoonótico que parasita una amplia gama de especies de mamíferos. Los carnívoros son reconocidos como reservorios de vida silvestre para muchas especies de *Bartonella*. Esta investigación tuvo como objetivo detectar la presencia de *Bartonella* en coatíes (*Nasua narica*) y mapaches (*Procyon lotor*), del Parque Zoológico "Parque Museo de La Venta". Examinamos 87 coatíes y 30 mapaches del Parque, ubicado en la ciudad de Villahermosa, estado de Tabasco, México, durante diciembre de 2016 y agosto de 2017. La detección fue realizada por PCR dirigida a una región del gen de citrato sintasa (*gltA*), los resultados mostraron tres coatíes y un mapache fueron positivos para *Bartonella* con los iniciadores BhCS.781p y BhCS1137.n. Es el primer reporte de *Bartonella* spp. en coatíes (*Nasua narica*), y la prevalencia en mapaches, fue baja en contraste con los hallazgos anteriores de mapaches en EE. UU.

Palabras claves: *Bartonella*, prociónidos, *Procyon lotor*, *Nasua narica*.

Abstract:

Bartonella is a zoonotic pathogen that parasitizes a wide range of mammalian species. Carnivores are recognized as a potential wildlife reservoir for many species of *Bartonella*. This research aims to detect the presence of *Bartonella* in coatis (*Nasua narica*) and raccoons (*Procyon lotor*) at Zoological at Park "Parque Museo de La Venta". We examined 87 coatis (*Nasua narica*) and 30 raccoons (*Procyon lotor*) of the Park, located in Villahermosa City, Tabasco State, Mexico between December 2016 and August 2017. Screening by PCR targeting a region of the citrate synthase gene (*gltA*), the results showed that three coatis and one raccoon were positives to *Bartonella* with the primers BhCS.781p and BhCS1137.n. It is the first report of *Bartonella* spp. in coatis (*Nasua narica*), and the prevalence was low in contrast with previous findings raccoon samples in USA.

Keywords: *Bartonella*, procyonids, *Procyon lotor*, *Nasua narica*.

1. Introducción

Las bacterias del género de *Bartonella* son microorganismos causantes de enfermedades re-emergentes, tienen distribución mundial, y poseen un gran rango de hospederos, los cuales van desde mamíferos, incluidos los humanos, animales domésticos y animales silvestres (Breitschwerdt et al., 2010; Kosoy et al. 2010). Este grupo de bacterias gramnegativas son intracelulares con forma de bacilos, de tamaño menor a 3µm de diámetro, son transmitidas por vectores, crecen a temperaturas entre 22 – 37°C, lo que refleja su capacidad de sobrevivir y replicarse en vectores ectotérmicos como los artrópodos, así como endotérmicos, tal es el caso de los mamíferos quienes son sus hospederos vertebrados (Chomel et al., 2009; Deng 2012a).

La clasificación taxonómica del género *Bartonella* ha cambiado desde la descripción de la primera especie *B. bacilliformis*, en 1913. Anteriormente, la familia Bartonellaceae tenía cuatro géneros: *Bartonella*, *Eperythrozoon*, *Grahamella* y *Haemobartonella*. Las familias Bartonellaceae, Rickettsiaceae y Chlamydozoaceae, fueron clasificadas dentro del orden Rickettsiales (Peters & Wigand, 1955). Después los miembros del orden Rickettsiales se definieron como parásitos intracelulares obligados e inmóviles, que únicamente podrían crecer en sus hospederos o en tejidos vivos (Buchanan & Buchanan, 1938; Peters & Wigand, 1955). El género *Bartonella* puede crecer en medios de cultivo (Brenner et al., 1993) y *B. bacilliformis*, era el único miembro móvil del orden Rickettsiales (Brenner et al., 1991).

Mediante análisis de secuencias del gen 16S rRNA, se determinó que los géneros *Rochalimaea* y *Bartonella* estaban estrechamente relacionados con los miembros del subgrupo α-2 de la clase Proteobacteria (Brenner et al., 1991). Con estos hallazgos, fueron reclasificadas el género *Rochalimaea* dentro del género *Bartonella*, y se sugirió retirar la familia Bartonellaceae del orden Rickettsiales. *Bartonella* está filogenéticamente cerca de las Rickettsias y bacterias de las especies *Brucella*, *Agrobacterium* y *Afipia* (Weisburg et al., 1985; Brenner et al., 1993). Terminando la clasificación que la familia Bartonellaceae únicamente contiene al género *Bartonella* (Brenner et al., 1993).

Actualmente, las especies del género *Bartonella*, están definidas como bacterias hemotróficas, gramnegativas, con forma de bacilos, pertenecen a la clase alfa subgrupo II, del phylum proteobacteria, orden Rhizobiales (Chomel et al., 2009; Deng 2012a).

La primera especie de *Bartonella* descrita fue *B. bacilliformis*, nombrada así por el microbiólogo peruano Alberto Barton, es endémica del sur de América. La bartonellosis humana causada por *B. bacilliformis* se transmite por moscas de arena del género *Lutzomyia* (*Diptera: Psychodidae*). *Bartonella* se caracteriza por producir anemia hemolítica, fiebre de Oroya o enfermedad de Carrion, y Verruga peruana. En el caso de la verruga peruana es un trastorno sistémico con lesiones cutáneas verrugosas que resultan de la proliferación de células endoteliales. La enfermedad de Carrion se llama así por el estudiante de medicina peruano Daniel Carrion, quien en 1885 se inoculó con material de una lesión cutánea de verruga peruana, documentó los signos que presentó, y posteriormente falleció (Cueto, 1996; Chatterjee et al. 2014).

La prevalencia de infecciones de *Bartonella* es mayor en zonas con clima cálido, con una mayor precipitación y proximidad a la costa (Boulouis, 2005, Kosoy y Goodrich, 2019). Actualmente se han descrito alrededor de 30 a 40 especies y subespecies del género *Bartonella*, de las cuales al menos 13 se consideran zoonóticas (Vayssier-Taussat et al. 2009; Kosoy et al. 2012, Buffet et al. 2013). Tres especies son responsables de la mayoría de las infecciones en humanos: *B. bacilliformis*, *B. quintana* y *B. henselae*, las primeras dos especies son patógenos específicos de humanos debido a que este último es su único hospedero mamífero, dichas especies producen la enfermedad de Carrión y fiebre de las trincheras, respectivamente (Ver cuadro 1).

Estos agentes desarrollan una fase tisular secundaria que puede asociarse con lesiones vasculoproliferativas; y en el caso de *B. henselae* y *B. quintana* provocan angiomatosis bacilar con fiebre intermitente y linfadenopatía regional autolimitada (Minnick & Battisti, 2009; Kaiser et al., 2011; Rossi et al., 2015). Las personas inmunocomprometidas infectadas pueden desarrollar otras manifestaciones clínicas, que incluye hepatomegalia, esplenomegalia y endocarditis (Foucault et al., 2004; Edouard & Raoult, 2010).

Cuadro 1. Hospederos, vectores, especies de *Bartonella* y signos clínicos.

