

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA**

**FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS**

**ESPECIALIZACIÓN EN DIAGNÓSTICO VETERINARIO DE LABORATORIO**

**TRABAJO FINAL**

**Título del trabajo:** Enfermedad causada por micoplasmas hemotróficos en felinos: Revisión bibliográfica.

**Autor:** Urbina, Sara Daniela

**Directora:** Dra. MV. Pintos María Eugenia

**Codirectora:** Dra. MV. Stornelli María Cecilia

**Año:** 2017

## **Índice:**

|  |    |
|--|----|
| Introducción.....  | 3  |
| Agente etiológico en los felinos.....                              | 5  |
| Factores predisponentes de riesgo de infección con hemoplasma..... | 6  |
| Patogenia.....   | 6  |
| Signología clínica.....  | 8  |
| Diagnóstico.....   | 9  |
| Tratamiento y prevención.....                                      | 11 |
| Conclusión.....  | 12 |
| Bibliografía .....   | 13 |

## Introducción

La hemoplasmosis es una enfermedad de distribución mundial, producida por micoplasmas hemotróficos que causa anemia hemolítica en un amplio rango de especies mamíferas (Hoelzle 2008 y Tasker 2010). En el gato se denomina anemia infecciosa felina, antiguamente llamada haemobartonelosis felina.

Se han identificado tres especies de micoplasmas hemotróficos en felinos domésticos: *Mycoplasma haemofelis*, "*Candidatus Mycoplasma haemominutum*" y "*Candidatus Mycoplasma turicensis*". La primera es la más patógena y los gatos infectados cursan con anemia aguda del tipo hemolítica, la segunda y tercera son levemente patógenas, y en combinación con *M. haemofelis* o con alguna enfermedad viral pueden desarrollar anemia (Tasker y col., 2009; Campos Aquino y col., 2014).

Si bien diversos autores comunicaron que la hemoplasmosis en gatos puede transmitirse mediante vectores hematófagos; transfusiones sanguíneas por vía transplacentaria, por calostro (Mendez Arriola e Hidalgo Armijos 2013; Bergmann y col., 2017) y en forma directa mediante saliva (Museux y col., 2009), en la actualidad aún no se ha determinado la vía natural de transmisión entre gatos. Por otra parte, la transmisión experimental se ha demostrado mediante administración oral y parenteral de sangre infectada (Barker y col., 2013).

En gatos la infección con micoplasma se ha asociado a enfermedades inmunosupresoras tales como Leucemia Viral Felina (ViLeF) e Inmunodeficiencia Viral Felina (VIF) (Tasker, 2006; Lobetti, 2007). Así como a cuadros de estrés y uso de drogas inmunosupresoras (Willi y col., 2005).

Las manifestaciones clínicas en los gatos infectados varían desde la infección subclínica hasta letargia, anorexia, fiebre y en ocasiones anemia hemolítica grave (Reagan y col., 2016). No ocurre inmunidad cruzada, por lo tanto, los gatos pueden estar infectados con una o más especies de micoplasmas; habiéndose observado que los gatos infectados con dos especies de hemoplasma o una especie y coinfección con VIF o ViLeF presentan signos clínicos más severos que aquellos infectados únicamente por una sola especie de micoplasma (Reagan y col., 2016).

Actualmente los hemoplasmas se encuentran distribuidos mundialmente y su prevalencia varía geográficamente (Messick, 2004; Rosenqvist y col., 2016;

Willi y col., 2006). Estas variaciones pueden deberse a diferencias climáticas, ya que se ha encontrado una correlación entre la distribución de los hemoplasmas y el clima cálido (Rosenqvist y col., 2016; Willi y col., 2006, Tasker y col., 2004). En la tabla 1 se presentan los datos de prevalencia de esta enfermedad. No hemos encontrado datos acerca de la prevalencia de estas tres especies en nuestro país.

