

***Mycoplasma* spp. hemotrópico en gatos domésticos**

Hemotropic mycoplasmas in domestic cats

MVZ Anaeli Morales López

DMV Julio Alberto Martín Romero MSc

Facultad de Medicina Veterinaria

Universidad Agraria de La Habana “Fructuoso Rodríguez Pérez”

Carretera Tapaste, Km 23 ½ Autopista Nacional. San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba

Resumen

La micoplasmosis es una patología infecciosa importante y su papel como enfermedad de riesgo zoonótico debe ser mejor investigado. Campañas de educación para los grupos de riesgo son bienvenidas y deben ser coordinadas por los equipos de salud para prevenir la aparición de esta enfermedad. Con prevalencia de distribución variable constituye un riesgo en la población felina y una potencial zoonosis en humanos quienes son sus cuidadores. Diferentes técnicas tienen utilidad para su diagnóstico temprano en la que se destacan las pruebas moleculares por tener alta precisión. El uso preventivo de tratamiento en vectores puede ser efectivos para el control de esta enfermedad en su contribución a una sola salud.

Palabras clave: *Mycoplasma*, micoplasmosis, zoonosis.

Abstract

Feline hemotropic mycoplasmosis is an infectious disease that affects the domestic cat, whose etiological agents are microorganisms belonging to the genus *Mycoplasma*. Because it can be a zoonosis, this disease should be better investigated. Education campaigns for risk groups are necessary and must be coordinated by health teams to prevent its appearance. Different techniques are useful for its early diagnosis, in which molecular tests stand out for their high precision. The preventive use of treatment against vectors can be effective for the control of this disease in its contribution to a single health.

Keywords: *Mycoplasma*, micoplasmosis, zoonosis

Recibido: 10 de febrero de 2022

Aprobado: 2 de marzo de 2022

Introducción

Un animal muy común en la vida cotidiana del humano es el gato doméstico, el cual ha coexistido con el hombre desde hace milenios. El hecho es que actualmente los gatos como animales de compañía, la mayoría del tiempo los encontramos en los asientos y camas de sus tutores. Por tanto, los factores de riesgo de las enfermedades infecciosas que padecen son importantes en la transmisión de zoonosis e incluso en la afectación de la salud del propio animal (Chalkowski *et al.*, 2019).

En Cuba, el gato doméstico es una especie animal poco estudiada, así como son poco estudiadas y conocidas las enfermedades que lo afectan. Por esta razón, el conocimiento de la presencia de sus enfermedades y agentes causales es tan necesario.

Mycoplasma spp hemotrópico o hemoplasma es una bacteria capaz de inducir anemia hemolítica en una gran variedad de mamíferos, incluyendo felinos domésticos y silvestres (Grob, 2015). Este microorganismo presenta una extensa distribución geográfica en el mundo y es causante de una enfermedad zoonótica conocida como micoplasmosis hemotrópica felina o hemoplasmosis (Makino *et al.*, 2018).

La circulación de *Mycoplasma* spp. hemotrópico, por ejemplo, podría ser un indicador de la presentación conjunta de agentes virales como los virus de inmunodeficiencia felina y de leucemia felina en gatos domésticos Urbina (2017); y podría significar un riesgo para la salud pública, incluso un problema de salud ocupacional.

Introduction

A very common animal in the daily life of humans is the domestic cat, which has coexisted with man for millennia. The fact is that currently cats as pets, most of the time we find them in the seats and beds of their guardians. Therefore, the risk factors of the infectious diseases that they suffer from are important in the transmission of zoonoses and even in affecting the health of the animal itself (Chalkowski *et al.*, 2019).

In Cuba, the domestic cat is an animal species little studied, as well as the diseases that affect it are little studied and known. For this reason, knowledge of the presence of their diseases and causal agents is so necessary.

Hemotropic *Mycoplasma* or hemoplasma is a bacterium capable of inducing hemolytic anemia in a wide variety of mammals, including domestic and wild felines (Grob, 2015). This microorganism has an extensive geographical distribution in the world and is the cause of a zoonotic disease known as feline hemotropic mycoplasmosis or hemoplasmosis (Makino *et al.*, 2018).

The circulation of *Mycoplasma* spp. hemotropic, for example, could be an indicator of the joint presentation of viral agents such as feline immunodeficiency virus and feline leukemia virus in domestic cats Urbina (2017); and could pose a risk to public health, including an occupational health problem.

Developing

Desarrollo

¿Qué es la micoplasmosis hemotrópica felina o hemoplasmosis?

La micoplasmosis hemotrópica es una enfermedad de distribución mundial, producida por micoplasmas hemotrópicos que causan anemia hemolítica en un amplio rango de especies mamíferas. En el gato se ha denominado anemia infecciosa felina, antiguamente llamada haemobartonelosis felina (Urbina, 2017).

El término “anemia infecciosa felina” es un término inexacto, ya que hay muchos organismos infecciosos que pueden ocasionar un cuadro de anemia, y por esta razón, actualmente se le conoce como “micoplasmosis hemotrópica felina” o “hemoplasmosis” (Hidalgo y Méndez, 2013).

Etiología. Historia de su descubrimiento

Micoplasmas, también conocidos como hemoplasmas hemotrópicos, pertenecen al Reino: Bacteria, *Phylum: Firmicutes*, Clase: *Mollicutes*, Orden: *Mycoplasmatales*, Familia: *Mycoplasmataceae* y Género: *Mycoplasma* (Alves, 2018).

Mycoplasma spp. hemotrópico o también conocido como hemoplasma son bacterias pequeñas, libres de pared celular que no se pueden cultivar, las cuales se encuentran en la superficie de los eritrocitos de varias especies de animales domésticos y salvajes e incluso en humanos (Sarvani *et al.*, 2018).

Las especies de *Mycoplasma spp.* hemotrópico felino son reconocidas corrientemente por la variedad de su patogenicidad. Mientras algunas inducen anemia hemolítica otras resultan productoras de signos clínicos notables. En los felinos se reconocen hasta el momento cuatro

What is feline hemotropic mycoplasmosis or hemoplasmosis?

Hemotropic mycoplasmosis is a worldwide disease caused by hemotropic mycoplasmas that cause hemolytic anemia in a wide range of mammalian species. In the cat, it has been called feline infectious anemia, formerly called feline haemobartonellosis (Urbina, 2017).

The term "feline infectious anemia" is an inaccurate term, since there are many infectious organisms that can cause anemia, and for this reason, it is currently known as "feline hemotropic mycoplasmosis" or "hemoplasmosis" (Hidalgo and Méndez, 2013).

Etiology. History of its discovery

Mycoplasmas, also known as hemotropic hemoplasmas, belong to the Kingdom: Bacteria, *Phylum: Firmicutes*, Class: *Mollicutes*, Order: *Mycoplasmatales*, Family: *Mycoplasmataceae* and Genus: *Mycoplasma* (Alves, 2018).

Mycoplasma Hemotropic or also known as hemoplasma are small, cell-wall-free bacteria that cannot be cultured, which are found on the surface of erythrocytes in various species of domestic and wild animals and even in humans (Sarvani *et al.*, 2018).

Feline hemotropic *Mycoplasma* species are currently recognized for the variety of their pathogenicity. While some induce hemolytic anemia, others produce notable clinical signs. In felines, four species that cause feline hemotropic mycoplasmosis have been recognized so far: *Mycoplasma haemofelis*, *Candidatus Mycoplasma haemominutum*, *Candidatus Mycoplasma turicensis*, and *Candidatus Mycoplasma haematoparvum*-like

especies causantes de micoplasmosis hemotrópica felina que son *Mycoplasma haemofelis*, *Candidatus Mycoplasma haemominutum*, *Candidatus Mycoplasma turicensis* y *Candidatus Mycoplasma haematoparvum-like* (Ameldev y Tresamol, 2018).

La primera vez que se identificaron organismos asociados a la superficie de los eritrocitos en gatos, fue en 1942 en Sudáfrica; denominándose al microorganismo *Eperythrozoon felis*. Diez años después se observaron microorganismos similares en Estados Unidos denominándoseles *Haemobartonella felis* (Urbina, 2017).

La diferenciación morfológica entre los dos géneros se basaba en la forma de presentación sobre la superficie de los glóbulos rojos, siendo la más frecuente en forma de anillos o libres en el plasma sanguíneo en *Eperythrozoon* spp. en comparación a *Haemobartonella* spp (Witman, 2010).

En el año 1953, Flint y Moss en Estados Unidos reconocieron a *Haemobartonella felis* como el agente causal de la “Anemia Infecciosa Felina”, una enfermedad contagiosa en los gatos. Hasta ese momento dos especies de *Haemobartonella* habían sido descritas en gatos: el organismo “Ohio” o la forma grande de *Haemobartonella felis* y el organismo “California” o la forma pequeña (Messick, 2004).

La confusión sobre la verdadera naturaleza de este agente ha persistido durante los últimos 50 años. Hasta el año 1993, el orden *Rickettsiales* contenía 3 familias: *Rickettsiaceae*, *Bartonellaceae* y *Anaplasmataceae*. Las bacterias hemotrópicas, *Haemobartonella* spp. y *Eperythrozoon* spp., estaban clasificadas como miembros de la familia *Anaplasmataceae*, en base a sus características biológicas y fenotípicas, como son el pequeño tamaño, la tinción Gram negativa, el parasitismo de los

(Ameldev and Tresamol, 2018).

Organisms associated with the surface of erythrocytes in cats were first identified in 1942 in South Africa; calling the microorganism *Eperythrozoon felis*. Ten years later, similar microorganisms were observed in the United States, calling them *Haemobartonella felis* (Urbina, 2017).

The morphological differentiation between the two genera was based on the form of presentation on the surface of the red blood cells, being the most frequent in the form of rings or free in the blood plasma in *Eperythrozoon* spp. compared to *Haemobartonella* spp (Witman, 2010).

In 1953, Flint and Moss in the United States recognized *Haemobartonella felis* as the causal agent of "Feline Infectious Anemia", a contagious disease in cats. Until that time, two species of *Haemobartonella* had been described in cats: the “Ohio” organism or the large form of *Haemobartonella felis* and the “California” organism or the small form (Messick, 2004).