Especie de <i>Bartonella</i>	Reservorio primario	Vector	Reservorio accidental	Signos clínicos
Específicos -humanos				
<i>Bartonella bacilliformis</i>	Humano	Mosca de la arena (<i>Lutzomia verrucarum</i>)	Ninguno	Enfermedad de Carrion, fiebre de oroya, verruga peruana
<i>Bartonella quintana</i>	Humano	Piojo de cuerpo (<i>Pediculus humanus</i>)	Gato, perro	Endocarditis, fiebre se las trincheras, angiomatosis bacilar, bacteremia persistente.
Zoonótico				
<i>Bartonella clarridgeiae</i>	Gato (<i>Felis catus</i>)	Pulga de gato (<i>Ctenocephalides felis</i>)	Humano, perro	Enfermedad del rasguño de gato, endocarditis
<i>Bartonella melophagi</i>	Ovejas (<i>Ovis aries</i>)	Falsa garrapata de los ovino (<i>Melophagus ovinus</i>)	Humano	Pericarditis, fatiga crónica
<i>Bartonella elizabethae</i>	Ratas (<i>Rattus norvegicus</i>)	Pulga de rata oriental (<i>Xenopsylla cheopis</i>)	Humano, perro	Endocarditis, neuroretinitis
<i>Bartonella grahamii</i>	Ratones silvestres (<i>Apodemus Clerhrionomy glareolus</i>), <i>Microtus flavicollis</i>)	Pulga de roedor (<i>Ctenophthalmus nobilis</i>)	Humano	Neuroretinitis
<i>Bartonella henselae</i>	Gato (<i>Felis catus</i>)	Pulga de gato (<i>Ctenocephalides felis</i>)	Humano, perro, caballo, animales marinos	Enfermedad por rasguño de gato, angiomatosis bacilar, endocarditis, neuroretinitis, bacteremia con

				fiebre, peliosis bacilar
<i>Bartonella koehlerae</i>	Gato	Pulga de gato (<i>Ctenocephalides felis</i>)	Humano, perro	Endocarditis
<i>Bartonella vinsonii subsp. arupensis</i>	Ratón (<i>Peromyscus leucopus</i>)	Garrapata*	Humano	Bacteremia con fiebre
<i>Bartonella vinsonii subsp. berkhoffi</i>	Perro (<i>Canis familiaris</i>) Coyote (<i>Canis latrans</i>)	Garrapata de perro (<i>Rhipicephalus sanguineus</i>)	Humano, gatos	Endocarditis
<i>Bartonella washoensis</i>	Ardilla terrestre (<i>Spermophilus beecheyii</i>)	Pulgas (<i>Oropsylla montana</i>)	Humano, perro	Miocarditis, endocarditis
<i>Bartonella alsatica</i>	Conejo (<i>Oryctolagus cuniculus</i>)	Pulgas de conejo (<i>Spilopsyllus cuniculi</i>)	Humano	Endocarditis
Específico animal				
<i>Bartonella birtlesii</i>	Ratón			
<i>Bartonella bovis</i>	Ganado doméstico, gato	Mosca de los cuernos (<i>Haematobia sp.</i>)		Endocarditis
<i>Bartonella capreoli</i>	Corzo (<i>Capreolus capreolus</i>)			
<i>Bartonella chomelii</i>	Ganado	Falsa garrapata de los ovino (<i>Melophagus ovinus</i>)		
<i>Bartonella doshiae</i>	Ratón			
<i>Bartonella peromysci</i>	Cierva, ratón			
<i>Bartonella phoceensis</i>	Rata			
<i>Bartonella rattimassiliensis</i>	Rata			
<i>Bartonella schoenbuchensis</i>	Corzo (<i>Capreolus capreolus</i>)	Mosca de venado (<i>Lipoptena cervi</i>)		
<i>Bartonella talpae</i>	Topo			
<i>Bartonella taylorii</i>	Ratón			
<i>Bartonella tribocorum</i>	Rata			
<i>Bartonella vinsonii subsp. vinsonii</i>	Topo	Ácaro de oído (<i>Otodectes cynotis</i>)		

		Pulga de roedor (<i>Ctenophthalmus nobilis</i>)
<i>Bartonella rochalimae</i>	Perro, zorros rojos (<i>Vulpes vulpes</i>) lobos (<i>Canis lupus</i>)	Pulgas (<i>Pulex irritans</i>) (<i>Pulex simulans</i>)

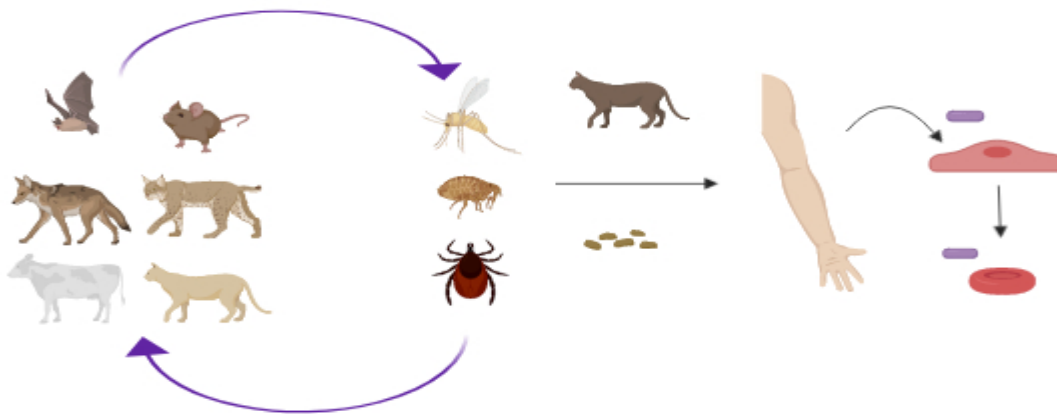
Cuadro elaborado a partir de los estudios de : Dehio 2005, Maggi et al., 2006, Chomel et al., 2009, Breitschwerdt 2014; Maillard et al 2004; Ying Bai et al., 2016.

*Se sospecha el vector.

1.1 Infección

La inoculación de la bacteria al hospedero parece estar mediada principalmente por la introducción de heces del vector infectado en cortes o rasguños en la piel. La bacteria invade principalmente las células endoteliales y glóbulos rojos de los mamíferos, pero también pueden colonizar tejidos altamente vascularizados como el hígado y el bazo durante los primeros días de infección. Los vectores se infectan al ingerir sangre contaminada proveniente del hospedero vertebrado (Figura 1) (Pitassi et al., 2015; Maggi et al., 2011, Deng et al., 2012b).

Figura 1. Ciclo de transmisión y colonización de *Bartonella*



1.2 Patogenicidad

Bartonella para evadir la respuesta inmune del hospedero utiliza sus lipopolisacáridos (LPS). El LPS de *Bartonella henselae* tiene una estructura áspera profunda, carece de la fracción O y contiene un lípido A pentaacilado inusual con un ácido graso de cadena larga (Zahringer et al., 2004). La composición inusual de ácidos grasos hace que la endotoxina de *Bartonella* sea al menos 1000 veces menos potente en la activación del receptor Toll-like (TLR) 4 (medida por la producción de IL-8). Lo anterior contribuyen al establecimiento y mantenimiento de la infección persistente, ya que el principal componente de la superficie de la bacteria es subinflamatoria y antagonista a la respuesta inmune innata del hospedero (Minnick & Battisti, 2009).

1.3 Parasitismo eritrocitario

La infección por *B. bacilliformis* puede causar una disminución aguda del hematocrito, mientras que *B. quintana* y *B. henselae* causan bacteriemia intraeritrocítica crónica sin anemia. *B. bacilliformis* y, posiblemente *B. henselae*, secretan un factor hidrofóbico (deformina), que perfora e invagina las membranas de las células eritrocitarias (Deng et al., 2012b)

Basado en el trabajo realizado con *B. tribocorum*, los sistemas de secreción tipo IV Trw pueden ser utilizados como adhesinas de eritrocitos por *B. quintana* y *B. henselae*, y en *B. bacilliformis* la bacteria usa su motilidad mediada por flagelos para parasitar a los eritrocitos (Seubert et al., 2003). El gen IalB, está asociado con la invasión de eritrocitos y se expresa al máximo bajo condiciones parecidas a los artrópodos (Coleman et al. 2001, Chenoweth et al., 2004).

1.4 Invasión a las células endoteliales

Bartonella posee proteínas de membrana externa similares a YadA (adhesinas afimbriales), designadas adhesinas autotransportadoras triméricas (TAA) basadas en su estructura y función en otros patógenos bacterianos (Franz & Kemp, 2011)

El TAA de *B. henselae* (BadA) es una adhesina para células endoteliales (CE) a través de integrinas $\beta 1$ y se une a varias proteínas de la matriz extracelular. BadA también inhibe la fagocitosis por los macrófagos J774 y provoca la autoagregación (Linke et al., 2006).

Los TAA de *B. quintana* (proteínas de membrana externa expresadas de forma variable) se unen a colágeno IV, causa la autoagregación y son esenciales para establecer bacteremia (Zhang et al., 2004). La internalización de *B. henselae* implica una captación invasiva o endocítica. *Bartonella* anula o inhibe la fusión de lisosomas con el fagosoma, creando una vacuola especial, denominada vacuola que contiene *Bartonella* (Minnick & Battisti, 2009).

