

COMUNICACIÓN

***Mycoplasma haemominutum* en la ciudad de Ibagué (Colombia): reporte de cinco casos**

***Mycoplasma haemominutum* in the city of Ibagué city (Colombia): report of five cases**

**Daniel Mayorga<sup>1,2</sup>, Diego Echeverry-Bonilla<sup>1,3</sup>, Edwin Buriticá-Gaviria<sup>1</sup>, Iang Rondón-Barragán<sup>2</sup>**

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue describir una serie de casos de hemoplasmosis en gatos domésticos en la ciudad de Ibagué (Colombia), y el primer reporte de *Mycoplasma haemominutum* en el país. Muestras de sangre de pacientes ingresados al servicio de consulta externa de la Clínica de Pequeños Animales de la Universidad del Tolima fueron analizadas por PCR punto final para la amplificación del gen 16S ribosomal a fin de obtener un producto final de 194 pb. Además, se hizo biometría hemática y serología para enfermedades virales (Anigen FIV Ab/FeLV Ag Test Kit). Los amplicones obtenidos fueron sometidos a secuenciamiento y análisis bioinformático (Geneious® 8.1.9). Se encontró anemia normocítica hipocrómica en dos gatos, leucocitosis en un gato y trombocitopenia en cuatro de ellos. Dos gatos resultaron serorreactivos para anticuerpos de virus de inmunodeficiencia felina y antígenos de virus de la leucemia felina (VLF<sub>e</sub>) y uno solo fue seropositivo a VLF<sub>e</sub>. Las muestras registraron amplificación positiva en PCR y se evidenció un 98.7% de identidad al análisis de las secuencias del 16S ribosomal con diferentes aislados de *M. haemominutum* reportado en la base de datos. Del conocimiento de los autores, este es el primer reporte de hemoplasmas en la ciudad de Ibagué y el primer reporte de *M. haemominutum* en Colombia.

**Palabras clave:** gatos; hemoplasmas; PCR; anemia; virus de inmunodeficiencia felina; virus de leucemia felina

<sup>1</sup> Grupo de Investigación en Medicina y Cirugía de Pequeños Animales, Departamento de Sanidad Animal, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad del Tolima, Colombia

<sup>2</sup> Grupo de Investigación en Inmunobiología y Patogénesis – GIP, Departamento de Sanidad Animal, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad del Tolima, Colombia

<sup>3</sup> E-mail: [decheverry@ut.edu.co](mailto:decheverry@ut.edu.co)

Recibido: 2 de diciembre de 2018

Aceptado para publicación: 5 de julio de 2019

## ABSTRACT

The aim of this study was to describe a series of cases of hemoplasmosis in domestic cats in the city of Ibagué (Colombia), and the first report of *Mycoplasma haemominutum* in the country. Blood samples from patients admitted to the outpatient service of the Small Animal Clinic of the University of Tolima were analyzed by conventional PCR for the amplification of the 16S ribosomal gene to obtain a final product of 194 pb. In addition, hematic biometrics and serology were performed for viral diseases (Anigen FIV Ab/FeLV Ag Test kit). The amplicons obtained were subjected to sequencing and bioinformatic analysis (Geneious® 8.1.9). It was found hypochromic normocytic anemia in two cats, leukocytosis in a cat and thrombocytopenia in four of them. Two were seropositive for feline immunodeficiency virus antibodies and feline leukemia virus (FeLV) antigens and one was seropositive for FeLV. Samples showed positive amplification by PCR and revealed 98.7% of identity of 16S ribosomal gene compared with different isolates of *M. haemominutum* reported in the database. From the authors' knowledge, this is the first report of hemoplasmas in the city of Ibagué and the first report of *M. haemominutum* in Colombia.

**Key words:** cats; haemoplasmas; PCR; anaemia; feline immunodeficiency virus; feline leukaemia virus

## INTRODUCCIÓN

Las enfermedades infecciosas de origen bacteriano que afectan a los felinos domésticos son de alta incidencia y están relacionadas con cuadros severos de fiebre, decaimiento y anorexia (Little, 2012). En la casuística de los consultorios veterinarios se describen con frecuencia cuadros clínicos compatibles con micoplasmosis felina (Roura *et al.*, 2010), así como en gatos de la calle (Luria *et al.*, 2004), donde son comunes cuadros de anemia, trombocitopenia, pancitopenia y otros signos clínicos no específicos (Barker y Tasker, 2013; Santos *et al.*, 2014).