Confusion about the true nature of this agent has persisted for the last 50 years. Until 1993, the order *Rickettsiales* contained 3 families: *Rickettsiaceae*, *Bartonellaceae*, and *Anaplasmataceae*. Hemotropic bacteria, *Haemobartonella* spp. and *Eperythrozoon* spp., were classified as members of the *Anaplasmataceae* family, based on their biological and phenotypic characteristics, such as small size, Gram-negative staining, red blood cell parasitism, and transmission by hematophagous arthropods (Willi et al. ., 2007). However, it had long been suspected that this

glóbulos rojos y la transmisión mediante artrópodos hematófagos (Willi *et al.*, 2007). Sin embargo, se sostenía una larga sospecha de que este agente no era un parásito rickettsial y parecía estar más relacionado con los miembros de la clase Mollicutes. Esta sospecha se basó en la ausencia de parasitismo intracelular, su pequeño tamaño, la falta de pared celular y de flagelo, la resistencia a la penicilina y sus análogos y su susceptibilidad a las tetraciclinas (Witman, 2010).

Como los hemoplasmas no se han logrado cultivar con éxito en agar ni en cultivo celular, el único medio de diagnóstico de los animales infectados era la identificación microscópica de frotis sanguíneo teñido con Giemsa, siendo un método de poca sensibilidad de detección. El diagnóstico también se complicaba por la carencia de una parasitemia identificable en los estados latentes o crónicos de la enfermedad y la rápida pérdida de la parasitemia luego de la presentación de los signos clínicos en los gatos con cuadros agudos. La falta de un examen eficiente para el diagnóstico de cuadros agudos y crónicos resultó en una enorme controversia en la consideración del verdadero impacto de esta enfermedad en la población de los felinos (Messick *et al.*, 1998).

Sólo recientemente, un preciso y objetivo medio de clasificación filogenética de bacterias hizo posible su identificación, a través del análisis de la secuencia del gen 16S ARN ribosomal (ARNr). En 1997, Rikihisa *et al.* (1997) reportaron por primera vez la secuencia del gen 16S ARNr de *Haemobartonella* spp y *Eperythrozoon* spp. La secuencia se obtuvo mediante el uso de ensayo de PCR y el consecuente análisis de productos amplificados, secuenciados y comparados con secuencias conocidas de distintas bacterias (*Anaplasma marginale*, *Mycoplasma muris*, *Bartonella*

agent was not a rickettsial parasite and seemed to be more closely related to members of the Mollicutes class. This suspicion was based on the absence of intracellular parasitism, its small size, lack of cell wall and flagellum, resistance to penicillin and its analogs, and susceptibility to tetracyclines (Witman, 2010).

As hemoplasmas have not been successfully cultivated in agar or in cell culture, the only means of diagnosing infected animals was microscopic identification of Giemsa-stained blood smears, being a method of low detection sensitivity. Diagnosis was also complicated by the lack of identifiable parasitaemia in latent or chronic states of the disease and the rapid loss of parasitaemia after presentation of clinical signs in acutely ill cats. The lack of an efficient test for the diagnosis of acute and chronic conditions resulted in a huge controversy in considering the true impact of this disease in the feline population (Messick *et al.*, 1998).

Only recently, a precise and objective means of phylogenetic classification of bacteria made their identification possible, through analysis of the 16S ribosomal RNA (rRNA) gene sequence. In 1997, Rikihisa *et al.* (1997) reported for the first time the sequence of the 16S rRNA gene of *Haemobartonella* spp and *Eperythrozoon* spp. The sequence was obtained through the use of PCR assay and the consequent analysis of amplified products, sequenced and compared with known sequences of different bacteria (*Anaplasma marginale*, *Mycoplasma muris*, *Bartonella henselae*, *Ureaplasma canigenitalum*, among others) determining that based on the These sequences generated a very small similarity with the Rickettsial organisms, they do not belong to the Anaplasmataceae family or even to the Rickettsia order and their phylogenetic relationship was closer to the

henselae, *Ureaplasma canigenitalum*, entre otras) determinando que en base a las secuencias encontradas estas generaron una muy pequeña similitud con los organismos Rickettsiales, ellos no pertenecen a la familia *Anaplasmataceae* o siquiera al orden *Rickettsia* y su relación filogenética fue más cercana a los *Mycoplasmas*.

Posteriormente, fue propuesto que la clasificación taxonómica debía ser modificada para reflejar los nuevos conocimientos de la afiliación filogenética de *Haemobartonella* spp y *Eperythrozoon* spp con el género *Mycoplasma* y que la designación “*Candidatus*” sería adjuntada a las especies que fueran nuevas y/o no completamente descritas. Entonces, *Haemobartonella felis* (organismo Ohio o forma grande) fue transferido al género *Mycoplasma* como *Mycoplasma haemofelis* y el organismo California o la forma pequeña, que es una especie con caracterización incompleta, fue designada como “*Candidatus Mycoplasma haemominutum*” (Messick, 2004).

En el 2003, se publicó un análisis de las especies conocidas de hemoplasma, incluyendo muestras de sangre de gatos y perros de Europa, Australia, África y Asia, en el cual fue construido un árbol filogenético, revelando una división de estos organismos en dos grupos distintos. En uno se encontraron los aislados consistentes con *Candidatus Mycoplasma haemominutum* y en el otro, los aislados consistentes con *Mycoplasma haemofelis*. Este estudio reportó, además, sobre la existencia de un patógeno hemotrópico con una secuencia del gen 16S ARNr, casi idéntica a las descritas en Estados Unidos, en perros y gatos de Alemania, Reino Unido, Francia, Australia, Sudáfrica e Israel, a pesar de encontrar grandes diferencias porcentuales entre las secuencias de nucleótidos aisladas, que generan en el autor inquietud sobre los criterios de definición de nuevas especies de hemoplasma (Tasker *et al.*,

Mycoplasmas.

Subsequently, it was proposed that the taxonomic classification should be modified to reflect new knowledge of the phylogenetic affiliation of *Haemobartonella* spp and *Eperythrozoon* spp with the genus *Mycoplasma* and that the designation “*Candidatus*” be attached to species that were new and/or not completely described. *Haemobartonella felis* (Ohio organism or large form) was then transferred to the genus *Mycoplasma* as *Mycoplasma haemofelis* and the California organism or small form, which is a species with incomplete characterization, was designated as “*Candidatus Mycoplasma haemominutum*” (Messick, 2004).

In 2003, an analysis of known hemoplasma species, including blood samples from cats and dogs from Europe, Australia, Africa, and Asia, was published, in which a phylogenetic tree was constructed, revealing a division of these organisms into two groups different. Isolates consistent with *Candidatus Mycoplasma haemominutum* were found in one, and isolates consistent with *Mycoplasma haemofelis* were found in the other. This study also reported the existence of a hemotropic pathogen with a sequence of the 16S rRNA gene, almost identical to those described in the United States, in dogs and cats from Germany, the United Kingdom, France, Australia, South Africa and Israel, despite of finding large percentage differences between the isolated nucleotide sequences, which generated concern in the author about the criteria for defining new species of hemoplasma (Tasker *et al.*, 2003).

In 2005, a third species of feline hemoplasma

2003).

En el 2005, se descubrió una tercera especie de hemoplasma felino aislada desde una muestra de sangre obtenida de un gato con signos clínicos de una severa anemia hemolítica en Suiza, que luego fue nombrada: "*Candidatus Mycoplasma turicensis*" (Willi *et al.*, 2005). Posteriormente, en 2006, este agente fue aislado desde muestras de sangre de gatos de tres continentes distintos (Europa, Australia y África), demostrando que la infección con esta especie en gatos existe en una amplia área geográfica (Willi *et al.*, 2006). Finalmente, en el año 2007 se describe en los Estados Unidos una nueva especie denominada *Candidatus Mycoplasma haematoparvum-like* (Castro, 2010).

Mycoplasma spp. hemotrópico o hemoplasmas son bacterias Gram-negativas pleomórficas, epicelulares e incultivables *in vitro*. Son obligadas de los eritrocitos e infectan a gran cantidad de mamíferos. Morfológicamente al ser observadas en un frotis de sangre teñido estas bacterias tienen forma circular o de anillo y se distribuyen sobre la superficie del eritrocito de forma única, en anillo o formando cadenas. Miden entre 0,3 a 0,8 μm de diámetro. En microscopía electrónica de transmisión (TEM) se puede apreciar que están rodeadas por una única membrana. Los hemoplasmas se adhieren a los eritrocitos sin penetrar la superficie de éstos. Se encuentran en leves depresiones apreciándose un espacio de 15 a 25 nm de distancia entre la bacteria y la membrana del eritrocito (Grob, 2015).

Estos agentes presentan una distribución mundial, su prevalencia es de gran variación geográfica. Las coinfecciones con dos o más especies de hemoplasmas son frecuentemente descritas. Sin embargo, *Candidatus Mycoplasma haemominutum* (CMhm) está reportado como el agente más prevaleciente de todos en la mayoría

isolated from a blood sample obtained from a cat with clinical signs of severe hemolytic anemia was discovered in Switzerland, which was later named: "*Candidatus Mycoplasma turicensis*" (Willi *et al.*, 2005).). Later, in 2006, this agent was isolated from blood samples of cats from three different continents (Europe, Australia and Africa), demonstrating that infection with this species in cats exists in a wide geographical area (Willi *et al.*, 2006) . Finally, in 2007, a new species called *Candidatus Mycoplasma haematoparvum-like* was described in the United States (Castro, 2010).

Mycoplasma spp. hemotropic or hemoplasmas are pleomorphic, epicellular, Gram-negative bacteria that cannot be cultivated *in vitro*. They are obligate to erythrocytes and infect a large number of mammals. Morphologically, when observed in a stained blood smear, these bacteria have a circular or ring shape and are distributed on the surface of the erythrocyte in a single way, in a ring or in chains. They measure between 0.3 to 0.8 μm in diameter. In transmission electron microscopy (TEM) it can be seen that they are surrounded by a single membrane. Hemoplasmas adhere to erythrocytes without penetrating their surface. They are found in slight depressions, with a space of 15 to 25 nm between the bacteria and the erythrocyte membrane (Grob, 2015).