1.5 Invasión a la célula hospedera

B. quintana y *B. henselae*, poseen una secreción de tipo IV sistema (T4SS) para la entrega de efectores Bep (Proteínas efectoras *Bartonella*) La administración de Beps a través de VirB / VirD4 T4SS es responsable del citoesqueleto de las células endoteliales, activación de NF- κ B e inhibición de la apoptosis (Linke et al., 2006).

BepA participa en la localización de membrana células endoteliales y la inhibición de la apoptosis. BepG mejora la formación de invasomas en células endoteliales a expensas de la vía endocítica. *Bartonella* adhesin A (BadA), el sistema Trw y la hemaglutinina posiblemente filamentosa actúan como adhesinas promisorias o específicas, mientras que el locus de virulencia (Vir) B / VirD4 sistema de secreción tipo IV modula una variedad de funciones de la célula huésped. BadA media la adherencia bacteriana a las células endoteliales y las proteínas de la matriz extracelular y desencadena la inducción de la programación del gen angiogénico (Franz and Kempf, 2011).

El sistema de secreción VirB / VirD4 de tipo IV es responsable, por ejemplo, de la inhibición de la apoptosis de la célula huésped, la persistencia bacteriana en los eritrocitos

y la germinación endotelial. El sistema Trw-conjugación de *Bartonella* spp. media la adherencia específica del hospedador a los eritrocitos. Las estructuras antigénicas o variables de fase (ejemplo: adhesinas) son factores de virulencia, esenciales para la colonización o la persistencia del patógeno en el hospedero. La variación de los apéndices superficiales puede dirigir el tropismo tisular y facilitar la adaptación a los cambios ambientales, como los que se encuentran en la transición entre el vector y el hospedero, ver figura 2 (Zhang et al., 2004, Franz & Kemp, 2011).

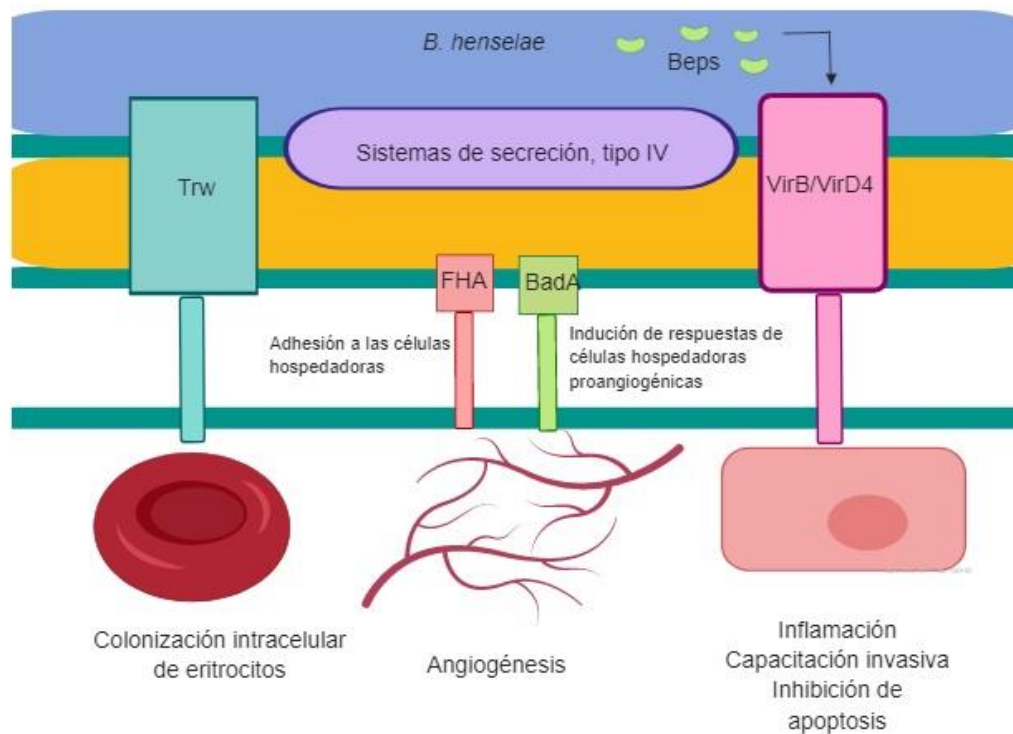


Figura 2. (Figura modificada de Franz y Kempf , 2011). Posibles interacciones de los factores de patogenicidad confirmados de *B. henselae*: el sistema Trw (efectores translocados), hemaglutinina filamentosa (FHA), BadA y el sistema de secreción tipo IV VirB / VirD4 (efectores translocados: Beps). Se puede suponer que BadA (y potencialmente FHA) aseguran un contacto estable con la superficie de la célula hospedera para una mayor interacción de las células huésped por el sistema de secreción de tipo IV y el sistema Trw. Abreviaturas: Beps: proteínas efectoras de Bartonella, BadA: adhesina A de *Bartonella*.

2. *Bartonella* enfermedad infecciosa emergente

Aproximadamente el 75% de las enfermedades infecciosas emergentes son zoonóticas, y el 54.3% son causados por bacterias o rickettsia. (Jones et al, 2008).

Varios factores consideran a *Bartonella* como agente de enfermedades infecciones emergentes, el debilitamiento del sistema inmunitario del hospedero asociado con la aparición de enfermedades inmunocomprometidas, trasplante de órganos, el aumento de la actividad al aire libre, que las personas tengan un bajo ingreso, el mejoramiento de herramientas y métodos para el diagnóstico, y la dispersión de *Bartonella* alrededor del mundo (Boulouis et al., 2005). Se ha incrementado el número de especies zoonóticas de *Bartonella*, transmitida por arañazos, mordedura de animales y artrópodos. Entre los patógenos, las especies de *Bartonella* podrían representar un peligro subestimado para la salud humana y animal (Kosoy 2019).

La mayoría de las enfermedades infecciosas emergentes, se originan en animales, principalmente en la vida silvestre el 72%. La vía de transmisión a menudo implica interacciones dinámicas entre las poblaciones de vida silvestre, ganado y personas en entornos que cambian rápidamente (Jones, 2008, Allen et al., 2017). El medio de transmisión de la vida silvestre a los humanos frecuentemente es por vectores o contacto directo con los reservorios (Loh et al 2015). La urbanización de áreas naturales se ha asociado con la aparición de enfermedades infecciosas. (Bai et al., 2016).

Las investigaciones exhaustivas en animales para la detección de especies de *Bartonella* comenzó a inicios de 1990's después de descubrir una o más especies de *Bartonella* que pueden causar la enfermedad del rasguño de gato en las personas. Por esta razón, la mayoría de los estudios estaban dirigidos a animales domésticos con limitaciones a los perros callejeros y gatos ferales. Los estudios en la detección, identificación y caracterización de *Bartonella* en animales silvestres, generalmente se enfocan en pequeños mamíferos roedores, y murciélagos, el equipo de trabajo del Dr. Chomel fueron pioneros en la investigación de *Bartonella* en carnívoros, desde entonces se han realizado numerosos estudios de vida silvestre en varias partes del mundo (Kosoy, 2019).

2.1 Antecedentes de *Bartonella* en carnívoros

Se han identificado infecciones por *Bartonella* spp. en diferentes especies de reservorios, actualmente se han extendido a miembros de siete órdenes diferentes de mamíferos, incluyendo: carnívora, primates, ungulata, rodentia, lagomorpha, insectívora y chiroptera (Boulouis, 2005). Los carnívoros se encuentran entre las especies que se adaptan bien a los entornos urbanos y periurbanos, facilitando la transmisión de enfermedades entre especies con animales domésticos y, potencialmente, con sus propietarios (Hwang y Gottdenker 2013). En un análisis (Kosoy 2019), que contaba con más de 170 estudios de *Bartonella* que cubren 51 especies de carnívoros, el 71% son positivos.