Tres especies de *Mycoplasma* han sido implicadas en procesos de enfermedad en el gato doméstico: *Mycoplasma haemofelis* (*Mhf*), *Candidatus Mycoplasma haemominutum* (*Mhm*) y *Candidatus Mycoplasma turicensis* (Barker y Tasker, 2013; Tasker *et al.*, 2018). La prevalencia de este tipo de infecciones depende de las condiciones am-

bientales y geográficas, observándose en la mayoría de los casos infecciones con *Mhm* (Assarasakorn *et al.*, 2012; Aquino *et al.*, 2014). El *Mhf* se ha reconocido como el más patógeno; sin embargo, es frecuente la presencia de coinfecciones con otros hemoplasmas o la presentación concomitante de enfermedades virales como las causadas por el virus de la leucemia felina (VLeF) y el virus de inmunodeficiencia felina (VIF) (Marcondes *et al.*, 2018; Sarvani *et al.*, 2018). En Colombia, el diagnóstico ha estado mayormente limitado a la identificación del microorganismo mediante extendidos de sangre, asociado a la historia clínica y los valores paraclínicos de hematología; mientras que otras técnicas como la serología y la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) no se encuentran ampliamente disponibles, de allí que la mayoría de los pacientes reciben desafíos terapéuticos basados en la sospecha clínica.

El presente artículo presenta el primer estudio de casos de micoplasmosis felina en la ciudad de Ibagué utilizando PCR punto final.

## Descripción de los Casos

Los gatos involucrados en este estudio estuvieron castrados y eran de raza gato común europeo, los cuales fueron referidos a la Clínica de Pequeños Animales de la Universidad del Tolima por presentar algún signo de enfermedad o como parte de una revisión clínica de rutina. Todos ellos tenían acceso de manera libre al exterior de sus viviendas.

### *Caso 1*

Macho de 8 años, referido por presentar disfagia y pérdida de peso. Al examen clínico se evidenció temperatura rectal de 39.6 °C, frecuencia cardíaca de 140 lpm, frecuencia ventilatoria de 52 vpm, baja condición corporal (2/5), mucosas ictericas y deshidratación estimada de 9%. Adicionalmente, se observó enfermedad periodontal tipo III, caracterizada por gingivitis, halitosis y glositis concomitante con un proceso ulceroso.

### *Caso 2*

Macho de 2 años, referido para examen clínico de rutina. A la evaluación clínica, las constantes fisiológicas fueron normales, temperatura rectal de 38 °C, frecuencia cardíaca de 140 lpm, frecuencia ventilatoria de 28 vpm, condición corporal (3/5), mucosas rosadas. No se observaron alteraciones clínicas evidentes.

### *Caso 3*

Macho de 1 año, referido por trauma debido a caída de altura. Al examen clínico se evidenció temperatura rectal de 38 °C, frecuencia cardíaca de 116 lpm, frecuencia ventilatoria de 64 vpm, baja condición corporal (2/5), mucosas rosadas. Además, se evidenció enfermedad periodontal tipo I, caracterizada por leve gingivitis, dolor a la palpación y claudicación grado IV de miembro pélvico izquierdo posiblemente asociado a fractura. Adicionalmente, se observó abundante cerumen en conducto auditivo externo y secreción ocular serosa bilateral.

### *Caso 4*

Macho de 2 años, referido por presentar inflamación del globo ocular derecho. Al examen clínico se evidenció una temperatura de 41 °C, frecuencia cardíaca 196 lpm, frecuencia ventilatoria 36 vpm, condición corporal (3/5), mucosas rosadas. Así mismo, se observaron laceraciones a nivel del pabellón auricular, enfermedad periodontal con evidencia de gingivitis y descemetocele con fuga de humor acuoso.