Tabla 1. Prevalencia (%) obtenida en muestras sanguíneas mediante la técnica reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (qPCR) en hemoplasmas felinos en diferentes países.

| Países   | <i>M. haemofelis</i> | “ <i>Candidatus M. haemominutum</i> ” | “ <i>Candidatus M. turicensis</i> ” | + de una especie |
|--|----------------------|---------------------------------------|-------------------------------------|------------------|
| Reino Unido (n: 1585) <sup>(1)</sup>   | 2,8 %                | 11,2 %                                | 1,7 %                               | ---              |
| Suiza (n: 713) <sup>(2)</sup>  | 1,5 %                | 10 %                                  | 1,3 %                               | ---              |
| Sudáfrica (n: 69) <sup>(3)</sup>   | 15 %                 | 38 %                                  | 26 %                                | ---              |
| Australia (n: 147) <sup>(3)</sup>  | 4,8 %                | 24 %                                  | 10 %                                | ---              |
| Italia (n: 307) <sup>(4)</sup>   | 5,9 %                | 17 %                                  | 1,3 %                               | ---              |
| Japón (n: 60) <sup>(5)</sup>   | 21 %                 | 47 %                                  | 10 %                                | ---              |
| Canada (n: 742) <sup>(6)</sup><br>(gatos domésticos)                                   | 0,7 %                | 3,3 %                                 | 0,1 %                               | ---              |
| Canada (n: 45) <sup>(6)</sup><br>(gatos vagabundos)                                    | 47 %                 | 13 %                                  | 0 %                                 | ---              |
| Estados Unidos (n: 263) <sup>(7)</sup><br>(gatos enfermos)                             | 0,5 %                | 16 %                                  | 0,5 %                               | ---              |
| Estados Unidos (n: 310) <sup>(8)</sup><br>(gatos con posible infección por hemoplasma) | 4,8 %                | 23 %                                  | 6,5 %                               | ---              |
| Brasil (n: 369) <sup>(9)</sup><br>(gatos domésticos)                                   | 2,71 %               | 13,55 %                               | 2,16 %                              | 1,21 %           |
| Dinamarca (n: 67) <sup>(10)</sup><br>(pacientes ingresados al Hospital escuela)        | 1,5 %                | 14,9 %                                | ----                                | ----             |
| Chile (n: 384) <sup>(11)</sup><br>(pacientes de veterinarias)                          | 4,4 %                | 7,8 %                                 | 1 %                                 | 0,26 %           |

<sup>(1)</sup>Peters y col., 2008; <sup>(2)</sup> Willi y col., 2006a; <sup>(3)</sup> Willi y col., 2006b; <sup>(4)</sup> Gentilini y col., 2009; <sup>(5)</sup> Fujihara y col., 2007; <sup>(6)</sup> Kanrami y col., 2008; <sup>(7)</sup> Sykes y col., 2007; <sup>(8)</sup> Sykes y col., 2008; <sup>(9)</sup> dos Santos y col., 2014; <sup>(10)</sup> Rosenqvist y col., 2016; <sup>(11)</sup> Vergara y col., 2016.

## Agente etiológico en los felinos

La primera vez que se identificaron organismos asociados a la superficie de los eritrocitos en gatos, fue en Sud África en 1942; denominándose al microorganismo *Eperythrozoon felis*. Diez años después se observaron microorganismos similares en Estados Unidos denominándoselos *Haemobartonella felis* (Sykes y col., 2010).

Inicialmente los hemoplasmas fueron clasificados en el orden Rickettsiales, basados en su parasitismo obligado, pequeño tamaño, morfología, tropismo por los eritrocitos y su respuesta a antibioticoterapia. En la década del noventa, con los avances de los estudios moleculares y el desarrollo de la secuenciación molecular y datos de filogenia basados en el gen 16S ARNr, se demostró que el género *Haemobartonella* y *Eperythrozoon* se relacionan con el género *Mycoplasma*, re clasificándolos dentro de la familia *Mycoplasmataceae* (Rikhsia y col., 1997; Neimark y col., 2001; Reagan y col., 2016).

Los micoplasmas se caracterizan por ser pequeñas bacterias de un tamaño aproximado de 0,5-0,8 µm, epicelular obligadas por ausencia de pared celular, lo cual los hace dependientes de la célula huésped. Se los puede observar adheridos a la membrana celular de los glóbulos rojos, libres en el plasma, entre los eritrocitos, en forma individual o en cadena (Messick y col., 2004; Santos y col., 2011).