These agents have a worldwide distribution, their prevalence is of great geographical variation. Coinfections with two or more species of hemoplasmas are frequently described. However, *Candidatus Mycoplasma haemominutum* (CMhm) is reported as the most prevalent agent of all in most studies. Of the four species discovered, *Mycoplasma*

de los estudios. De las cuatro especies descubiertas *Mycoplasma haemofelis* (Mhf) es considerada la más patógena causando anemia hemolítica en gatos inmunodeficientes la cual puede llegar a ser severa poniendo la vida del animal en peligro de muerte. *Candidatus Mycoplasma haemominutum* y *Candidatus Mycoplasma turicensis* (CMt) son consideradas las menos patógenas ya que solo pueden producir una anemia ligera en codiciones inmunosupresoras. Por otro lado, en el caso de *Candidatus Mycoplasma haematoparvum-like* (CMhp) la información clínica continúa en estudio (Vilhena *et al.*, 2018).

Distribución geográfica

Los hemoplasmas felinos han sido detectados en todo el mundo, aunque sus prevalencias varían bastante según los distintos estudios realizados en diferentes regiones geográficas. Estas variaciones pueden deberse al tipo de muestreo ejecutado, ya sean muestreos por conveniencia de un sector geográfico en el cual se toman muestras de felinos sin discriminación de estado de salud, raza, sexo, edad o estudios en los cuales se realiza la toma de muestras de gatos sospechosos a la infección por *Mycoplasma* spp. Incluso el método diagnóstico puede variar entre los diferentes trabajos de prevalencia (Willi *et al.*, 2006).

La prevalencia de *Mycoplasma* spp. hemotrópico felino ha sido investigada teniendo en cuenta los factores de riesgo de la infección por estas bacterias en varios países del mundo. La mayoría de las investigaciones le brindan relevancia al diagnóstico realizado mediante técnicas moleculares (PCR) el cual es hasta estos momentos el de mayor sensibilidad y especificidad (Sarvani *et al.*, 2018).

Mycoplasma haemominutum es el más prevalente de los tres tipos de Hemoplasma con un

haemofelis (Mhf) is considered the most pathogenic, causing hemolytic anemia in immunodeficient cats, which can become severe, putting the life of the animal in danger of death. *Candidatus Mycoplasma haemominutum* and *Candidatus Mycoplasma turicensis* (CMt) are considered the least pathogenic since they can only cause mild anemia in immunosuppressive conditions. On the other hand, in the case of *Candidatus Mycoplasma haematoparvum-like* (CMhp), the clinical information is still under study (Vilhena *et al.*, 2018).

Geographical distribution

Feline hemoplasmas have been detected throughout the world, although their prevalence varies considerably according to the different studies carried out in different geographical regions. These variations may be due to the type of sampling carried out, whether they are convenience sampling of a geographical sector in which feline samples are taken without discrimination of health status, race, sex, age or studies in which the sampling is carried out. of cats suspected of infection by *Mycoplasma* spp. Even the diagnostic method can vary between the different prevalence studies (Willi *et al.*, 2006).

The prevalence of *Mycoplasma* spp. feline hemotropic has been investigated taking into account the risk factors for infection by these bacteria in several countries around the world. Most of the investigations give relevance to the diagnosis made by molecular techniques (PCR), which until now is the one with the highest sensitivity and specificity (Sarvani *et al.*, 2018).

Mycoplasma haemominutum is the most prevalent of the three types of Hemoplasma with a percentage of 20% and 50% of cats with or without clinical signs, increasing the

porcentaje con un 20% y 50% de gatos que presentan o no signos clínicos, aumentando la prevalencia de infección en gatos más viejos. En cuanto a la prevalencia de *Candidatus Mycoplasma turicensis* es similar a *Mycoplasma haemofelis* con estudios mostrando un 0,5 % a 10 % en gatos enfermos (Onofre, 2018).

Actualmente los hemoplasmas se encuentran distribuidos mundialmente y su prevalencia varía geográficamente. Estas variaciones pueden deberse a diferencias climáticas, ya que se ha encontrado una correlación entre la distribución de los hemoplasmas y el clima cálido (Urbina, 2017).

En los últimos 5 años las prevalencias han variado en América desde 8,9 % a 65,6 % Firmino *et al.*(2016); Marcondes *et al.* (2018). En Europa, los estudios han reportado desde 9,4 % hasta 26,2 % Persichetti *et al.* (2016); Bergmann *et al.* (2017). Mientras que en Asia los niveles de prevalencia se han encontrado entre 18,6 % y 26,4 % (Hosseini-Hooshyar *et al.*, 2016; Attipa *et al.*, 2017).

Factores de riesgo

Castro (2010) refiere que existe mayor riesgo de infección en gatos machos no castrados que se disputan ya que se han encontrado hemoplasmas en abscesos producidos por mordeduras.

Los gatos adultos mestizos enteros con una edad de 4-6 años, son los que tienen mayores posibilidades de estar infectados, y las peleas son una de las maneras más frecuentes de transmisión por el contacto con sangre infectada. Los gatos con pulgas también pueden tener un mayor riesgo de infección porque éstas pueden transmitir la enfermedad de los enfermos a los sanos, así como, los que reciben transfusiones sanguíneas (Senthil *et al.*, 2014).

El estilo de vida con acceso al exterior de la casa

prevalence of infection in older cats. Regarding the prevalence of *Candidatus Mycoplasma turicensis*, it is similar to *Mycoplasma haemofelis* with studies showing 0.5% to 10% in sick cats (Onofre, 2018).

Currently hemoplasmas are distributed worldwide and their prevalence varies geographically. These variations may be due to climatic differences, since a correlation has been found between the distribution of hemoplasmas and warm weather (Urbina, 2017).

In the last 5 years, prevalences have varied in America from 8.9% to 65.6% Firmino *et al.*(2016); Marcondes *et al.* (2018). In Europe, studies have reported from 9.4% to 26.2% Persichetti *et al.* (2016); Bergman *et al.* (2017). While in Asia, prevalence levels have been found between 18.6% and 26.4% (Hosseini-Hooshyar *et al.*, 2016; Attipa *et al.*, 2017).

Risk factor's

Castro (2010) reports that there is a higher risk of infection in non-neutered male cats that fight, since hemoplasmas have been found in abscesses caused by bites.

Whole mongrel adult cats aged 4-6 years are the most likely to be improved, and fighting is one of the most frequent ways of transmission through contact with infected blood. Cats with fleas may also be at increased risk of infection because they can transmit disease from sick to healthy cats, as well as those receiving blood transfusions (Senthil *et al.*, 2014).

The lifestyle with access to the outside of the house where they live and the coexistence with

donde viven y la convivencia con otros gatos han constituido factores debido al alto riesgo de interacciones agresivas entre ellos en estos ambientes Walker *et al.*(2016); Bergmann *et al.*(2017).

Las regiones tropicales y sub-tropicales son conocidas por sus favorables condiciones las cuales contribuyen a la proliferación de vectores Aklilu *et al.* (2016).

Otro aspecto que considerar es la época del año, habiendo mayor vulnerabilidad en verano (época lluviosa) ya que se incrementa la cantidad de vectores y las peleas entre gatos debido a que se encuentran en estación reproductiva Onofre (2018).

Enfermedades virales como el virus de inmunodeficiencia felina (FIV) y el virus de leucemia felina (FeLV) pueden predisponer inmunológicamente a los gatos a padecer infecciones por hemoplasmas Walker *et al.* (2016).

Transmisión

Si bien diversos autores comunicaron que la hemoplasmosis en gatos puede transmitirse mediante vectores hematófagos (pulgas, garrapatas y piojos); transfusiones sanguíneas, por vía transplacentaria y en forma directa mediante saliva, 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 (Urbina, 2017).

Es aún desconocido cómo realmente se transmite *Mycoplasma* spp. hemotrópico. Existen hipótesis de la transmisión directa a través interacciones agresivas mediante arañazos o mordeduras (Díaz-Regañón *et al.*, 2018).

Según Tapia (2018) las formas de contagio son varias:

other cats have changed factors due to the high risk of aggressive interactions between them in these environments Walker *et al.*(2016); Bergman *et al.* (2017).

Tropical and subtropical regions are known for their favorable conditions which contribute to the disappearance of vectors Aklilu *et al.* (2016).

Another aspect to consider is the time of year, having greater vulnerability in summer (rainy season) since the number of vectors and fights between cats increases due to the fact that they are in the reproductive season Onofre (2018).

Viral diseases such as feline immunodeficiency virus (FIV) and feline leukemia virus (FeLV) can immunologically predispose cats to hemoplasma infections Walker *et al.* (2016).

Transmission

Although various authors report that hemoplasmosis in cats can be transmitted by hematophagous vectors (fleas, ticks and lice); blood transfusions, transplacentally and directly through saliva, at present the natural route of transmission between cats has not yet been determined. On the other hand, experimental transmission has been demonstrated through oral and parenteral administration of infected blood (Urbina, 2017).

It is still unknown how *Mycoplasma* spp. hemotropic. There are hypotheses of direct transmission through interference through injuries or bites (Díaz-Regañón *et al.*, 2018).

According to Tapia (2018) the forms of contagion are several:

(a) *Transmission between individuals:* inoculations of whole infected blood have been

(a) *Transmisión entre individuos*: de forma experimental se han realizado inoculaciones de sangre completa infectada vía peritoneal, oral, subcutánea, intravenosa.

(b) *Inoculación subcutánea por peleas*: se creía poco probable, pero en la actualidad se considera una vía de contagio por la presencia de heridas, las cuales entran en contacto con la saliva y sangre contaminada. Estudios recientes han logrado aislar *Mycoplasma haemofelis* en heces y saliva de gatos.

(c) *Ectoparásitos*: La pulga se considera como un potencial vector en la transmisión de la enfermedad. Estudios recientes indican que *Ctenocephalides felis* contagia la enfermedad de manera experimental.