### *Caso 5*

Hembra de 15 años, referida para examen clínico de rutina. Se evidenció temperatura de 38.3 °C, frecuencia cardíaca de 144 lpm, frecuencia ventilatoria de 53 vpm, condición corporal (2.5/5) y mucosas rosadas. Así mismo, enfermedad periodontal con presencia de placa, gingivitis y halitosis, seborrea seca y foco alopecico en región cervical.

## Pruebas de Laboratorio

### *Biometría hemática y serología*

Se obtuvieron muestras sanguíneas de todos los gatos, según metodología descrita por Carvajal (2012). Inicialmente se realizó biometría hemática completa mediante equipo de hematología Hema Screen 18 (AXIOM, Alemania). Posteriormente, se realizaron pruebas SNAP de inmunocromatografía para enfermedades virales (Anigen FIV Ab/FeLV Ag Test Kit, BioNote, Corea del Sur), siguiendo las especificaciones del fabricante.

### *Pruebas moleculares*

Se extrajo ADN a partir de 200 µl de sangre entera utilizando el kit comercial Easy-DNA® (Invitrogen, USA), siguiendo las especificaciones del fabricante. La integridad del ADN aislado fue evaluada mediante amplificación del gen de referencia (constitutivo) beta actina de gato, con un tamaño de

Cuadro 1. Resultados de las pruebas paraclínicas (biometría hemática, test serológico rápido FIV Ab/FeLV Ag, y PCR punto final) aplicadas a cinco gatos comunes europeos en la ciudad de Ibagué (Colombia)

Parámetros <sup>1</sup>	Casos					Valores de referencia <sup>2</sup>
	1	2	3	4	5	
Eritrocitos, 10 <sup>6</sup> µl	3.36	5.96	7.71	5.43	8.68	5.0-10.0
Hemoglobina, g/dl	5.60	6.4	9.7	7.9	11.40	8.0-15.0
Hematocrito, %	18.20	26.0	30.30	25.2	33.40	30-45
VCM, fl	54.17	43.62	30.3	46.41	38.48	39-55
HCM, pg	16.67	10.74	12.58	14.55	13.13	13-17
CMHC, g/dl	30.77	24.62	32.01	31.35	34.13	30-36
Leucocitos, 10 <sup>3</sup> µl	8.7	28.4	11.3	23.6	7.2	5.5 – 19.5
Neutrófilos segmentados, %	76	42	9	70	66	35-75
Neutrófilos en banda, %	8	2	0	6	1	0-3
Eosinófilos, %	0	10	9	1	7	2.0-12.0
Basófilos, %	0	0	0	0	0	-
Linfocitos, %	15	46	82	22	26	20-55
Monocitos, %	1	0	0	1	0	1.0-4.0
Neutrófilos segmentados, %	6.6	11.9	1	16.5	4.8	2.5-12.5
Neutrófilos en banda, 10 <sup>3</sup> µl	0.7	0.6	0	1.4	0.1	0-0.03
Eosinófilos, 10 <sup>3</sup> µl	0	2.8	1	0.2	0.5	0-0.75
Basófilos, 10 <sup>3</sup> µl	0	0	0	0	0	-
Linfocitos, 10 <sup>3</sup> µl	1.3	13.1	9.3	5.2	1.9	1.5-7
Monocitos, 10 <sup>3</sup> µl	0.1	0	0	0.2	0	0-085
Plaquetas, 10 <sup>3</sup> µl	240	167	220	350	250	300-700
Ab FIV, +/-	+	+	-	-	-	-
Ag FeLV, +/-	+	+	-	+	-	-
PCR <i>Mycoplasma</i> , +/-	+	+	+	+	+	-

<sup>1</sup> VCM: Volumen corpuscular medio; HCM: Hemoglobina corpuscular media; CMHC: Concentración media de hemoglobina corpuscular