Como se mencionó anteriormente las especies identificadas en gato son: *Mycoplasma haemofelis* de mayor tamaño con respecto a "Candidatus *M. haemominutum*" (Barker y col., 2011; Messick y col., 1998); "Candidatus *M. haemominutum*", *Haemobartonella felis* (Willi y col., 2005) y "Candidatus *M. turicensis*". Los análisis filogenéticos, basados en los datos de la secuencia del gen 16S ARNr demostraron que este último está estrechamente relacionado con *Mycoplasma coccoides* y *Mycoplasma haemomuris*, ambas especies específicas de roedores (Willi y col., 2006). En el año 2011 se pudo determinar el genoma por secuenciación en la cepa *M. haemofelis* str. Ohio 2 de 1,152,484 pb (Messick y col., 2011; Barker y col., 2011; Santos y col., 2011) y en el 2016 se conoció el genoma en la cepa "Candidatus *M. haemominutum*" Birmingham 1 de 513,880 pb (Barker y col., 2011).

## **Factores predisponentes de riesgo de infección con hemoplasma:**

- Machos enteros con acceso al exterior (Bergmann y col., 2017)
- Gatos de refugios (Bergmann y col., 2017)
- Animales positivos a VIF-ViLeF (Tasker, 2006; Lobetti, 2007)
- Época del año (primavera-verano), ya que se incrementa la cantidad de vectores y las peleas entre gatos debido a que se encuentran en estación reproductiva
- Presencia de Vectores hematófagos (*Ixodes* spp.; *Rhipicephalus* spp.; *Ctenocephalides felis*) (Sykes y col., 2010; Museux y col., 2009; Willi y col., 2007)
- Transfusiones sanguíneas (Palmero y Carballés, 2010)

## **Patogenia**

La hemoplasmosis felina presenta generalmente cuatro etapas:

- Fase pre-parasitémica: en la que los gatos no presentan signos clínicos ni bacterias en circulación (2-17 días) (Greene, 2012).
- Fase aguda: representa el tiempo entre la primera y la última bacteriemia, (un mes aproximadamente). En esta etapa se observan signos y bacteriemia. En ocasiones puede causar la muerte del huésped después de bacteriemias masivas por la disminución temprana y repentina del volumen celular compacto, lo cual suele estar relacionado con la aparición y desaparición de los microorganismos en sangre. Estas fluctuaciones parecen estar asociados a secuestro esplénico de eritrocitos infectados y posterior liberación de eritrocitos no parasitados.

En otras ocasiones se presentan animales con el hematocrito disminuido debido a la destrucción de los eritrocitos. En estos gatos los episodios repetidos de bacteriemia podrían ser la causa de daño progresivo sobre los eritrocitos y disminución de su vida media (Greene, 2012). La carga bacteriana aumenta los primeros 5 días luego de la infección para luego disminuir abruptamente, con la desaparición de Los microorganismos en

- sangre en menos de dos horas. Varios días luego de la bacteriemia el número de microorganismos presentes en la sangre suele ser muy bajo.
- Fase de recuperación: cursa con anemia leve como único signo clínico. Se extiende por aproximadamente 2-4 meses post-infección.
  - Fase de portador: puede durar años con gatos clínicamente sanos. La reaparición de la enfermedad es infrecuente, (Greene, 2012) pero se pueden detectar hemoplasmas en sangre (Palmero y Carballés, 2010).

En general Alrededor de un 10 % de gatos clínicamente sanos, de diferentes edades, suelen ser positivos a micoplasmas hemotróficos (Tasker, 2010).

La especie más patógena de hemoplasma en gatos es *M. haemofelis*. Los animales infectados con *M. haemofelis* cursan con anemia hemolítica de presentación aguda, alta mortalidad y presencia de signos clínicos de moderados a severos.

“*Candidatus M. haemominutum*” y “*Candidatus M. turicensis*” son oportunistas y raramente inducen anemia como patógenos primarios, pero pueden estar involucrados en enfermedades inmunosupresoras ya instaladas como el ViLeF y VIF (Tasker, 2010).

La anemia hemolítica producida por hemoplasmas en felinos puede ser leve-moderada o severa, dependiendo de la carga bacteriana en el hospedador. La anemia es debida principalmente a hemólisis extravascular, sin embargo, hemólisis intravascular ha sido descrita en algunos gatos (Willi y col., 2006; Sykes y col., 2010).