Los carnívoros son reservorios de una amplia variedad de especies de *Bartonella* (Chomel y Kasten, 2010), se han reportado varios trabajos, como el de Henn et al., (2009), quienes aislaron *B. rochalimae* de un zorro rojo (*Vulpes vulpes*) cerca de Paris, Francia, y de once mapaches (*Procyon lotor*) y dos coyotes (*Canis latrans*) en California, EU. Otro estudio en California evaluó 109 coyotes (*Canis latrans*), de los cuales 31 presentaron anticuerpos de *B. vinsonii subsp. berkhoffii* (Chang et al., 2000). Además, Chomel et al., (2004), encontraron anticuerpos contra *B. henselae* en lince (*Lynx rufus*) de EU con una seroprevalencia de 22.4%, y en lince de México de 33.3%. Finalmente un estudio en el norte de México informó la detección de *B. rochalimae* por PCR, la prevalencia en la mofeta encapuchada (*Mephitis macroura*) fue de 33.3%, zorro norteño (*Vulpes macrotis*) 13.3% y mofeta rayada (*Mephitis mephitis*) 12.5% (López-Peréz et al., 2017).

Dentro del orden Carnívora, existe la familia Procyonidae, que se caracteriza por incluir mamíferos plantígrados con 5 dedos en cada pie, con molares largos y adaptados para triturar el alimento; su nariz es generalmente puntiaguda y los ojos orientados al frente lo que los convierte en excelentes cazadores (Sampaio et al., 2001). En México existen los géneros de prociónidos: *Bassariscus* (*B. astutus* y *B. sumichrasti*), *Nasua* (*Nasua narica*), *Potos* (*Potos flavus*) y *Procyon* (*P. lotor* y *P. insularis*), los coatíes (*N. narica*) y mapaches (*P. lotor*) se consideran las especies más difundidas en el territorio, y en la mayoría de las ocasiones de manera simpátrica en la mayoría de los estados de la República Mexicana (Arroyo-Cabrales, et al., 2008) se muestra la distribución de los prociónidos en la figura 3.

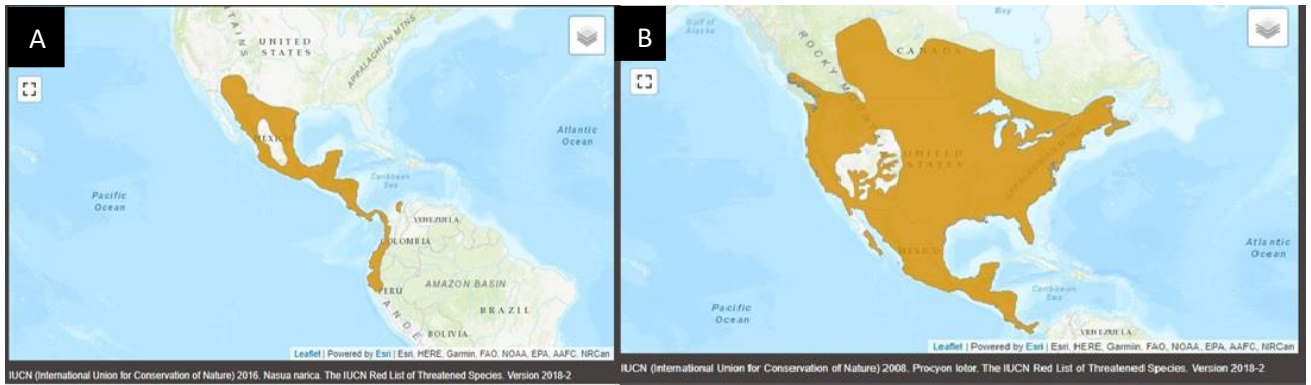


Figura 3. Distribución de prociónidos en México. A) Distribución de los coaties nariz blanca (*Nasua narica*), B) distribución de los mapaches (*Procyon lotor*)

2.2 Coatíes:

En México, el estudio de los prociónidos, y específicamente de los coatíes es importante debido a que a pesar de ser una especie categorizada como de bajo riesgo o de preocupación menor según la Lista Roja de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN) (Cuarón, et al., 2016), las poblaciones en México van decreciendo, debido a la reducción de sus hábitats y la caza para consumo. En los coatíes se han detectado varios patógenos como *Trypanosoma cruzi*, en un estudio en Villahermosa, Tabasco, en donde se analizó una población de coatíes y la prevalencia general fue de 9.05% (Martínez-Hernández et al 2014), otro estudio en la misma población mostró una frecuencia de anticuerpos contra *Trichinella* sp en verano de 21.66%, invierno 26.98% y de *Toxoplasma gondii* en verano 16.67% y en invierno 9.52% (Hernández-Ortiz 2016). En Monteverde, Costa Rica, se identificó una prevalencia de 35% de *Trypanosoma cruzi*, diagnosticada por PCR, la misma población de coatíes (*Nasua narica*), fueron positivos para *Mycoplasma* y *Babesia*, pero fueron negativos para *Baylisascaris*, *Anaplasma*, *Candidatus Neoehrlichia lotoris*, *Ehrlichia* y *Bartonella* (Mehrkens et al., 2013). En un estudio en el sur de Brasil, se detectaron hemoplasmas en dos coatíes sudamericanos cautivos (*N. nasua*), aparentemente sanos, durante una investigación de patógenos transmitidos por vectores, la sangre se sometió a un panel de PCR comercial en tiempo real para la detección de *Anaplasma* spp., *Babesia* spp., *Bartonella* spp., *Hepatozoon* spp., *Leishmania* spp., *Mycoplasma haemofelis*, *Candidatus Mycoplasma turicensis*, *Candidatus Mycoplasma*

haemominutum, *Neorickettsia risticii*, *Rickettsia rickettsii* y *Leptospira* spp., ambos coaties resultaron positivos para hemoplasmas y negativos para todos los demás patógenos analizados (Cubilla et al., 2017). Adicionalmente, un estudio en Pantanal, Brasil, investigaron la diversidad genética de *Bartonella* en mamíferos y ectoparásitos, dentro de los cuales se analizaron 31 coaties (*N. nasua*), mediante PCR tiempo real, todos los coaties fueron negativos (Sousa et al., 2018)

A pesar que se han detectado varios patógenos, los estudios realizados para diagnóstico de *Bartonella*, han sido negativos.

2.3 Mapaches

Por otro lado, los mapaches que están bajo la misma categoría que los coaties, de bajo riesgo o de preocupación menor según la Lista Roja de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN), mantienen sus poblaciones en aumento a pesar de la destrucción de sus hábitats, lo que ha favorecido que estén cada vez en mayor contacto con los asentamientos humanos (Timm, et al., 2016). Los mapaches se consideran buenos indicadores biológicos de algunas enfermedades que, circulan en su medio ambiente, por lo que la información derivada su diagnóstico puede aplicarse o utilizarse como indicadores de la salud humana y ecológica. Los mapaches (*Procyon lotor*) están tanto en entorno rurales como urbanos y se han utilizado como centinelas para controlar la salud ambiental, como la contaminación por metales pesados (Burger et al. 2022), y los riesgos de transmisión de enfermedades en humanos y animales domésticos (Burguer et al. 2002; Bischof y Rogers 2005; Rosatte et al. 2010). Es así, que los mapaches son una especie ideal porque son generalistas de hábitat ubicuos y, ocupan un lugar alto en las redes tróficas (Burguer y Gochfeld 2001, Burguer et al., 2002, Rainwater et al., 2017).

Los mapaches tienen parásitos como *Baylisacaris procyonis* (Yeitz et al. 2009) y son reservorios de enfermedades infecciosas como *Salmonella* (Jardine et al. 2011), y otros patógenos bacterianos entérico (Biegler et al. 1975), además son afectados por *Toxoplasma gondii*, (Dubey et al. 2007), virus del moquillo canino (CDV), adenovirus-1 canino (CAV-1),

parvovirus (Junge et al. 2007) leptospira (Burguer et al. 2002), y el virus de la rabia (Jones et al. 2003).

Se han descrito varias especies de *Bartonella* en mapaches (*Procyon lotor*) en Estados Unidos, como *B. henselae*, *B. koehlerae*, *B. rochalimae*, *Bartonella vinsonii subsp. berkhoffii* con una prevalencia de 21%, *B. rochalimae* prevalencia de 79%, *B. henselae*, (Henn et al., 2009, Hwang y Gottdenker, 2013; Bai et al 2016).