(d) *Vertical*: Las vías: transplacentaria, transmamaria y uterina se han planteado como posibles formas de contagio, pero aún no han sido comprobadas.

(e) *Iatrogénica*: En caso de las trasfusiones con sangre contaminada.

Patogenia

La enfermedad causada por *Mycoplasma* spp. se ha dividido en cuatro fases: fase prebacterémica, fase aguda, fase de recuperación y fase asintomática o de portador crónico (Onofre, 2018).

La fase prebacterémica ocurre después que el animal es infectado por la bacteria, hasta que ésta comienza a reproducirse, durando aproximadamente de 1 a 3 semanas. En esta fase se evidencia el inicio de la disminución del volumen globular aglomerado (VGA) (Messick y Harvey, 2011).

La fase aguda es el lapso entre la primera bacteremia y la última bacteremia más alta, la cual coincide con los valores más bajos de VGA. Esta fase puede durar un mes o más. Durante este

carried out experimentally via the peritoneal, oral, subcutaneous, and intravenous routes.

(b) *Subcutaneous inoculation due to fights*: it was thought unlikely, but it is currently considered a contagion route due to the presence of wounds, which come into contact with contaminated saliva and blood. Recent studies have isolated *Mycoplasma haemofelis* in feces and saliva of cats.

(c) *Ectoparasites*: The flea is considered as a potential vector in the transmission of the disease. Recent studies indicate that *Ctenocephalides felis* spreads the disease experimentally.

(d) *Vertical*: The routes: transplacental, transmammary and uterine have been proposed as possible forms of contagion, but have not yet been proven.

(e) *Iatrogenic*: In the case of transfusions with contaminated blood.

Pathogeny

The disease caused by *Mycoplasma* spp. It has been divided into four phases: prebacteremic phase, acute phase, recovery phase, and asymptomatic or chronic carrier phase (Onofre, 2018).

The prebacteremic phase after the animal is killed by the bacteria, until the bacteria begin to reproduce, lasting approximately 1 to 3 weeks. In this phase, the beginning of the decrease in the agglomerated globular volume (AGV) is evidenced (Messick and Harvey, 2011).

The acute phase is the period between the first bacteremia and the last highest bacteremia, which coincides with the lowest values of VGA. This phase can last a month or more. During this period the clinical signs are evident, their

período los signos clínicos son evidenciables, su gravedad e intensidad dependerán de la especie infectante y/o factores de riesgo asociados tales como; individuos inmunocomprometidos. Durante esta fase, en la infección por *M. haemofelis* puede ocurrir la muerte de los individuos por bacteremias masivas y disminución súbita del VGA, con anemia intensa. Los hemoplasmas generalmente aparecen en la sangre de una manera cíclica durante los períodos de bacteremia. El número de organismos aumenta a un valor pico en un lapso de uno a cinco días, seguido por un rápido descenso. La cantidad de organismos de la sangre puede variar del más del 90 % a menos del 1 % de eritrocitos infectados en tres horas o ser detectados mediante PCR (Grob, 2015).

En esta fase los microorganismos son evidentes, por medio de la técnica de observación directa en frotis. *Mycoplasma* spp puede adherirse de esta manera a la membrana eritrocitaria, de esta manera puede afectar a su integridad, reduciendo su vida media; donde se hace posible la producción de anticuerpos específicos a hemoplasmas, provocando una reacción antígeno-anticuerpo-complemento, destruyendo de esta manera a los hematíes (Mayors lab, 2015).

La disminución temprana y repentina del volumen del paquete celular, puede aumentar rápidamente, relacionándose con la aparición y desaparición de los microorganismos en la sangre, dichos cambios pueden deberse al secuestro esplénico de los eritrocitos parasitados y liberación tardía de los eritrocitos no parasitados, o pudiendo permanecer bajos y seguir descendiendo en uno o más días después de esta fase, debido a la destrucción de los eritrocitos parasitados. El número de bacterias aumenta hasta cierto punto en 1 a 5 días, para luego dar la desaparición sincronizada de la

severity and immediate intensity of the infecting species and/or associated risk factors such as; Immunocompromised individuals. During this phase, in the infection by *M. haemofelis*, the death of individuals can occur due to massive bacteremia and a sudden decrease in VGA, with intense anemia. Hemoplasmas generally appear in the blood in a cyclical manner during periods of bacteremia. The number of organisms increases to a peak value within one to five days, followed by a rapid decline. The number of organisms in the blood can range from greater than 90% to less than 1% of RBCs detected in three hours or detected by PCR (Grob, 2015).

In this phase the microorganisms are evident, by means of the technique of direct observation in smears. *Mycoplasma* spp can adhere in this way to the erythrocyte membrane, in this way it can affect its integrity, reduce its half-life; where the production of specific studies to hemoplasmas is made possible, causing a resistant-antibody-complement reaction, thus destroying the red blood cells (Mayors lab, 2015).

The early decrease and emergence of the volume of the cell package, can increase rapidly, being related to the appearance and disappearance of microorganisms in the blood, these changes may be due to splenic sequestration of parasitized erythrocytes and late release of non-parasitized erythrocytes, or may they will remain low and continue to decline for a day or more after this phase, due to the destruction of the parasitized erythrocytes. The number of bacteria increases to a certain point in 1 to 5 days, to then give the synchronized disappearance of the blood that occurs in 2 hours or less, after this period, the *Mycoplasma* spp. It may or may not be seen on

sangre que ocurre en 2 horas o menos, luego de este periodo, los *Mycoplasma* spp. se podrán o no observar en el frotis sanguíneo por varios días. La repetición de estos episodios puede causar el daño progresivo del eritrocito acortando el periodo de la vida (Nash, 2007).

Durante la fase de recuperación el VGA vuelve a la normalidad, o bien se acerca al rango de referencia. En esta fase también se dificulta la visualización de los microorganismos en frotis sanguíneo (Sykes, 2015).

En la fase asintomática los gatos se mantienen como portadores crónicos, pudiendo permanecer en esta condición meses, años o de por vida, ya que la bacteria sigue evadiendo el sistema inmune. La reactivación puede ocurrir en situaciones de estrés, enfermedades concurrentes o neoplasias (Sykes, 2010), (Messick y Harvey, 2011).

El bazo que funciona como un filtro de sangre rico en macrófagos y linfocitos, sirve para eliminar los antígenos transmitidos por sangre para la elaboración de respuestas inmunes específicas de estos antígenos, los gatos a excepción de otros animales requieren de una esplenectomía antes de producirse la enfermedad clínica por el agente etiológico; dicho microorganismo se eliminará de forma más lenta en aquellos gatos esplenectomizados, provocando infecciones que duran el doble que en aquellos gatos no esplenectomizados. El esplenectomizar no evitará la incubación o aumentar la gravedad de la enfermedad, pero si se realiza luego de la enfermedad, ocasionará la reaparición momentánea del agente en la sangre, en el que la mayoría de los casos el volumen del paquete celular no disminuirá desde el punto de vista clínico (Tasker, 2010).

Síntomas y signos clínicos

Los gatos que sufren de anemia infecciosa felina

the blood smear for several days. The repetition of these episodes can cause progressive damage to the erythrocyte, shortening the period of life (Nash, 2007).

During the recovery phase the VGA returns to normal, or approaches the reference range. In this phase, the visualization of microorganisms in blood smears is also difficult (Sykes, 2015).

In the asymptomatic phase, cats remain chronic carriers, being able to remain in this condition for months, years or for life, since the bacteria continue to evade the immune system. Reactivation can occur in situations of stress, concurrent diseases or neoplasms (Sykes, 2010), (Messick and Harvey, 2011).

The spleen, which functions as a blood filter rich in macrophages and lymphocytes, serves to eliminate the extreme ends by blood for the elaboration of specific immune responses of these ends, cats, with the exception of other animals, require a splenectomy before the disease occurs clinic by the etiological agent; said microorganism will be eliminated more slowly in those splenectomized cats, causing infections that last twice as long as in non-splenectomized cats. Splenectomy will not prevent incubation or increase the severity of the disease, but if performed after the disease, it will cause the momentary reappearance of the agent in the blood, in which in most cases the volume of the cell package will not decrease from the original. clinical point of view (Tasker, 2010).

Clinical signs and symptoms

Cats suffering from feline infectious anemia classically present in their clinical history:

clásicamente presentan en su historia clínica: letargia, pérdida del apetito y mucosas pálidas. Estos animales pueden estar severamente deshidratados y en ocasiones presentar un cuadro febril. Por otro lado, pueden padecer ictericia y otros signos no tan específicos como vómitos y diarreas (Kornya, 2016).

La anemia en la micoplasmosis hemotrópica felina se le atribuye a la destrucción de los eritrocitos. Los signos clínicos se caracterizan principalmente por una hemólisis extravascular y la anormalidad hematológica más común es una anemia macrocítica normocrómica de tipo regenerativa (Ameldev y Tresamol, 2017).

El gato afectado por *Mycoplasma* spp. presenta además, un abdomen distendido causado por la esplenomegalia y hepatomegalia, la esplenomegalia puede estar ocasionada, por una respuesta inmune exagerada, en el cual se presenta una acumulación no solo de leucocitos en la pulpa blanca, sino a fenómenos de secuestro esplénico, mientras que las afecciones hepáticas puede estar relacionadas con la presencia de complejos inmunes acumulados en dicho órgano, causando fenómenos pro inflamatorios como la hepatitis o colangitis (Molina y Pacheco, 2016).

Amiret (2008) plantea que la hemoplasmosis felina puede inducir un síndrome de poliartritis crónica semejante a la artritis que se presenta en los roedores, producida por *Mycoplasma* spp., que se cree que es por respuesta proliferativa de las células T, si la enfermedad es secundaria, se observará lo siguiente:

1- Cuadro de gravedad moderada en pacientes con leucemia viral felina (LeViF) y/o inmunodeficiencia viral felina (VIF) negativos pero con otras afecciones inmunosupresoras (nefropatías, pancreatitis, tumores, gastroenteritis crónicas, etc.).

lethargy, loss of appetite and pale mucous membranes. These animals can be severely dehydrated and sometimes have a feverish picture. On the other hand, they may suffer from jaundice and other non-specific signs such as vomiting and diarrhea (Kornya, 2016).