Si bien inicialmente los estudios ultraestructurales revelaron la deformación de los eritrocitos infectados, pero sin daño celular (Pospichil y Hoffmann 1982; Portiansky y col., 2004), en investigaciones recientes se observó que los micoplasmas se adhieren a la membrana del eritrocito con deformación e invaginación de la misma, esta unión a la membrana es necesaria para la replicación del microorganismo. Esta interacción eritrocito-microorganismo produce un daño irreversible en el glóbulo rojo, dando como resultado una hemólisis extravascular (Groebel y col., 2009; Hoelzle y col., 2014).

Si bien el proceso de adhesión no es totalmente conocido, hasta el momento se conocen dos adhesinas encargadas de la unión microorganismo-

célula: MSG1 y  $\alpha$  enolasa. La primera tiene una función enzimática y participa en el catabolismo de los carbohidratos y la segunda es una proteína de adhesión de los micoplasmas a los eritrocitos. Esto demuestra que ambas enzimas juegan un papel importante en la patogénesis de esta enfermedad (Felder y col., 2012; Santos y col., 2011).

Hasta el año 2009 se sabía que los eritrocitos presentaban en su membrana receptores para las proteínas de adhesión de micoplasmas y que estos se podían encontrar libres en el plasma o adheridos a la superficie de las células blanco, no encontrándose en forma intracelular. Groebel y col., en el año 2009 observaron por microscopía electrónica que, si bien los microorganismos se pueden hallar libres en el plasma o adheridos a la superficie de los eritrocitos, también se pueden encontrar en forma intracelular al ocurrir invaginación del glóbulo rojo hasta la formación de vacuolas (semejante al mecanismo de invaginación de otros microorganismos como por ejemplo: *Plasmodium falciparum* y *Bartonella bacilliformis* (Benson y col., 1986; Haldar y Mohandas, 2007).

La patogénesis de *M. haemofelis* se relaciona con su superficie celular antigénicamente dinámica. Esto podría explicar los episodios bacteriémicos cíclicos característicos de las infecciones producidas por *M. haemofelis*, la persistencia de la bacteria a pesar de la inmunidad del huésped y al tratamiento antimicrobiano (Santos y col., 2011). Los factores de virulencia de esta bacteria permiten evadir el sistema inmune del huésped, adherirse a los eritrocitos, multiplicarse, diseminarse y persistir en el huésped luego de la infección aguda si el huésped sobrevive y en el caso de las infecciones crónicas mantenerse en forma latente (Santos y col., 2011).

## **Signología clínica**

Los signos de la hemoplasmosis felina son muy variables y dependen de la especie involucrada, si es una infección aguda o crónica y si está presente una enfermedad de base o situación de estrés

La anemia es el signo característico de esta enfermedad, la misma es más grave cuando la infección ocurre con *M. haemofelis*. En la presentación aguda los signos más comunes son: anemia severa, con taquipnea, taquicardia,



depresión, anorexia, mucosas pálidas, pérdida de peso, ictericia, disnea, fiebre y en ocasiones la muerte. Ha sido comunicada la esplenomegalia asociada a la destrucción extravascular de los eritrocitos y posiblemente hematopoyesis extramedular (Greene, 2012).

Se ha comunicado que en los gatos infectados con "*Candidatus M. haemominutum*" los signos siempre fueron muy leves o ausentes.

La presentación crónica cursa con anemia, pérdida de peso, letargia, palidez en mucosas e hiporexia.

Se considera que existe asociación entre la manifestación clínica por hemoplasmas y la existencia de enfermedades virales, neoplásicas e inmunomediadas. Los signos clínicos varían en relación al estadio de infección, la velocidad de desarrollo, la severidad de la anemia, si posee una enfermedad de base; inmunosupresora o no, y la especie de micoplasma que lo afecte (Hoelzle, 2008; Willi y col., 2007).

### **Diagnóstico**

La aproximación diagnóstica de esta enfermedad puede realizarse mediante los hallazgos en análisis de rutina en el laboratorio.