En México las infecciones por *Bartonella* en humanos o animales no son reportados anualmente en un sistema epidemiológico (Esteve–Gassent et al., 2014), sin embargo existen investigaciones que han descrito casos de *Bartonella* en humanos en México. Hay un informe que reporta Young et al (2010), el paciente de 61 años con una válvula aórtica porcina, se presentó con fiebre intermitente, diarrea, y fatiga. El hombre estuvo trabajando como voluntario en una misión de rescate de perros y gatos mexicanos, fue rasguñado por los gatos. Se demostró la presencia de *B. henselae* mediante una prueba de PCR tiempo real. Así mismo en la Ciudad de México se han registrado casos de *Bartonella*. En otro estudio se detectó mediante PCR la presencia de *B. quintana* en *Pediculus humanus humanus* colectado de indigentes y prisioneros (Alcántara et al., 2009). También se reportó la presencia de *B. henselae* mediante la prueba ELISA en un paciente con la enfermedad del arañazo de gato (Vega et al., 2010). En un estudio por Romero et al., 2016, se reportó un caso de angiomatosis bacilar en un paciente con VIH , el cual fue diagnosticado mediante la observación de microorganismos identificados como *Bartonella sp.* en una biopsia de una lesión nodular, no se llegó a determinar la especie de *Bartonella*.

3. Justificación

El género *Bartonella* infecta una amplia variedad de animales, está vinculado con un número cada vez mayor de enfermedades humanas y se transmiten a través de vectores artrópodos.

Existen pocos estudios sobre la distribución de *Bartonella* en carnívoros en México, la presencia de especies zoonóticas de *Bartonella spp.* en carnívoros silvestres plantea la cuestión de su posible riesgo para los seres humanos en ecosistemas urbanizados, como es el Parque Museo de La Venta. Estos animales pueden actuar como reservorio y podrían transmitir la bacteria a animales domésticos, seres humanos o ser afectados ellos mismos. Por lo tanto, es importante realizar estudios que proporcionen información acerca del género *Bartonella* en potenciales reservorios en México.

4. Hipótesis

Dado que diversos estudios han reportado prevalencias altas de *Bartonella* en carnívoros silvestres, sobretodo en prociónidos norteamericanos, es posible que la bacteria esté presente en prociónidos silvestres del sureste de México.

5. Objetivo principal

Detectar la presencia de *Bartonella* en las poblaciones de coatíes (*Nasua narica*) y mapaches (*Procyon lotor*), del Parque Museo de La Venta.

5.1 Objetivos específicos

- Detectar la prevalencia de *Bartonella* en dos poblaciones, de coatíes y mapaches, por técnicas moleculares.
- Identificar diferencias entre la presencia de *Bartonella* y algunas variables, como especie, edad, sexo y temporada en la que fueron capturados.

6. Material y métodos

6.1 Sitio de estudio y colección de muestras

Las capturas se realizaron en los años 2016 y 2017, en los meses de: agosto 2016, abril 2017 y agosto 2017 en el “Parque Museo de La Venta” localizado en la ciudad de Villahermosa, Tabasco, México (18°00′05.39′ N, 92°56′02.52′O, 17 m.a.s.l). El área es húmedo tropical con un rango de temperatura de 17.3° a 45°C y 80% humedad relativa. El parque tiene un área zoológica de aproximadamente de 2.5 hectáreas que está delimitada por un relicto de selva mediana de 4.3 h; el parque está delimitado por área urbana y la laguna “Las ilusiones” (Figura 4). Las poblaciones de mapaches (*Procyon lotor*) y coatíes de nariz blanca (*Nasua narica*) viven en semi-libertad dentro del parque (Figura 5).

Figura 4. Foto satelital del Parque Museo La Venta, obtenido de Google maps



Figura 5. Poblaciones libres de coatíes y mapaches en el Parque Museo de la Venta.



Se realizaron 3 muestreos en las fechas antes mencionadas, cada uno con una duración de 10 días. Para capturar los mapaches, se usaron 10 trampas de caja (No. 108, Tomahawk Live Trap Company, Tomahawk, Wisconsin, EU) que fueron cebadas con sardinas y colocadas todas las noches. Por las mañanas todas las trampas fueron revisadas y transportadas a un área designada para el manejo anestésico de los animales, toma de muestras y recuperación de los individuos. Todos los días, al finalizar el procesamiento de los mapaches, se capturaron los coatíes de nariz blanca atrayéndolos a una distancia aproximada de 2 a 4 metros con hojuelas de maíz para posteriormente disparar un dardo anestésico utilizando una cerbatana. Todo lo anterior siguiendo las indicaciones de Martínez-Hernández et al (2014), figura 6.

Ambas especies fueron sedadas utilizando 0.4 a 1.0 mL de ketamine al 10% (Pisa-Agropecuaria, Guadalajara, Mexico) y 0.1 a 0.2 mL de xilacina al 2% (Pisa-Agropecuaria, Guadalajara, Mexico). En todos los individuos capturados se colectó un volumen aproximado de 3ml de sangre completa, obtenida mediante la punción de la vena. La sangre

obtenida fue depositada en un tubo con EDTA. Se registraron datos como sexo, edad determinada mediante la identificación de caracteres sexuales como testículos descendidos, peso y longitud corporal, medidas fisiológicas (temperatura, frecuencia cardíaca y respiratoria), y las observaciones del examen físico. Los animales fueron liberados en el sitio de captura después de la recuperación total de la anestesia.



Figura 6. Mapache capturado y coatí en recuperación de anestesia.

6.2 Extracción de ADN y detección por PCR

Para la extracción de DNA, se usó 0.5 ml de sangre completa. El ADN fue extraído utilizando un kit comercial OMEGA E.Z.N.A Tissue DNA kit, siguiendo el protocolo del fabricante Whole Blood and Body Fluids.

Para la detección de *Bartonella*, se realizó una PCR punto final con los iniciadores BhCS.781p (GGGGACCAGCTCATGGTGG) y BhCS1137.n (AATGCAAAAAGAACAGTAAACA), dirigidos a una región del gen de citrato sintasa (gltA) (400 pb), específica para el género *Bartonella* (Norman et al. 1995; Chang et al. 2000).

Las cantidades utilizadas para cada reacción fueron: 1 μ l de DNA de la muestra, 1 U Taq DNA polimerasa (Invitrogen™) 2.5 μ l de 10 X PCR Buffer, 0.75 μ l de MgCl₂ (50 mM) , 0.5 μ l de desoxinucleótidos (10 mM each), 1 μ l de cada primer (1:100) , y agua grado molecular para llegar a un volumen final de 25 μ l.

Las condiciones del termociclador que se uso fueron: una etapa de desnaturalización inicial de 95 ° C durante 10 min, seguido de 40 ciclos de 94 ° C durante 30 s, 57 ° C durante 1 min, 72 ° C durante 2 min, con una etapa de extensión final única de 5 min a 72°C. ° C siguiendo los 40 ciclos.

Los productos de PCR se verificaron en geles de agarosa al 1.6%, teñidos con bromuro de etidio y se observaron bajo luz UV. Como control se utilizó ADN de *Bartonella henselae*, donado por el Doctor Bruno Chomel de *Department of Population Health And Reproduction, School of Veterinary Medicine, Davis, California*.

6.3 Análisis estadístico

Se realizó la prueba de chi cuadrada para determinar las diferencias estadísticas en la prevalencia de *Bartonella* debido a las variables: edad, sexo, especie de prociónimo, la temporada. El nivel general de significancia estadística fue el estándar del 5% (P<0.05), utilizando el programa OpeEpi.

7. Resultados

Un total de 117 de prociónidos, 87 coatíes y 30 mapaches, fueron capturados entre agosto de 2016 y agosto de 2017 (Cuadro 2)

Cuadro 2. Distribución de prociónidos capturados en el Parque Museo la Venta, Tabasco, Villahermosa, México.