The anemia in feline hemotropic mycoplasmosis is attributed to the destruction of erythrocytes. Clinical signs are mainly characterized by extravascular hemolysis, and the most common hematologic abnormality is regenerative-type normochromic macrocytic anemia (Ameldev and Tresamol, 2017).

The cat affected by *Mycoplasma* spp. also presents a distended abdomen caused by splenomegaly and hepatomegaly, splenomegaly may be caused by an exaggerated immune response, in which there is an accumulation not only of leukocytes in the white pulp, but also splenic sequestration phenomena, while liver conditions may be related to the presence of immune complexes accumulated in said organ, causing pro-inflammatory phenomena such as hepatitis or cholangitis (Molina and Pacheco, 2016).

Amiret (2008) suggests that feline hemoplasmosis can induce a chronic polyarthritis syndrome similar to the arthritis that occurs in rodents, caused by *Mycoplasma* spp., which is believed to be due to the proliferative response of T cells, if the disease is Secondary, the following will be observed:

1- Box of moderate severity in patients with negative feline viral leukemia (LeViF) and/or feline viral immunodeficiency (FIV) but with other immunosuppressive conditions (nephropathies, pancreatitis, tumors, chronic gastroenteritis, etc.).

2- Table of high severity in cats with positive

2- Cuadro de gravedad elevada en gatos con leucemia viral felina y/o Inmunodeficiencia viral felina positivos, presentaran una anemia muy marcada, decaimiento, emaciación con pobre respuesta al tratamiento.

Diagnóstico

Citología

Dado que estas bacterias son difíciles de cultivar, los métodos comunes de diagnóstico son la citología y los exámenes microscópicos (Onofre, 2018).

El diagnóstico de los distintos hemoplasmas se realiza básicamente con la ayuda de un microscopio al examinar extendidos de sangre periférica teñidos con la coloración Giemsa observándose pequeñas formaciones cocoides basófilas no refractarias en forma de cadena o anillo en la superficie del eritrocito (Saqib *et al.*, 2016).

Los cambios hematológicos que se observan a la observación directa al microscopio son la anemia hemolítica con intensa regeneración resultando en una anemia macrocítica hipocrómica con policromasia, anisocitosis, presencia de cuerpos de Howell-Jolly y reticulocitosis. Además, se puede observar el plasma icterico por hemólisis intravascular. Cuando ocurre anemia hemolítica inmunomediada pueden observarse esferocitos en grandes cantidades, así como, eritrofagocitosis. La ausencia de anisocitosis o policromasia acentuada puede sugerir infecciones superagudas con un periodo corto por una respuesta inflamatoria a la presencia del virus de leucemia felina, al virus de inmunodeficiencia felina y/o al virus de peritonitis infecciosa felina (Martínez *et al.*, 2016).

Sin embargo, el estudio mediante frotis

feline viral leukemia and/or feline viral immunodeficiency, they will present a very marked anemia, decay, emaciation with poor response to treatment.

Diagnostic

a. Cytology

Since these bacteria are difficult to culture, common diagnostic methods are cytology and microscopic examinations (Onofre, 2018).

The diagnosis of the different hemoplasmas is basically carried out with the help of a microscope when examining peripheral blood smears stained with Giemsa staining, observing small non-refractory basophilic coccoid formations in the form of a chain or ring on the surface of the erythrocyte (Saqib *et al.*, 2016).

Hematological changes observed by direct microscopic observation are hemolytic anemia with intense regeneration resulting in hypochromic macrocytic anemia with polychromasia, anisocytosis, presence of Howell-Jolly bodies, and reticulocytosis. In addition, icteric plasma may be seen due to intravascular hemolysis. When immune-mediated hemolytic anemia occurs, spherocytes can be seen in large numbers, as well as erythrophagocytosis. The absence of anisocytosis or accentuated polychromasia may suggest super-acute infections with a short period due to an inflammatory response to the presence of feline leukemia virus, feline immunodeficiency virus and/or feline infectious peritonitis virus (Martínez *et al.*, 2016).

However, the study by blood smear (microorganisms can be confused with precipitate or other artifacts) has low sensitivity, especially for cats in a chronic state of the

sanguíneo (los microorganismos pueden ser confundidos con precipitado u otros artefactos) presenta baja sensibilidad especialmente para gatos en estado crónico de la enfermedad (Wardrop *et al.*, 2016).

Hemograma

En el hemograma completo la presencia de anemia, que se podrá producir por 2 mecanismos, ocasionado uno por la acción directa del hemoplasma sobre la membrana eritrocitaria provocando la fragilidad del eritrocito, acortando la vida a 5 días, y el otro por acción inmunomediada produciendo algunos antígenos de superficie que se ocultaran y aparecerán otros, generándose así una reacción antígeno – anticuerpo complemento, provocando una hemólisis; que con el tiempo producirán autoanticuerpos, que aumentaran la lisis eritrocitaria donde resulta en decadencia el número de células rojas por hemólisis (Harvey, 2006; Macedo *et al.*, 2016).

Por lo general el recuento de glóbulos blancos está aumentado con neutrofilia en los casos agudos y con monocitosis en los crónicos (Hidalgo y Méndez, 2013).

Mendes *et al.* (2013) hizo un primer reporte de ‘*Candidatus Mycoplasma haemominutum* en coinfección con *Cytauxzoon felis* (protozoo) causando en gatos de Brasil cambios hematológicos y en la bioquímica sanguínea (neutrofilia, linfopenia, trombocitopenia, aumento de niveles de alanina aminotransferasa (ALT), aspartato aminotransferasa (AST) y del Nitrógeno Ureico en sangre).

Pruebas serológicas

La Reacción de Coombs o prueba de antiglobulina directa es un estudio que por lo general dará resultados positivos, pero no

disease (Wardrop *et al.*, 2016).

b. Complete blood count

In the complete blood count, the presence of anemia, which may be produced by 2 mechanisms, one caused by the direct action of the hemoplasma on the erythrocyte membrane causing erythrocyte fragility, shortening life to 5 days, and the other by immune-mediated action producing some surface antigens that will hide and others will appear, thus generating an antigen-complement antibody reaction, causing hemolysis; that over time they will produce autoantibodies, which will increase erythrocyte lysis, resulting in a decrease in the number of red cells due to hemolysis (Harvey, 2006; Macedo *et al.*, 2016).

In general, the white blood cell count is increased with neutrophilia in acute cases and with monocytosis in chronic cases (Hidalgo and Méndez, 2013).

Mendes *et al.* (2013) made a first report of ‘*Candidatus Mycoplasma haemominutum* in coinfection with *Cytauxzoon felis* (protozoan) causing hematological and blood biochemical changes in cats from Brazil (neutrophilia, lymphopenia, thrombocytopenia, increased levels of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST) and blood urea nitrogen).

c. Serological tests

The Coombs Reaction or direct antiglobulin test is a study that will generally give positive results, but it does not show the state of true autoimmunity, this test consists of extracting

demuestra el estado de autoinmunidad verdadera, dicha prueba consiste en extraer sangre del animal positivo a la enfermedad, con anticoagulante y metiéndose en refrigeración para que al momento en que se vaya a utilizar, se proceda al lavado para eliminar el suero libre, luego se incubara con un suero de antiglobulina, para obtener mejores resultados, esperando se tenga actividad contra inmunoglobulina M, inmunoglobulina G y componentes del sistema del complemento. Los eritrocitos cubiertos con autoanticuerpos o componentes del complemento serán aglutinados por el suero de antiglobulina, pero a veces la inmunoglobulina M llegara a tener una afinidad tan baja por los eritrocitos que se desprende, y que solo se dejen componentes del sistema del complemento en la superficie (Benard, 2009).

Para cuantificar la respuesta inmune de tipo humoral, se han desarrollado ensayos ELISA basados en la proteína recombinante DnaK de *Mycoplasma haemofelis*. Esta proteína reconoce anticuerpos para *Mycoplasma haemofelis* y en menor grado también para *Candidatus Mycoplasma turicensis* y *Candidatus Mycoplasma haemominutum* (Barker et al., 2010).

Los gatos infectados experimentalmente se vuelven seropositivos tras la infección, con una mayor respuesta de anticuerpos en aquellos gatos inoculados con *M. haemofelis* en comparación con 'Ca. M. haemominutum' y 'Ca. M. turicensis'. Esto podría haber sucedido porque la respuesta inmunitaria humoral se dirige contra epítomos conservados específicos del clado y/o específicos de la especie del DnaK de *M. haemofelis*, o es una medida del grado por el que la respuesta inmunitaria frente a DnaK se desencadena por parte de la especie infectiva de hemoplasma debido a la gravedad de la enfermedad. Los niveles de anticuerpos fueron

blood from the animal positive for the disease, with anticoagulant and putting it in refrigeration so that at the time it is to be used, proceed to wash to eliminate free serum, then incubate with an antiglobulin serum, to obtain better results, hoping to have activity against immunoglobulin M, immunoglobulin G and components of the complement system. Red cells covered with autoantibodies or complement components will be agglutinated by serum antiglobulin, but sometimes the immunoglobulin M will have such a low affinity for the red cells that it is shed, leaving only components of the complement system on the surface. (Beard, 2009).

To quantify the humoral immune response, ELISA assays have been developed based on the recombinant protein DnaK from *Mycoplasma haemofelis*. This protein recognizes antibodies to *Mycoplasma haemofelis* and to a lesser extent also to *Candidatus Mycoplasma turicensis* and *Candidatus Mycoplasma haemominutum* (Barker et al., 2010).