En la presentación aguda de la infección producida con *M. haemofelis* se observa en el análisis hematológico de los pacientes: disminución por debajo de los valores de referencia para la especie: del hematocrito (en general valores inferiores a 20 %), del recuento de glóbulos rojos y de la concentración de la hemoglobina (Kaneco, 1997). El hematocrito no siempre es un indicador de la masa total eritrocitaria en gatos infectados por micoplasma, debido a los eritrocitos parasitados son secuestrados por el bazo para volver luego a la circulación cuando los hemoplasmas son removidos. Cuando la disminución del hematocrito es muy rápida el volumen celular medio se mantiene normal durante los primeros 2-4 días y luego se observan los cambios característicos de una anemia regenerativa (policromasia, hipocromía, macrocitos, anisocitosis y reticulocitosis). La presencia de corpúsculos de Howell Jolly no es un indicador de anemia regenerativa en los gatos ya que se suelen observar en animales normales. El porcentaje reticulocitario es mayor a 2 %. Por otra parte, el recuento de leucocitos puede presentarse normal, aumentado o disminuido y la utilidad para el diagnóstico es limitada, sin embargo, puede observarse un aumento de

monocitos reactivos debido a la fagocitosis. En relación a las alteraciones observadas en el análisis bioquímico de muestras de suero, la hiperbilirrubinemia no ocurre con frecuencia en gatos infectados con hemoplasmas, si bien puede observarse en los primeros 2 días posteriores al descenso abrupto del hematocrito. Por otra parte, no se observará hiperbilirrubinemia cuando el descenso del hematocrito se debe al secuestro esplénico sin destrucción de las células.

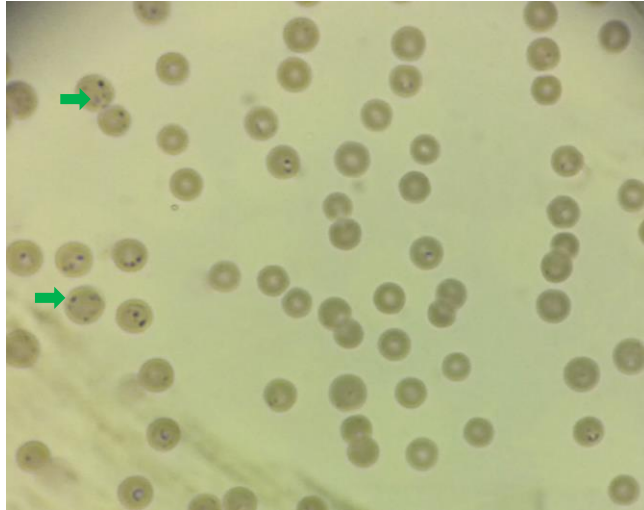
La presentación crónica generalmente se presenta en pacientes infectados por ViLeF, VIF., en los que se observa en el frotis sanguíneo eritrocitos normocíticos-normocrómicos, con una anemia arregenerativa (Sykes y col., 2010).

La identificación de hemoplasmas en frotis sanguíneos presenta baja sensibilidad y especificidad, por lo general solo se observa en el 50 % de los gatos con infección aguda (Figura 1) (Tasker y col., 2007; Sykes y col., 2010).

A pesar de lo comentado en el párrafo anterior, los frotis sanguíneos teñidos con May Grünwald-Giemsa (MGG), presentan una mejor sensibilidad con respecto a los teñidos con Metanol-Giemsa o Tinción 15. En la presentación crónica de la enfermedad la mayoría de las veces no se logra observar micoplasmas en los frotis debido a la baja carga bacteriana (Sykes y col., 2010).

Si bien existen diferentes técnicas para la detección de hemoplasmas en felinos, como por ejemplo técnicas de hibridación in situ (de baja sensibilidad con respecto a qPCR) (Peters y col., 2011) y caracterización morfológica del hemoplasma mediante microscopia electrónica (Willi y col., 2011).

En la actualidad para realizar el diagnóstico definitivo, en la actualidad, la mayoría de los grupos de trabajo utilizan las técnicas de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) convencional y (qPCR), debido a su alta sensibilidad y especificidad (Sykes y col., 2010; Tasker y col., 2010; Barker y Tasker, 2013). En nuestro país, debido a los altos costos estas técnicas no se utilizan aún como técnica de diagnóstico de rutina en la práctica diaria.



**Figura 1.** Frotis teñido con MGG de una muestra de felino. Presencia de cocos-bacilos en la superficie de los eritrocitos compatibles con *Mycoplasma* spp (flechas verdes) (1000X). Laboratorio Animal Lab.