Muestreo	Coatíes				Total
	Juvenil	Adulto	Macho	Hembra	
Verano 2016	9	21	12	18	30
Primavera 2017	5	21	14	12	26
Verano 2017	10	21	17	14	31
Total					87

Muestreo	Mapaches				Total
	Juvenil	Adulto	Macho	Hembra	
Verano 2016	1	8	4	5	9
Primavera 2017	5	3	5	3	8
Verano 2017	3	10	6	7	13
Total					30

Cuatro muestras de proci6nidos fueron positivas, tres coaties y un mapache, las cuales se observaron en el gel de agarosa con una banda de 400 pb, especfica para *Bartonella* spp (Figura 7)

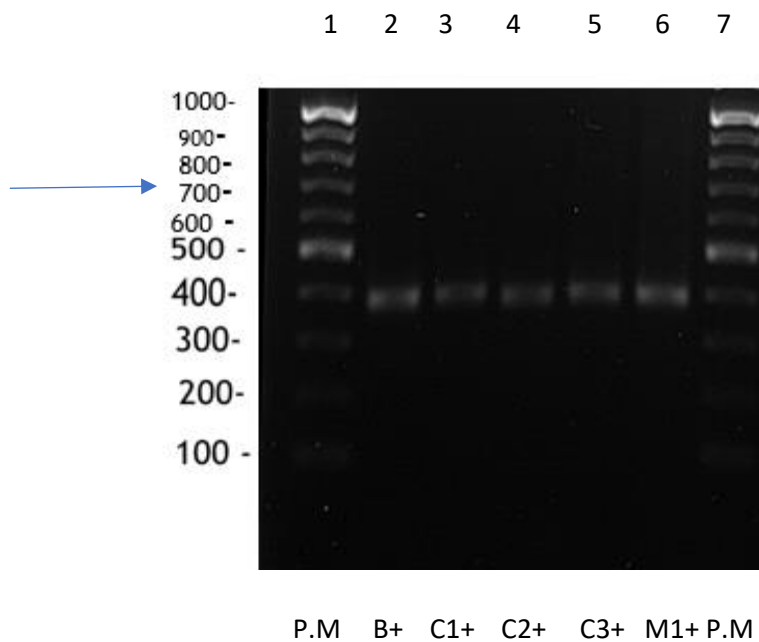


Figura 7. Gel de agarosa al 1.6%, teñido con bromuro, detección molecular de *Bartonella* spp, por amplificación del gen de citrato sintasa (gltA). Carril: 1 y 7, peso molecular (P.M); 2, control positivo B, *B. henselae*, 3 a 6, muestras de proci6nidos positivas. C: coati, M: mapache.

Comparando la prevalencia en los animales positivos, en cuanto la especie de proci6nidos, la prevalencia fue de 3.44% (I.C 95% 0.884 – 9.096) en coat6es, en comparaci6n con la prevalencia en mapaches que fue de 3.33% (I.C 95% 0.1664 – 15.36). La prevalencia fue similar, no hubo diferencia significativa (P=0.2842). El an6lisis estad6stico utilizando chi cuadrada se muestra en el cuadro 3.

Cuadro 3. Asociaci6n de la prevalencia de los animales positivos a *Bartonella spp.*, por chi cuadrada.

	N	Prevalencia	I.C bajo	I.C alto	P
Total de la poblaci6n	117	3.41	1.09	8.03	
Total de la poblaci6n de coat6es	87	3.44	0.88	9.09	0.28
Total de la poblaci6n mapaches	30	3.33	0.16	15.36	
Total de la poblaci6n de machos coat6es	43	4.65	0.78	14.53	0.49
Total de la poblaci6n de hembras coat6es	44	2.27	0.11	10.70	
Total de la poblaci6n machos mapaches	15	6.66	0.33	28.73	0.5
Total de la poblaci6n hembras mapaches	15	0	0	18.10	
Total de la poblaci6n verano	83	4.87	1.56	11.35	
Total de la poblaci6n primavera	34	0	0	8.20	0.21
Total de la poblaci6n verano coat6es	61	4.91	1.26	12.80	
Total de la poblaci6n primavera coat6es	26	0	0	10.88	0.25
Total de la poblaci6n verano mapaches	22	4.76	0.23	21.32	
Total de la poblaci6n primavera mapaches	8	0	0	28.31	0.32
Total de la poblaci6n coat6es adultos	63	3.17	0.53	10.09	
Total de la poblaci6n coat6es j6venes	24	4.16	0.20	18.88	0.41
Total de la poblaci6n mapaches adultos	21	0	0	13.29	
Total de la poblaci6n mapaches j6venes	9	11.11	0.55	43.86	0.32
Total de la poblaci6n 2016	39	5.12	0.86	15.93	
Total de la poblaci6n 2017	78	2.56	0.43	8.21	0.42

8. Discusión:

En los estudios de diagnóstico por métodos serológicos, bacteriológicos o moleculares de *Bartonella* en carnívoros, se han analizado 51 especies para la detección de esta bacteria, la prevalencia ha sido reportada del 71% de estas especies (Kosoy y Goodrich, 2019). Mediante el diagnóstico molecular, se han identificado prociénidos positivos, mapaches (*Procyon lotor*) 43% mediante PCR de la muestra de sangre completa. Otro estudio de los 37 mapaches muestreados en Georgia, EE. UU., 12 fueron positivos para *B. henselae* y uno para *B. koehlerae*. En otro estudio Henn et al. 2009 aislaron *B. rochalimae* en 11 de 42 mapaches de California, y Bai et al. 2016, realizaron PCR, 11 de 186 mapaches de Colorado fueron positivos para *B. rochalimae* y tres para *B. vinsinii subsp. Berkhoffii*, nuestro estudio con la misma técnica de diagnóstico coincide con la detección de *Bartonella* en esta especie, aunque la prevalencia en este estudio (3.41%) es menor en comparación con las reportadas en los estudios antes mencionados, es importante mencionar que existe un estudio realizado en Japón donde se analizaron 977 mapaches, quienes son una especie introducida, y todos los individuos analizados fueron negativos a *Bartonella*, por PCR.

Cuando se compararon las prevalencias de acuerdo al sexo, no existieron diferencias significativas ($P \geq 0.05$). Lo que concuerda con varios estudios realizados en carnívoros con anterioridad donde no hubo diferencia. Por ejemplo, Chomel et al., (2000), no encontraron diferencia entre la prevalencia de bacteremia por *Bartonella*, entre machos y hembras en coyotes (*Canis latrans*). Y en el trabajo de Brady (2006), no hubo diferencia entre la prevalencia y el sexo en perros positivos a *Bartonella*. Finalmente en el estudio de Gerrikagoitia et al., (2011) tampoco hubo diferencia significativa ($P=0.2$) entre sexos, en carnívoros positivos, cuando se estudio a tejones europeo (*Meles meles*).

La mayoría de los estudios de carnívoros no muestran diferencia estadística en la prevalencia de *Bartonella* asociada con edad, mediante técnicas moleculares, al menos en los estudios realizados con felinos (Molia et al., 2016, Yamamoto et al 1998, Rotstein et al 2000). Lo anterior coincide con el presente estudio en prociénidos, que no se encontraron

diferencias significativas. Sin embargo, cuando se analizan los resultados de seroprevalencia en gatos, se ha identificado que los gatos adultos presentan las mayores seroprevalencia en comparación con los animales más jóvenes, mientras que la prevalencia de bacteriemia es mayor en animales más jóvenes (Guptill, 2010). Adicionalmente, en un estudio de Chomel et al., (2004) se encontró que la prevalencia de anticuerpos para *B. henselae* aumenta con edad en pumas (*Puma concolor*) en California.

La transmisión de *Bartonella spp.* entre gatos ocurre a través de vectores artrópodos, predominantemente pulgas. Los gatos no infectados en un área junto con los gatos infectados en un ambiente libre de ectoparásitos no se vuelven seropositivos, enfatizando la importancia de los vectores artrópodos en la transmisión de la enfermedad (Regier et al., 2016). En los mapaches y coatíes del Parque museo de la Venta, hay registro que ambas especies han tenido pulgas *Ctenocephalides felis* y *C. canis* (Isak-Delgado, 2014), por lo que probable que dichas especies también sean los vectores de la bacteria hacia los individuos que resultaron positivos en este estudio. Se ha reportado que las pulgas del género *Pulex* pueden contener ADN de *B. vinsonii subsp. berkhoffii* y *B. rochalimae* cuando han sido colectadas de carnívoros silvestres en los Estados Unidos (Gabriel et al., 2009), sin embargo el género *Pulex* no ha sido reportado infestando a coatíes en México y en el caso de mapaches sí ha sido detectado pero únicamente en la región Neartica (en el estado de Chihuahua) donde cinco ejemplares de *P. simulans* fueron colectados pero todos ellos fueron negativos a DNA de *Bartonella* (López-Pérez et al., 2017).