Experimentally infected cats become seropositive upon infection, with a higher antibody response in those cats inoculated with *M. haemofelis* compared to 'Ca. M. haemominutum' and 'Ca. M. turicensis'. This could have been because the humoral immune response is directed against conserved clade-specific and/or species-specific epitopes on *M. haemofelis* DnaK, or is a measure of the degree to which the immune response against DnaK is triggered by of the infective species of hemoplasma due to the severity of the disease. Antibody levels were highest in the immediate post-infectious period (about 2-4 weeks), suggesting that antibody levels may help

máximos en el periodo pos-infeccioso inmediato (unas 2-4 semanas), lo que sugiere que los niveles de anticuerpos pueden ayudar a diferenciar la infección aguda de la crónica con *M. haemofelis*. Esta diferenciación podría ser útil para que el veterinario intente valorar si es probable que la infección con hemoplasma es la causa de enfermedad en un gato anémico puesto que hay gatos portadores asintomáticos y la anemia es cada vez más común en gatos infectados de forma aguda con *M. haemofelis*. La reactividad cruzada entre las especies de hemoplasmas vista en los ensayos serológicos existentes limita su utilidad, pero al ser la serología más sensible que PCR para detectar la exposición a hemoplasma (se han identificado gatos seropositivos negativos para PCR) (Tasker, 2018).

Bioquímica sanguínea

Las pruebas bioquímicas no muestran resultados significativos, aunque, en algunos casos pueden hallarse aumentadas la asparto aminotransferasa (AST), la alanino amino transferasa (ALT) y la fosfatasa alcalina (FAS), así como, también la bilirrubina sérica, debido a la hemólisis que se lleva a cabo por la destrucción de los glóbulos rojos, por la rápida disminución en el volumen del paquete celular porque los eritrocitos se pueden secuestrar en capilares y espacios vasculares del bazo sin que sean destruidos. La concentración de la proteína plasmática (6-8 gr/dl), puede aumentar en algunos gatos y aquellos gatos en la fase terminal de la enfermedad pueden presentar hipoglucemia (Minovich y Paludi, 2004).

Actualmente el estudio de las concentraciones de un grupo de proteínas séricas conocidas como Proteínas de Fase Aguda (APP) permite conocer que los animales están expuestos a un estímulo antiinflamatorio. En el gato son consideradas biomarcadores en diferentes enfermedades

differentiate acute from chronic infection with *M. haemofelis*. This differentiation could be useful for the veterinarian in trying to assess whether hemoplasma infection is likely to be the cause of disease in an anemic cat since there are asymptomatic carrier cats and anemia is becoming more common in cats acutely infected with *M. haemofelis*. Cross-reactivity between hemoplasma species seen in existing serologic assays limits their utility, but serology is more sensitive than PCR for detecting hemoplasma exposure (seropositive cats negative for PCR have been identified) (Tasker, 2018).

d. blood biochemistry

Biochemical tests do not show significant results, although in some cases aspart aminotransferase (AST), alanine amino transferase (ALT) and alkaline phosphatase (FAS) may be increased, as well as serum bilirubin, due to hemolysis which is carried out by the destruction of red blood cells, by the rapid decrease in the volume of the cell package because the erythrocytes can be sequestered in the capillaries and vascular spaces of the spleen without being destroyed. Plasma protein concentration (6-8 g/dl) may be increased in some cats, and those cats in the terminal phase of the disease may present with hypoglycemia (Minovich and Paludi, 2004).

Currently, the study of the concentrations of a group of serum proteins known as Acute Phase Proteins (APP) allows knowing that animals are exposed to an anti-inflammatory stimulus. In the cat they are considered biomarkers in different infectious diseases such as in the case of feline hemotropic mycoplasmosis (Vilhena et al., 2018).

infecciosas tal como en el caso de micoplasmosis hemotrópica felina (Vilhena *et al.*, 2018).

Pruebas moleculares

Actualmente la detección y diferenciación de *Mycoplasma* spp. hemotrópico se realiza por el método de mayor sensibilidad y especificidad que es la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) (Baumann *et al.*, 2015).

Con el uso de PCR se obtiene una alta sensibilidad, además, se genera un producto que se puede secuenciar, comparar y analizar filogenéticamente. Esto ha permitido comprobar la existencia de distintas especies y variedades de hemoplasma. Por el mismo motivo, el PCR ha permitido conocer la prevalencia, analizar los factores de riesgo, los cuadros clínicos generados, las relaciones que tiene con otros agentes y enfermedades, entre otros, lo que explica el aumento actual de las investigaciones sobre el tema (Witman, 2010).

Lesiones anatomopatológicas

A la necropsia las lesiones macroscópicas que se podrán observar son los tejidos pálidos, una emaciación que se encontrará alrededor del 75 %, esplenomegalia alrededor del 50 % e ictericia ligera a moderada (Hofmann y Boretti, 2005).

Mientras que las lesiones microscópicas que se pudieran encontrar son una hiperplasia eritroide y a veces mieloide de la medula ósea y congestión pasiva del hígado, hematopoyesis extramedular, hiperplasia folicular, eritrofagocitosis y hemosiderosis en el bazo, y en ciertos casos puede presentarse una degeneración grasa con necrosis centrolobulillar del hígado (Benard, 2009).

Tratamiento

Para el tratamiento de micoplasmosis es habitual el uso de antibióticos como tetraciclinas,

e. molecular tests

Currently the detection and differentiation of *Mycoplasma* spp. Hemotropic is performed by the method with the highest sensitivity and specificity, which is the Polymerase Chain Reaction (PCR) (Baumann *et al.*, 2015).

With the use of PCR, a high sensitivity is obtained, in addition, a product is generated that can be sequenced, compared and analyzed phylogenetically. This has made it possible to verify the existence of different species and varieties of hemoplasma. For the same reason, the PCR has allowed to know the prevalence, analyze the risk factors, the clinical pictures generated, the relationships it has with other agents and diseases, among others, which explains the current increase in research on the subject (Whitman, 2010).

Pathological lesions

At necropsy, the macroscopic lesions that can be observed are pale tissues, emaciation that will be found around 75%, splenomegaly around 50% and mild to moderate jaundice (Hofmann and Boretti, 2005).

While the microscopic lesions that could be found are erythroid and sometimes myeloid hyperplasia of the bone marrow and passive congestion of the liver, extramedullary hematopoiesis, follicular hyperplasia, erythrophagocytosis and hemosiderosis in the spleen, and in certain cases fatty degeneration with necrosis may occur. centrilobular of the liver (Benard, 2009).

Treatment

For the treatment of mycoplasmosis, the use of antibiotics such as tetracyclines,

cloranfenicol, enrofloxacin, doxiciclina, terapia inmuno-supresora y en casos muy severos, la transfusión sanguínea es sugerida como componentes en el tratamiento de la enfermedad (Tapia, 2018).

Estudios recientes realizados por Novaco *et al.* (2018) recomiendan a partir de un monitoreo por PCR, un tratamiento con doxiciclina (10 mg/kg durante 28 días) en caso de una infección producida por *Mycoplasma haemofelis* y solo en caso de que persista la bacteriemia o reaparezca plantean el empleo de marbofloxacin (2 mg/kg durante 14 días).

Control y prevención

Debería someterse a pruebas PCR para infección con hemoplasmas a los gatos donantes de sangre para ayudar a prevenir la transmisión inadvertida a partir de un gato portador asintomático. En vista de la posible transmisión por vectores, se recomienda utilizar un tratamiento preventivo para pulgas y garrapatas. Trabajos recientes sugieren que aparece inmunidad protectora tras la infección con *M. haemofelis*, abriendo el camino a futuras vacunas contra hemoplasmas (Tasker, 2018).

Potencial zoonótico

Algunos estudios apuntan a un potencial zoonótico mediante la identificación molecular de hemoplasmas en humanos y dentro de ellos profesionales inmunosuprimidos, algunos en contacto frecuente con animales infectados por *Mycoplasma* spp. (Alves, 2018).

Conclusiones

La infección por *M. haemofelis* se considera una enfermedad frecuente en medicina veterinaria, en especial en nuestro país en donde la mayor parte de los gatos están expuestos a la infestación por

chloramphenicol, enrofloxacin, doxycycline, immunosuppressive therapy, and in very severe cases, blood transfusion is suggested as components in the treatment of the disease (Tapia, 2018).

Recent studies by Novaco *et al.* (2018) recommend, based on PCR monitoring, treatment with doxycycline (10 mg/kg for 28 days) in the event of an infection caused by *Mycoplasma haemofelis* and only in the event that bacteremia persists or reappears, they propose the use of marbofloxacin (2mg/kg for 14 days).

Control and prevention

Blood donor cats should be PCR tested for hemoplasma infection to help prevent inadvertent transmission from an asymptomatic carrier cat. In view of the possible transmission by vectors, it is recommended to use a preventive treatment for fleas and ticks. Recent work suggests that protective immunity appears after infection with *M. haemofelis*, opening the way for future hemoplasma vaccines (Tasker, 2018).

Zoonotic potential

Some studies point to a zoonotic potential through the molecular identification of hemoplasmas in humans and among them immunosuppressed professionals, some in frequent contact with animals infected by *Mycoplasma* spp. (Alves, 2018).

Conclusions

Infection by *M. haemofelis* is considered a frequent disease in veterinary medicine,

su vector *Ctenocephallides felis*, por este motivo es importante hacer un control especial de las pulgas y demás vectores que tienen la capacidad de transmitir enfermedades infecciosas.

El uso de las tetraciclinas se convierte en una importante herramienta clínica a la hora del manejo de la micoplasmosis felina, sin embargo, hay que seguir las indicaciones médicas luego de su administración para evitar efectos adversos.

A pesar de un mayor conocimiento del potencial zoonótico de especies de micoplasmas, es necesario tener cuidado en el manejo de la sangre y tejidos de los gatos infectados especialmente entre los veterinarios y equipos auxiliares en hospitales y clínicas veterinarias. La micoplasmosis es una patología infecciosa importante y su papel como enfermedad de riesgo zoonótico debe ser mejor investigado. Campañas de educación para los grupos de riesgo son bienvenidas y deben ser coordinadas por los equipos de salud para prevenir la aparición de esta enfermedad.

especially in our country where most cats are exposed to infestation by its vector *Ctenocephallides felis*, for this reason it is important to carry out a special control of the fleas and other vectors that have the ability to transmit infectious diseases.

The use of tetracyclines becomes an important clinical tool when managing feline mycoplasmosis, however, medical indications must be followed after administration to avoid adverse effects.