## Tratamiento y prevención

El tratamiento de elección en pacientes que presentan signos clínicos compatibles con hemoplasmas, es la doxiciclina (10 mg/kg/día) durante un mínimo de 2 semanas, sin embargo, no se logra eliminar completamente a los microorganismos, por lo tanto, los pacientes que sobreviven a la enfermedad suelen permanecer como portadores de hemoplasma una vez finalizado el tratamiento (Tasker y col., 2006). Los tratamientos con enrofloxacin (5mg/kg/dia) fueron menos efectivos y la azitromicina no resultó eficaz (Sykes y col., 2010).

Como medidas de prevención se debe tener en cuenta el control de vectores hematófagos, la esterilización de los gatos a edad temprana y así disminuir las peleas y evitar el contacto con animales de riesgo. Por otra parte, en el caso de animales donantes de sangre se indica la realización de PCR para la detección de hemoplasmas ya que las transfusiones sanguíneas son un modo frecuente de contagio (Sykes y col., 2010).

## **Conclusión**

Teniendo en cuenta la importancia de esta enfermedad en la población felina se sugiere evaluar los siguientes parámetros ante la sospecha de anemia infecciosa felina para arribar al diagnóstico de enfermedad:

En la clínica:

- Anamnesis (comportamiento animal, vive 1 o más gatos, castrado o no, plan de vacunación).
- En la exploración clínica: observación de las mucosas (palidez, ictericia), debilidad e inapetencia.

En el Laboratorio:

- Realización de un extendido sanguíneo, obteniendo la muestra del pabellón auricular (muestra de elección para identificación de microorganismos por observación directa del frotis).
- Realización de un hemograma para evaluar presencia o ausencia de anemia, tipo de anemia, alteraciones en la morfología celular sanguínea y presencia o ausencia de los microorganismos en los frotis sanguíneos como herramienta diagnóstica de bajo costo.
- Determinación de bilirrubina directa e indirecta.
- Identificación del microorganismo mediante la técnica de PCR.

## Bibliografía

- 1- Barker E, Darby A, Helps C, Peters I, Heemsom K. Molecular characterization of the uncultivable hemotropic bacterium *Mycoplasma haemofelis*. Barker y col. *Veterinary Research* 2011; 42:83.
- 2- Barker E, Tasker S. Haemoplasmas: lessons learnt from cats. *N Z Vet J.* 2013; 61(4):184-92.
- 3- Benson LA, Kar S, McLaughlin G, Ihler GM. Entry of *Bartonella bacilliformis* into erythrocytes. *Infection and Immunity.* 1986; 54: 347-353.
- 4- Bergmann M, Englert T, Stuetzer B, Hawley JR, Lappin MR, Hartmann K. Risk factors of different hemoplasma species infections in cats. *BMC Vet Res.* 2017; 13(1):52.
- 5- Campos Aquino L, Hicks C, Scalon M, Lima M, Lemos M. Prevalence and phylogenetic analysis of haemoplasmas from cats infected with multiple species. *J Microbiol Methods.* 2014; 107:189-196.
- 6- dos Santos PA, Conrado OF, Messick JB. Hemoplasma prevalence and hematological abnormalities associated with infection in three different cat populations from Southern Brazil. *Braz J Vet Parasitol.* 2014; 23(4):428-434.
- 7- Felder KM, Carranza PM, Gehrig PM, Roschitzki B, Barkow-Oesterreicher S, Hoelzle K, Riedel K, Kube M, Hoelzle LE. Insights into the gene expression profile of uncultivable hemotropic *Mycoplasma suis* during acute infection, obtained using proteome analysis. *J Bact.* 2012; 194: 1505–1514.
- 8- Fujihara M, Watanabe M, Yamada T, et al. Occurrence of 'Candidatus *Mycoplasma turicensis*' infection in domestic cats in Japan. *J Vet Med Sci.* 2007; 69(10):1061–1063.
- 9- Gentilini F, Novacco M, Turba ME, Willi B, Bacci ML, Hofmann-Lehmann R. Use of combined conventional and real-time PCR to determine the