El hallazgo de *Bartonella* en mapaches en México no es sorprendente debido a que muchos otros estudios en EUA la han reportado en esta especie de prociénido (Henn et al., 2009; Bai et al. 2016), sin embargo la proporción de mapaches positivos sí es baja en comparación con otros estudios en mapaches distribuidos al norte del continente. Adicionalmente, aunque no existieron diferencias significativas la proporción de mapaches positivos (n=1) en comparación con coatíes (n=3) también es baja. Además el hallazgo de *Bartonella* en coatíes de México es el primer registro de la bacteria en la especie. Cabe mencionar que no es la primera vez que se busca identificar la bacteria en prociénidos del género *Nasua*, ya que Mehrkens et al., (2013) y Michelle et al, (2017) también trataron de

identificar pero sin éxito. La diferencia de los resultados de los otros trabajos con el nuestro, quizás se debe que la población de coatíes en los estudios no comparten hábitat con gatos ferales, como es el caso en el Parque Museo de La Venta.

El presente estudio detectó por primera vez *Bartonella* en coatíes y mapaches de México, en condiciones de infección natural. Además es el primer registro para la especie *Nasua narica* y el primer reporte de *Bartonella* para el estado de Tabasco. Se detectó la presencia de *Bartonella*, no importando la estación del año, edad, sexo ni especie de prociénidos. Se recomienda continuar realizando estudios en carnívoros silvestres mexicanos tropicales, pero se sugiere además buscar la bacteria en los artrópodos parásitos presentes en estos. Finalmente es importante obtener las secuencias de las muestras positivas para determinar que especies de *Bartonella* están presentes en los prociénidos de este estudio.

Referencias:

- Allen, T., Murray, K. A., Zambrana-Torrel, C., Morse, S. S., Rondinini, C., Di Marco, M., Breit, N. Olival, K. J., Daszak, P. (2017). Global hotspots and correlates of emerging zoonotic diseases. *Nature communications*, 8(1), 1124.
- Bai, Y., Gilbert, A., Fox, K., Osikowicz, L., Kosoy, M. (2016). *Bartonella Rochalimae* and *B. Vinsonii* subsp. *berkhoffii* in wild carnivores from Colorado, USA. *Journal of Wildlife Diseases*, 52 (4), 844-849.
- 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.
- Breitschwerdt E. B. (2014). Bartonellosis: One Health Perspectives for an Emerging Infectious Disease. *Institute for Laboratory Animal Research Journal*, 55 (1), 46 -58.
- 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 (1), 8–30.
- 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 Clinical Microbiology*, 29 (7), 1299 – 1302.
- Brenner, D. J., O’Connor, S. P., Winkler, H. H., 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 *Rickettsiales*. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 43 (4), 777 – 786.
- Buchanan, E. D., & Buchanan R. E. (1938). *Bacteriology*, MacMillan Co., New York, N. Y.
- Buffet, J. P., Pisanu, B., Brisse, S., Roussel, S., Felix, B., Halos, L., Chapuis, J. L., Vayssier-Taussat, M. (2013). Deciphering *Bartonella* diversity, recombination, and host specificity in a rodent community. *PLoS One*, 8 (7), 1-12.
- Chang, C. C., Kasten R. W., Chomel, B. B., Simpson D. C., Hew, C. M., Kordick D. L., Heller, R., Piemont, Y., Breitschwerdt, E. D. (2000a). 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.
- Chatterjee, P., Chandra, S., Biswas, T. (2015). Daniel Alcides Carrion (1857 – 1885) and a history of medical martyrdom. *Journal of Medical Biography*, 23 (4), 224-227.

- Chenoweth, M. R., Greene, C. E., Krause, D. C., Gherardini, F. C. (2004). Predominant outer membrane antigens of *Bartonella henselae*. *Infection and Immunity*, 72 (7), 3097–3105.
- Chomel, B. B., Kikuchi, Y., Martenson, J. S., Roelke-Parker, M. E., Chang, C. C., Kasten, R. W., Foley, J. E., Laudre, J., Murphy, K., Swift, P. K., Kramer, V. L., O’Brien, S. J. (2004). Seroprevalence of Bartonella infection in American free-ranging and captive pumas (*Felis concolor*) and bobcats (*Lynx rufus*). *Veterinary Research*, 35 (2), 233– 241.
- Chomel, B. B., Boulouis, H. J., Breitschwerdt, E. B., Kasten, R. W., Vayssier-Taussat, M., Birtles, R. J. (2009). Ecological fitness and strategies of adaptation of *Bartonella* species to their hosts and vectors. *Veterinary Research*, 40 (2), 29.
- Coleman, S., Minnick M. F. (2001). Establishing a Direct Role for the *Bartonella bacilliformis* Invasion-Associated Locus B(laIB) Protein in Human Erythrocyte Parasitism. *Infection and Immunity*, 69 (7), 4373 – 4381.
- Cuarón, A.D., Helgen, K., Reid, F., Pino, J. & González-Maya, J.F. 2016. *Nasua narica*. The IUCN Red List of Threatened Species 2016:T41683A45216060. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2016-1.RLTS.T41683A45216060.en>. (Fecha de consulta: 3 de junio 2019)
- Cubilla, M. P., Santos, L. C., Moraes, W., Cubas, Z. S., Leutenegger, C. M., Estrada, M., Lindsay, L. L., Trindade, E. S., Franco, C. R., Vieira, R. F. C., Biondo, A. W., Sykes, J. E. (2017). Microscopic and molecular identification of hemotropic mycoplasmas in South American coatis (*Nasua nasua*). *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 53, 19-25.
- Cueto, M., (1996). Tropical medicine and bacteriology in Boston and Peru: studies of Carrión’s disease in the early twentieth century. *Medical History*, 40 (3), 344-364.
- Deng, H., Le Rhun, D., Buffet, J. P., Cotté, V., Read, A., Birtles, R. J., Vayssier-Taussat, M. (2012a). Strategies of exploitation of mammalian reservoirs by *Bartonella* species. *Veterinary Research*, 43 (1), 15.
- Deng, H., Le Rhun D., Le Naour, E., Bonnet, S., Vayssier-Taussat, M. (2012b). Identification of *Bartonella* Trw Host-Specific Receptor on Erythrocytes. *PLOS ONE*, 7 (7), 41447.
- Foucault, C., Rolain, J. M., Raoult, D., Brouqui, P. (2004). Detection of *Bartonella quintana* by direct immunofluorescence examination of blood smears of a patient with acute trench fever. *Journal of Clinical Microbiology*, 42 (10), 4904–4906.
- Franz, B. & Kemp, V. (2011). Adhesion and host cell modulation: critical pathogenicity determinants of *Bartonella henselae*. *Parasites & Vectors*, 4, 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.
- Gerrikagoitia, X., Gil, H., García-Esteban, C., Anda, P., Juste, R. A., Barral, M. (2011). Presence of *Bartonella* Species in Wild Carnivores of Northern Spain. *Applied and Environmental Microbiology*, 78 (3), 885–888.
- Guptill, L. Bartonellosis. (2010). *Veterinary Microbiology*, 140 (3), 347- 359.
- Henn, J.B., Chomel, B.B., Boulouis, H. J., Kasten, R. W., Murray, W. J., BarGal, G. K., King, R., Courreau, J.F., Baneth, G. (2009). *Bartonella rochalimae* in raccoons, coyotes, and red foxes. *Emerging Infectious Diseases*, 15 (12), 1984–1987.
- Henn, J. B. (2006). *Bartonella* Infection in Domestic Dogs and Wild Carnivores from California: Seroepidemiology, Clinical Associations, and Characterization of a New Zoonosis.
- Hernández-Ortiz, A. (2016). Estudio epidemiológico de *Trichinella sp.* y *Toxoplasma gondii* en poblaciones de prociónidos y animales sinantrópicos de Tabasco, México. Tesis de Maestría para obtener el título de Maestro de Ciencias. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México. Ciudad de México, México. 62 pp.
- Hwang, J., Gottdenker, N. L. (2013). *Bartonella* species in raccoons and feral cats, Georgia, USA. *Emerging Infectious Diseases*, 19 (7), 1167–1168.
- Isaak-Delgado Ana Belem. Evaluación de ectoparásitos en una población de coatis (*Nasua narica*) y mapaches (*Procyon lotor*) del Parque-Museo La Venta, en Villahermosa, Tabasco, durante el verano del 2010 al invierno del 2012. (Tesis para obtener el título de Médico Veterinaria Zootecnista) Univesidad Nacional Autónoma de México (UNAM), México.
- Jones, K. E., Patel, N. G., Levy, M. A., Storeygard, A., Balk, D., Gittleman, J. L., Daszak, P. (2008). Global trends in emerging infectious diseases. *Nature*, 451(7181), 990–993.
- Kaiser, P. O., Riess, T., O'Rourke, F., Linke, D., Kempf, V. A. J. (2011). *Bartonella* spp.: throwing light on uncommon human infections. *International Journal of Medical Microbiology*, 301 (1), 7–15.
- Kosoy, M., Bai, Y., Lynch, T., Kuzmin, IV., Niezgoda, M., Franka, R., Agwanda, B., Breiman, R.F., Rupprecht, C. E. (2010). *Bartonella* spp. in bats, Kenya. *Emerging Infectious Diseases*, 16 (12), 1875–1881.
- 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., Goodrich I. (2019). Comparative Ecology of *Bartonella* and *Brucella* Infections in Wild Carnivores. *Frontiers in Veterinary Science*, 5, 322.