Despite increased knowledge of the zoonotic potential of mycoplasma species, care in handling blood and tissue from infected cats is necessary, especially among veterinarians and ancillary teams in hospitals and veterinary clinics. Mycoplasmosis is an important infectious pathology and its role as a zoonotic risk disease should be better investigated. Education campaigns for risk groups are welcome and should be coordinated by health teams to prevent the onset of this disease.

Bibliografía / References

- Aklilu, E., Shaharunizim, N., Francis, J. y Anurrdin, S. 2016. Molecular investigation of *Mycoplasma haemofelis* in straycats in Kota Bharu, Kelantan. *Tropical Biomedicine*, 33 (4), 608-612.
- Alves, D. 2018. *Prevalência de hemoparasitos em felinos domésticos da micro região de uberlândia, minas gerais, brasil e correlação com variáveis epidemiológicas*. Trabajo final de residencia. Minas Gerais, Brasil, Universidade Federal de Uberlândia. Instituto de Ciências Biomédicas.
- Ameldev, P. y Tresamol, P. 2017. Molecular Detection and Therapeutic Management of Feline Mycoplasmosis. *IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science (IOSR-JAVS)*, 10 (2), 83-86.
- Ameldev, P. y Tresamol, P. 2018. Hemotropic Mycoplasmosis - Emerging Cause of Infectious Anaemia in Dogs and Cats. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 7 (1), 1308-1311.
- Amiret, R. 2008. *Parásitos de la sangre, Haemobartonellas* [en línea]. España. Disponible en: <http://www.mascotas.org> [Consulta: 19 diciembre 2017].
- Attipa, C., Papasouliotis, K., Solano-gallego, L., Baneth, G., Nachum-biala, Y., Sarvani, E., Knowles, T., Mengi, S., Morris, D., Helps, C. y Tasker, S. 2017. Prevalence study and risk factor

- analysis of selected bacterial, protozoal and viral, including vector-borne, pathogens in cats from Cyprus. *Parasites & Vectors*, 10 (130), 1-14.
- Barker, E., Helps, C., Heesom, K., Arthur, C., Peters, I., Hofmann-lehmann, R. y Tasker, S. 2010. Detection of humoral response using a recombinant heat shock protein 70, DnaK, of *Mycoplasma haemofelis* in experimentally and naturally hemoplasma-infected cats. *Clin Vaccine Immunol*, 17, 1926-1932.
- Baumann, J., Novacco, M. y Willi, B. 2015. Lack of cross-protection against *Mycoplasma haemofelis* infection and signs of enhancement in “*Candidatus Mycoplasma turicensis*”-recovered cats. *Veterinary Research*, 46 (104), 1-16.
- Benard, J. 2009. *Determinación de la presencia de Mycoplasma haemofelis en gatos, en el refugio AWARE de Sumpango, Sacatépequez, Guatemala*. Trabajo de Diploma. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Bergmann, M., Englert, T. y Stuetzer, B. 2017. Risk factors of different hemoplasma species infections in cats. *BMC Veterinary Research*, 13, 1-6.
- Castro, J. 2010. Actualización de la hemoplasmosis felina. *TecnoVet*, (2), 18-23.
- Chalkowski, K., Wilson, A., Lepczyk, C. y Zohdy, S. 2019. Who let the cats out? A global meta-analysis on risk of parasitic infection in indoor versus outdoor domestic cats (*Felis catus*). *Biol. Lett*, 15, 1-7.
- Díaz-regañón, D., Villaescusa, A. y Ayllón, T. 2018. Epidemiological study of hemotropic mycoplasmas (hemoplasmas) in cats from central Spain. *Parasites & Vectors*, 11 (140), 1-9.
- Firmino, F. P., Aquino, L. C. y Marçola, T. G. 2016. Frequency and hematological alterations of different hemoplasma infections with retrovirus co-infections in domestic cats from Brazil. *Pesq. Vet. Bras*, 36 (8), 731-736.
- Grob, M. 2015. *Efecto de la infección por Mycoplasmas Hemotrópicos sobre los valores hematológicos y su asociación con anemia en felinos domésticos (Felis catus) de Valdivia, Chile*. Trabajo de Diploma. Chile, Universidad Austral de Chile.
- Harvey, J. 2006. *Infectious disease of feline blood, Hemotropic mycoplasmosis (Haemobartonellosis)* [en línea]. Estados Unidos. Disponible en: <http://www.ivis.org/proceedings/navc/2006/SAE/173.asp?LA=1> [Consulta: 19 diciembre 2017].
- Hidalgo, L. y Méndez, J. 2013. *Determinación de Hemobartonelosis felina en las parroquias urbanas de la ciudad de Cuenca*. Trabajo de Diploma. Ecuador, Universidad de Cuenca.
- Hofmann, R. y Boretti, F. 2005. *Mycoplasma haemofelis infection* [en línea]. Estados Unidos. Disponible en: <http://www.researchprojects.ch/vet/unit57010/area649/p4705.html> [Consulta: 19 diciembre 2017].
- Hosseini, S., Akhtardanesh, B., Nourollahi, S. y Khalili, M. 2016. Hemotropic Mycoplasmas in Stray Cats in Kerman, Iran. *J Med Bacteriol*, 5, 1-8.
- Kornya, M. 2016. *Feline Hemotropic Mycoplasma (Feline Infectious Anemia)* [en línea]. Estados Unidos. Disponible en: www.winnfelinefoundation.org [Consulta: 25 septiembre 2017].
- Macedo, J., Guimarães, A. y Bräul, R. 2016. Hematological changes associated with hemoplasma infection in cats in Rio de Janeiro, Brazil. *Braz. J. Vet. Parasitol., Jaboticabal*, 25 (4), 441-449.
- Makino, H., Jesus, D. y Franco, V. 2018. Natural hemoplasma infection of cats in Cuiaba, Mato Grosso, Brazil. *Ciências Agrárias*, 39 (2), 875-880.

- Marcondes, M., Hirata, K., Vides, J., Sobrinho, L., Azevedo, J., Vieira, T. y Vieira, R. 2018. Infection by *Mycoplasma* spp., feline immunodeficiency virus and feline leukemia virus in cats from an area endemic for visceral leishmaniasis. *Parasites & Vectors*, 11, 1-8.
- Martínez, M., Charas, I. F., Kolber, M. y Duarte, M. 2016. Análise hematológica em gatos domésticos (*Felis Silvestris Catus*). Diagnosticados com Micoplasmose em Osasco, São Paulo - Brasil. *Revista Lusófona de Ciência e Medicina Veterinária*, 8, 1-9.
- Mayors lab. 2015. *Mycoplasma haemofelis* [en línea]. Buenos Aires, Argentina. Disponible en: <http://mayorslab.com.ar/veterinarios/wpcontent/uploads/2015/11/haemobartonellosis.pdf> [Consulta: 23 mayo 2019].
- Mendes, L., Mello, A. y Macieira, D. 2013. Cytauxzoon felis and 'Candidatus Mycoplasma haemominutum' coinfection in a Brazilian domestic cat (*Felis catus*). *Rev. Bras. Parasitol. Vet., Jaboticabal*, 22 (2), 289-291.
- Messick, J. B. 2004. Hemotrophic Mycoplasmas (hemoplasmas): a review and new insights into pathogenic potential. *Vet. Clin. Pathol*, 33, 2-13.
- Messick, J. y Harvey, J. 2011. *Infectious Diseases of the Dog and Cat*. 4th ed. St. Louis, Missouri, USA: Saunders-Elsevier.
- Messick, J., Cooper, S. y Berent, L. 1998. Development and evolution of a PCR-based assay for detection of Hemobartonella felis in cats and differentiation of H. felis from related bacteria by restriction fragment length analysis. *J. Clin. Microbiol*, 36, 462-466.
- Minovich, F. y Paludi, A. 2004. *Libro de Medicina Felina Práctica II*. Argentina: Royal Canine.
- Molina, V. y Pacheco, C. 2016. Manejo terapéutico de lipidosis hepática felina por Mycoplasma haemofelis. *Rev. CES Med. Zootec*, 11 (2), 103-114.
- Nash, H. 2007. *Haemobartonellosis (anemia infecciosa felina) en gatos* [en línea]. Estados Unidos. Disponible en: http://www.peteducation.com/article_cfmcls=1&cat=1316&articleid=29214.htm [Consulta: 19 diciembre 2017].
- Novacco, M., Sugiarto, S., Willi, B., Baumann, J., Spiri, A., Oestmann, A., Riond, B., Boretti, F., Naegeli, H. y Hofmann-lehmann, R. 2018. Consecutive antibiotic treatment with doxycycline and marbofloxacin clears bacteremia in Mycoplasma haemofelis-infected cats. *Veterinary Microbiology*, 217, 112-120.
- Onofre, M. 2018. *PREVALENCIA DE MICOPLASMOSIS EN GATOS ATENDIDOS EN LA CASA COMUNAL ANA MARÍA DE OLMEDO DEL CANTÓN DURÁN*. Trabajo de Diploma. Guayaquil, Ecuador, UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL.
- Persichetti, M., Solano-gallego, L., Serrano, L., Altet, L., Reale, S., Masucci, M. y Pennisi, M. 2016. Detection of vector-borne pathogens in cats and their ectoparasites in southern Italy. *Parasites & Vectors*, 9 (247), 1-7.
- Rikihisa, Y., Futohashi, M., Shibata, S., Suto, C., Kawamori, F., Fuerst, P., Kociba, G., Wen, B. y Kawahara, M. 1997. Western Immunoblot analysis of Haemobartonella muris and comparison of 16S rRNA gene sequences of H. muris, H. felis, and Eperythrozoon suis. *J. Clin. Microbiol*, 35, 823-829.
- Saqib, M., Abbas, G. y Khan, L. 2016. Hemato-Biochemical Analysis and Treatment Response to Enrofloxacin in Cats Affected with Feline Hemotropic Mycoplasma. *Pakistan J. Zool*, 48 (5), 1569-1571.