- epidemiology of feline haemoplasma infections in northern Italy. *J Feline Med Surg* 2009; 11: 277–85.
- 10-Greene CE. Infectious diseases of the dog and cat. 4<sup>th</sup> Ed. Elsevier. 2012, p. 310-315.
- 11-Groebel K, Hoelzle K, Wittenbrink MM, Ziegler U, Hoelzle LE. *Mycoplasma suis* Invades Porcine Erythrocytes. *Infection and immunity*. 2009; 77(2): 576-584.
- 12-Haldar K, Mohandas N. Erythrocyte remodeling by malaria parasites. *Current Opinion in Hematology*. 2007; 14: 203-209.
- 13-Hoelzle LE, Zeder M, Felder KM, Hoelzle K. Pathobiology of *Mycoplasma suis*. *Vet J*. 2014; 202:20–25.
- 14-Hoelzle LE. Haemotrophic mycoplasmas: Recent advances in *Mycoplasma suis*. *Veterinary Microbiology*. 2008; 130:215-226.
- 15-Kamrani A, Parreira VR, Greenwood J, et al. The prevalence of *Bartonella*, hemoplasma, and *Rickettsia felis* infections in domestic cats and cat fleas in Ontario. *Can J Vet Res*. 2008; 72(5):411-419.
- 16-Kaneco J, Harvey W, Bruss, M. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. California, USA. 5<sup>th</sup> Ed. Academic Press 1997, p. 932
- 17-Lobetti R. Feline Haemoplasmosis. 32<sup>th</sup> World congress WSAVA 2007. Sydney, Australia.
- 18-Mendez Arriola e Hidalgo Armijos. Determinación de Hemobartonelosis felina en parroquias urbanas de la ciudad de Cuenca. Tesis para la obtención del título de Médico Veterinario Zootecnista. Facultad de Ciencias Veterinarias Agropecuarias Escuela de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad de Cuenca. 2013.
- 19-Messick JB, Berent LM, Cooper SK. Development and evaluation of a PCR-based assay for detection of *Haemobartonella felis* infection in cats and differentiations using restriction fragment length polymorphism. *J Clin Microbiol*. 1998; 36:462-466.

- 20-Messick JB, Santos AP, Guimaraes AMS. Complete Genome Sequences of Two Hemotropic Mycoplasmas, *Mycoplasma haemofelis* Strain Ohio2 and *Mycoplasma suis* Strain Illinois. *J of Bacteriol.* 2011; p 2068-2069.
- 21-Messick JB. Hemotropic mycoplasmas (hemoplasmas): a review and new insights into pathogenic potential. *Vet Clin Pathol.* 2004; 33(1):2-13.
- 22-Museux K, Boretti FS, Willi B, Riond B, Hoelzle LE, Wittenbrink MM, Tasker S, Wengi N, Reusch CE, Lutz H, Hofmann R. In vivo transmission studies of "*Candidatus Mycoplasma turicensis*" in the domestic cat. *Vet Res.* 2009, 40(5):45.
- 23-Neimark H, Johansson KE, Rikihisa Y, Tully JG. Proposal to transfer some members of the genera *Haemobartonella* and *Eperythrozoon* to the genus *Mycoplasma* with descriptions of "*Candidatus Mycoplasma haemofelis*", "*Candidatus Mycoplasma Haemomuris*", "*Candidatus Mycoplasma haemosuis*" and "*Candidatus Mycoplasma wenyonii*". *Int J Syst Evol Microbiol.* 2001; 51:891-899.
- 24-Palmero ML y Carballés V. Enfermedades infecciosas felinas. Ed. Servet. 2012, p. 295.
- 25-25- Peters IR, Helps CR, Willi B, Hoffmann-Lehmann R, Gruffydd-Jones TJ, Day MJ, Tasker S. Detection of feline haemoplasma species in experimental infections by in-situ hybridization. *Microbiol Pathogenesis.* 2011; 50: 94-99.
- 26-Peters I, Helps C, Willi B, Hoffmann Lehmann R, Tasker S. The prevalence of three species of feline haemoplasmas in samples submitted to a diagnostics service as determined by three novel real-time duplex PCR assays. *Vet Microbiol.* 2008; 126:142-150.
- 27-Portiansky EL, Quiroga MA, Machuca MA, Perfumo CJ. *Mycoplasma suis* in naturally infected pigs: an ultrastructural and morphometric study. *Pesq Vet Bras.* 2004; 24(1): 1-5.
- 28-Pospichil A. & Hoffmann R. *Eperythrozoon suis* in naturally infected pigs: a light and electron microscopic study. *Vet Pathol.* 1982; 19: 651-657.