- Linke, D., Riess, T., Autenrieth, I. B., Lupas, A., Kempf, V. A. J. (2006) Trimeric autotransporter adhesins: variable structure, common function. *Trends Microbiology*, 14 (6) 264–270.
- Loh, E. H., Zambrana-Torrel, C., Olival, K. J., Bogich, T. L., Johnson, C. K., Mazet, J. A. K., Karesh, W., Daszak P. (2015). Targeting Transmission Pathways for Emerging Zoonotic Disease Surveillance and Control. *Vector Borne Zoonotic Diseases*, 15 (7), 432–437.
- López-Pérez, A. M., Osikowicz, L., Bai, Y., Monteneri, J., Rubio, A., Moreno, K., Gage, J., Suzán, G., Kosoy, M. (2017). Prevalence and Phylogenetic Analysis of *Bartonella* Species of Wild Carnivores and Their Fleas in Northwestern Mexico. *Association for Ecology and Health*, 14 (1), 116 – 129.
- Maggi, R. G., Chomel, B., Hegarty, B., Henn, J., Breitschwerdt, E. B. (2006). A *Bartonella vinsonii 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., 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.
- Maillard, R., Riegel, P., Barrat, F., Bouilin, C., Thibault, D., Gandoin, C., Halos, L., Demanche, C., Alliot, A., Guillot, J., Piémont, Y., Boulouis, H., Vayssier-Taussat M. (2004). *Bartonella chomelii* sp. nov., isolated from French domestic cattle (*Bos taurus*). *International Journal Systematic and Evolutionary Microbiology*, 54 (1), 215 -220.
- Martínez-Hernández, F., Rendon-Franco, E., Gama-Campillo, L. M., Villanueva-García, C., Romero-Valdovinos, M., Maravilla, P., Alejandre-Aguilar, R., Rivas, N., Córdoba-Aguilar, A., Muñoz-García, C. I., Guiehdani, V. (2014). Follow up of natural infection with *Trypanosoma cruzi* in two mammals species, *Nasua narica* and *Procyon lotor* (Carnivora: Procyonidae): evidence of infection control?. *Parasites & Vectors*, 7, 405-411.
- Mehrkens, L. R., Shender, L. A., Yabsley, J. M., Shock, B. C., Chinchilla, F. A. (2013). White-nosed coatis (*Nasua narica*) Are a Potential Reservoir of *Trypanosoma cruzi* and Other Potentially Zoonotic Pathogens in Monteverde, Costa Rica. *Journal of Wildlife Diseases*, 49 (4), 1014 -1018.
- Minnick, M. F., Battisti, J. M. (2009). Pestilence, persistence and pathogenicity: infection strategies of *Bartonella*. *Future Microbiology*, 4 (6), 743-758.
- Molia, S., Kasten, R. W., Stuckey, M. J., Boulouis, H. J., Allen, J., Borgo, G. M., Koehler J. E., Chang, C. C., Chomel, B. B. (2016) Isolation of *Bartonella henselae*, *Bartonella koehlerae* subsp. *koehlerae*, *Bartonella koehlerae* subsp. *bothieri* and a new subspecies of *B. koehlerae* from free-ranging lions (*Panthera leo*) from South Africa, cheetahs (*Acinonyx*

jubatus) from Namibia and captive cheetahs from California. *Epidemiology Infection*. 144 (15), 3237–3243.

Norman, A. F., Regnery, R., Jameson, P., Greene, C., Krause D. C. (1995). Differentiation of *Bartonella*-like isolates at the species level by PCR-restriction fragment length polymorphism in the citrate synthase gene. *Journal of Clinical Microbiology*, 33 (7), 1797–1803.

Peters, D., Wigand, R. (1995). *Bartonellaceae*. *Bacteriology Reviews*. 19 (3), 150-155.

Pitassi, L. H. U., Diniz, P. P. V. P., Scorpio, D. G., Drummond, M. R., Lania B. G., Barjas – Castro, M. L., Gilioli, R., Colombo, S. Sowy, S. Breitschwerdt, E. B., Nicholson, W. L., Velho, P. E. N. F. (2015). *Bartonella* spp. Bacteremia in Blood Donors from Campinas, Brazil. *Neglected Tropical Diseases*, 9 (1), 3467 – 3479.

Rossi, M. A., Balakrishnan, N., Linder, K. E., Messa, J. B., Breitschwerdt, E. B. (2015). Concurrent *Bartonella henselae* infection in a dog with panniculitis and owner with ulcerated nodular skin lesions. *Veterinary Dermatology*, 26 (1), 60– e22.

Rotstein, D. S., Taylor, S. K., Bradley, J., Breitschwerdt, E. B. (2000). Prevalence of *Bartonella henselae* antibody in Florida panthers. *Journal of Wildlife Diseases*, 36 (1), 157–160.

Sampaio A., Veloso A., Da Silva M. (2001). Capítulo 28 Order Carnivora, Family Procyonidae (Raccoons, Kinkajous). En: *Biology, Medicine and Surgery of South American Wild Mammals*. Ames (Iowa): Iowa State University Press: 317-322

Seubert, A., Hiestand, R., De la Cruz F., Dehio C. (2003). A bacterial conjugation machinery recruited for pathogenesis. *Molecular Microbiology*, 49 (5), 1253–1266.

Sousa, K., Amaral, R., Herrera, H., Santos, F. M., Macedo, G. C., Pinto, P., Barros-Battesi D., Machado R, André M. (2018). Genetic Diversity on *Bartonella* spp. in Wild Mammals and Ectoparasites in Brazilian Pantanal. *Microbial Ecology*, 76 (2), 544 – 554.

Yamamoto, K., Chomel, B. B., Lowenstine, L. J., Kikuchi, Y., Phillips, L. G., Barr, B. C., Swift, P. K., Kasten, R. W., Foley, J. E., Pedersen, N. C. (1998). *Bartonella henselae* antibody prevalence in free-ranging and captive wild felids from California. *Journal of Wildlife Diseases*, 34 (1), 56 – 63.

Timm, R., Cuarón, A.D., Reid, F., Helgen, K. & González-Maya, J.F. 2016. *Procyon lotor*. The IUCN Red List of Threatened Species 2016: e.T41686A45216638. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2016-1.RLTS.T41686A45216638.en>. (Fecha de consulta: 3 de junio 2019)

Vayssier-Taussat, M., Le Rhun, D., Bonnet, S., Cotte, V. (2009). Insights in *Bartonella* host specificity. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1166 (1), 127–132.

Zhang, P., Chomel, B. B., Schau, M. K., Goo, J., Droz, S., Kelminson, K. L., George, S. S., Lerche, N. W., Koehler, 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, 101 (37), 13630 – 13635.