- Sarvani, E., Tasker, S. y Kovacevic, M. 2018. Prevalence and risk factor analysis for feline haemoplasmas in cats from Northern Serbia, with molecular subtyping of feline immunodeficiency virus. *Journal of Feline Medicine and Surgery Open Reports*, 1, 1-10.
- Senthil, N., Nagarajan, K. y Padmanath, K. 2014. A Rare Case Study on Feline Mycoplasmosis. *International Journal of Advanced Veterinary Science and Technology*, 3 (1), 106-108.
- Sykes, J. 2015. Feline Hemotropic Mycoplasmas. *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice*, 40 (6), 1157-1170.
- Sykes, J. E. 2010. Feline Hemotropic Mycoplasmas. *Vet Clin Small Anim*, 40, 1157-1170.
- Tapia.2018. *Determinación de la presencia de Mycoplasma haemofelis en refugios felinos de la ciudad de quito y sus valles*. Trabajo de Diploma. Quito, Ecuador, Universidad Central de Ecuador.
- Tasker, S. 2010. Haemotropic Mycoplasmas, what is the real significance in cats?. *Feline Med Surg*, 12, 369-381.
- Tasker, S. 2018. Hemoplasmosis Felina: Novedades. En: SEVC. España: AVEPA.
- Tasker, S., Gruffydd-jones, T., Belford, C., Beaufile, J., Malik, R., Lobetti, R., Baneth, G., Harrus, S., Shaw, S., Harbour, D., Day, M. y Helps, C. 2003. Phylogenetic analysis of Hemoplasma species: an international study. *J. Clin. Microbiol*, 41, 3877-3880.
- Urbina, S. 2017. *Enfermedad causada por micoplasmas hemotróficos en felinos: Revisión bibliográfica*. Trabajo final de residencia. Argentina, Universidad Nacional de La Plata.
- Vilhena, H., Tvarijonaviciute, A., Cerón, J., Pastorinho, M., Martinez-subiela, S., Pastor, J. y Silvestre-ferreira, A. 2018. Acute phase proteins response in cats naturally infected by hemotropic mycoplasmas. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 56, 1-5.
- Walker, R., Morera, F. y Gómez, M. 2016. PREVALENCE, RISK FACTOR ANALYSIS, AND HEMATOLOGICAL FINDINGS OF HEMOPLASMA INFECTION IN DOMESTIC CATS FROM VALDIVIA, SOUTHERN CHILE [en línea]. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cimid.2016.03.004> [Consulta: 30 noviembre 2017].
- Wardrop, K., Birkenheuer, A., Blais, M., Callan, M., Khon, B., Lappin, M. y Sykes, J. 2016. Update on Canine and Feline Blood Donor Screening for Blood-Borne Pathogens. *J Vet Intern Med*, 30, 15-35.
- Willi, B., Hofmann-lehmann, R., Lutz, H., Reusch, C., Malik, R., Lobetti, R., Meli, M., Cattori, V., Doherr, M., Boretti, F. y Tasker, S. 2006. Phylogenetic analysis of “Candidatus Mycoplasma turicensis” isolates from pet cats in the United Kingdom, Australia, and South Africa, with analysis of risk factors for infection. *J. Clin. Microbiol*, 44, 4430-4435.
- Willi, B., Boretti, F., Hofmann-lehmann, R., Lutz, H., Reusch, C., Wengi, N., Meli, M. y Tasker, S. 2007. From Haemobartonella to hemoplasma: molecular methods provide new insights. *Vet. Microbiol. Dec*, 125, 197-209.
- Willi, B., Hofmann-lehmann, R., Lutz, H., Reusch, C., Meli, M., Tasker, S., Cattori, V. y Boretti, F. 2005. Identification, molecular characterization, and experimental transmission of a new hemoplasma isolate from a cat with hemolytic anemia in Switzerland. *J. Clin. Microbiol*, 43, 2581-2585.

Witman, O. 2010. *Ensayo de PCR para determinar la presencia y la identidad de Mycoplasma hemotropico en gatos de Israel*. Trabajo de Diploma. Chile, Universidad de Chile.

Anexos/ Annex

Anexo 1. Gato de tres años con síntomas de letargia, fiebre, anorexia, mucosas pálidas con presencia de estructuras compatibles con *Mycoplasma* spp. en frotis sanguíneo.

Annex 1. Three-year-old cat with symptoms of lethargy, fever, anorexia, pale mucous membranes with the presence of structures compatible with *Mycoplasma* spp. in blood smear

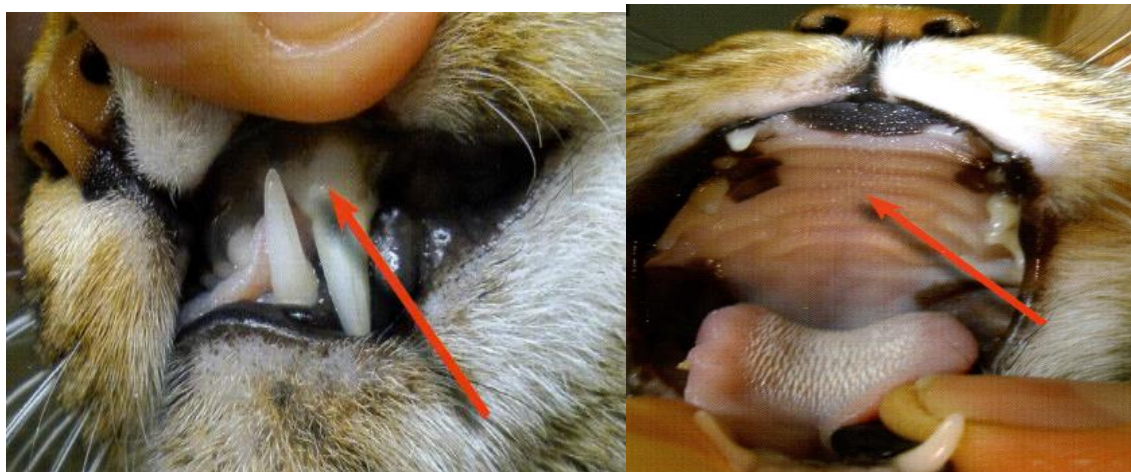


Fuente: Ameldev y Tresamol (2017)

Source: Ameldev and Tresamol (2017)

Anexo 2. Mucosas orales pálidas indica presencia de posible anemia.

Annex 2. Pale oral mucosa indicates the presence of possible anemia.

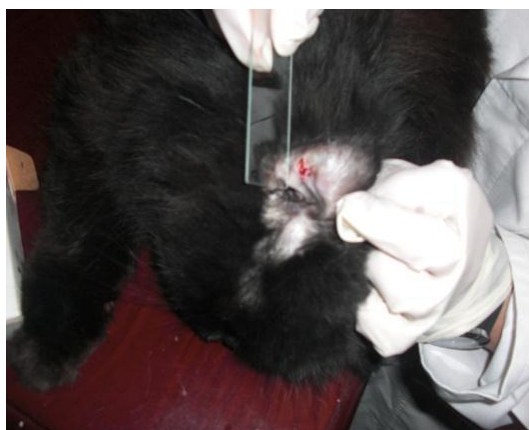


Fuente: Castro (2010)

Source: Castro (2010)

Anexo 3. Toma de muestra de sangre periférica para realizar frotis sanguíneo.

Annex 3. Peripheral blood sample collection for blood smear.

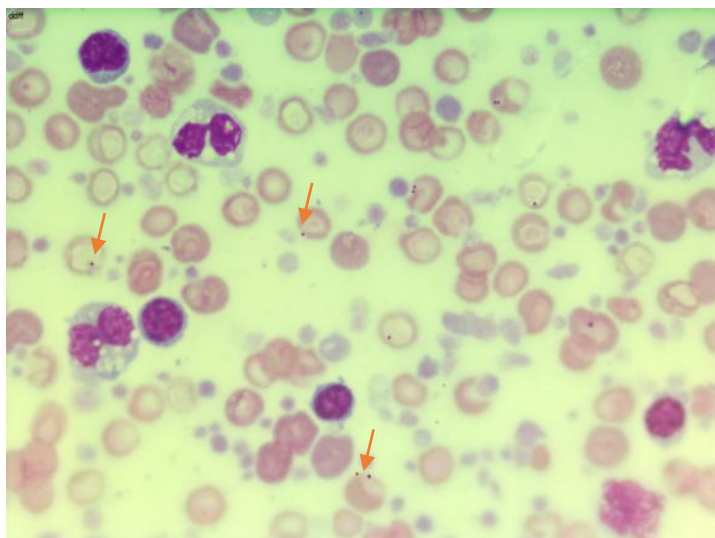


Fuente: Hidalgo y Méndez (2013)

Source: Hidalgo and Méndez (2013)

Anexo 4. Estructuras compatibles con *Mycoplasma* spp. en frotis sanguíneo.

Annex 4. Structures compatible with *Mycoplasma* spp. in blood smear.



Fuente: Ameldev y Tresamol (2017)
Source: Ameldev and Tresamol (2017)

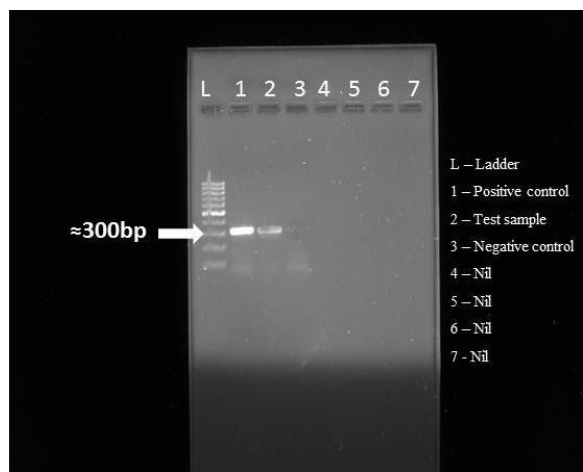
Anexo 5. Extracción de muestra sanguínea para aislamiento de ADN.
Annex 5. Blood sample extraction for DNA isolation.



Fuente: Autores (2019)
Source: Authors (2019)

Anexo 6. Detección molecular de *Mycoplasma haemofelis*.

Annex 6. Molecular detection of *Mycoplasma haemofelis*



Fuente: Ameldev y Tresamol (2017)

Source: Ameldev and Tresamol (2017)