- 29-Reagan KL, Clarke LL, Hawley JR, Lin P, Lappin MR. Assessment of the ability of *Aedes* species mosquitoes to transmit feline *Mycoplasma haemofelis* and "*Candidatus Mycoplasma haemominutum*". *J Feline Med Surg*. 2016.pii: 1098612X16658317.
- 30-Rikihisa Y, Kawahara M, Wen B, Kociba G, Fuerst P, Kawamori F, et al. Western Immunoblot Analysis of *Haemobartonell amuris* and Comparison of 16S, rRNA Gene Sequences of *H. muris*, *H. felis*, and *Eperythrozoon suis*. *J Clin Microbiol*. 1997; 35: 823-829.
- 31-Santos AP, Guimaraes A, Nascimento NC, San Miguel PJ, Martin SW, Messick JB. Genoma of *Mycoplasma haemofelis*, unraveling its strategies for survival and persistence. *Vet Res*. 2011; 42:102.
- 32-Sykes JE, Drazenovich NL, Ball LM, Leutenegger CM. Use of conventional and real-time polymerase chain reaction to determine the epidemiology of hemoplasma infections in anemic and nonanemic cats. *J Vet Intern Med*. 2007; 21: 685-93.
- 33-Sykes JE, Terry JC, Lindsay LL, et al. Prevalences of various hemoplasma species among cats in the United States with possible hemoplasmosis. *J Am Vet Med Assoc* 2008; 232(3):372–379.
- 34-Sykes JE. Feline Hemotropic Mycoplasmas. *Vet Clin Small Anim* 40. 2010; 1157-1170.
- 35-Tasker S, Braddock JA, Baral R, Helps CR, Day MJ, Gruffydd-Jones TJ, Malik R. Diagnosis of feline hemoplasma infection in Australian cats using a real-time PCR assay. *J. Feline Med Surg*. 2004; 6:345-354.
- 36-Tasker S, Caney SM, Day MJ, Dean RS, Helps CR, Knowles TG, Lait PJ, Pinches MD, Gruffydd-Jones TJ. Effect of chronic FIV infection, and efficacy of marbofloxacin treatment, on *Mycoplasma haemofelis* infection. *Vet Microbiol*. 2006; 117(2-4):169-79.
- 37-Tasker S, Peters IR, Papasouliotis K, Cue SM, Willi B, Hofmann-Lehmann R, Gruffydd-Jones TJ, Knowles TG, Day MJ, Helps CR. Description of



- outcomes experimental infection with feline haemoplasmas: copy numbers, haematology, Coombs' testing and blood glucose concentrations. *Vet Microbiol.* 2009;139(3-4):323-32.
- 38-Tasker S. Haemotropic mycoplasmas: what's their real significance in cats? *J Feline Med Surg.* 2010;12(5):369-81.
- 39-Vergara RW, Galleguillos FM, Jaramillo MG. Prevalence, risk factor analysis, and hematological findings of hemoplasma infection in domestic cats from Valdivia, Southern Chile. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases.* 2016;46:20-26
- 40-Willi B, Boretti F, Tasker S, Meli M, Wengi N, Reusch F. From *Haemobartonella* to hemoplasma: Molecular methods provide new insights. *Veterinary Microbiology.* 2007; 125:197-209.
- 41-Willi B, Boretti FS, Baumgartner C, Tasker S, Wenger B, Cattori V, Meli ML. Prevalence, Risk Factor Analysis, and Follow-Up of Infections Caused by Three Feline Hemoplasma Species in Cats in Switzerland. *J Clin Microbiol.* 2006; 44(3): 961-969.
- 42-Willi B, Boretti FS, Cattori V, Tasker S, Meli ML, Reusch C, Lutz H, Hofmann-Lehmann R. Identification, molecular characterization, and experimental transmission of a new hemoplasma isolate from a cat with hemolytic anemia in Switzerland. *J Clin Microbiol.* 2005; 43:2581-2585.
- 43-Willi B, Museux K, Novacco M, Schraner EM, Wild P, Groebel K, Ziegler U, Wolf-Jackel GA, Kessler Y, Geret C, Tasker S, Lutz H, Hofmann-Lehmann R. First morphological characterization of "Candidatus *Mycoplasma turicensis*" using electron microscopy. *Vet Microbiol.* 2011; 149(3-4):367-73.