<sup>2</sup> The Merck Veterinary Manual (2007)

amplicón de 353 bp (pares de bases), utilizando los (*primers*) cebadores (F: CAAGGAGAAGCTCTGCTAC, R: GGTGATCTCCTTCTGCATC) basados en la secuencia reportada en el Genbank (número de acceso XM\_006941899.3). La mezcla maestra para el corrido del PCR tuvo un volumen total de 25 µl que incluyó 20 mM Tris·Cl, 100 mM KCl, 1 mM DTT, 0.1 mM EDTA, 200 µM de cada dATP, dCTP, y dGTP, 1 µM de cada cebador, 0.6 unidades/reacción de *Taq* polimerasa (TopTaq™ PCR,

QUIAGEN®) y 1 µl del ADN blanco. La amplificación fue realizada con una desnaturalización de 94 °C durante 3 min, seguidos por 35 ciclos de desnaturalización (94 °C, 30 s), anillamiento (55 °C, 30 s), extensión (72 °C, 30 s) y una extensión final a 72 °C durante 7 min.

Luego de la evaluación de la integridad del ADN se realizó el PCR para la amplificación del gen 16S ribosomal con el fin de identificar a *Mycoplasma (Haemophilus) spp*

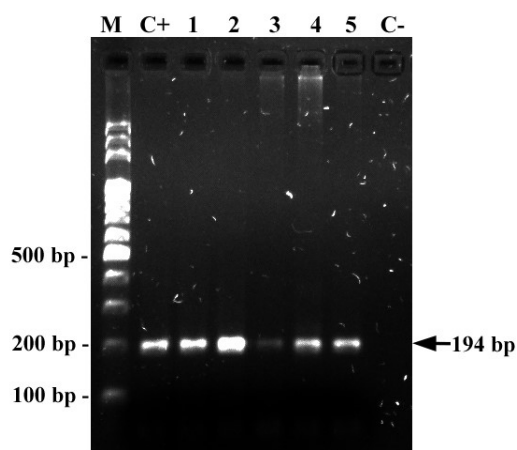


Figura 1. Amplificación del gen 16S ribosomal de *Mycoplasma* spp a partir de muestras sanguíneas de pacientes felinos. Se observa una banda de aproximadamente 194 bp. M: Marcador de peso molecular, 100 bp. C+: control positivo. 1-5: Muestras correspondientes a los casos evaluados. C-: control negativo, muestra sin plantilla de ADN. Gel de agarosa al 1%

mediante los cebadores F-ACGAA-AGTCTGATGGAGCAATA y R-ATTATT-CGGATTTATTGGGCGT, los cuales amplifican un producto de 194 bp. Las condiciones de la mezcla maestra fueron iguales a las descritas para la beta actina. Los productos de las reacciones fueron revelados mediante electroforesis horizontal en gel de agarosa al 1% durante 30 min a 100 V. La amplificación fue realizada con una desnaturalización de 94 °C durante 3 min, seguidos por 35 ciclos de desnaturalización (94 °C, 30 s), anillamiento (60 °C, 30 s), extensión (72 °C, 30 s) y una extensión final a 72 °C durante 7 min. Los amplicones de las muestras positivas fueron purificados y enviados a secuenciamiento por método de Sanger a Macrogen Inc (Seúl, Corea del Sur). La secuencia obtenida fue sometida a análisis bioinformático mediante el software Geneious® 8.1.9 (Biomatters, Nueva Zelanda) (Kearse *et al.*, 2012) usando la base

de datos del NCBI y la plataforma BLAST (Basic Local Alignment Search Tool, <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>).

## RESULTADOS

Los resultados de los parámetros hematológicos y los valores para las pruebas de serología y PCR se presentan en el Cuadro 1. Se evidenció una anemia regenerativa normocítica e hipocrómica para los pacientes 1 y 2. Leucocitosis con desviación a la izquierda en el paciente 4 y trombocitopenia en los pacientes 1, 2, 3 y 5. Los demás resultados hematológicos no presentaron alteraciones de acuerdo con los rangos de referencia (Merck, 2007).

La prueba SNAP fue positiva para los anticuerpos contra VIF y antígenos para VLeF para los pacientes 1 y 2. En el paciente 3 solo fueron detectados antígenos para VLeF. Al análisis por PCR, todos los pacientes mostraron la amplificación de una banda de 194 pb (Figura 1). Las secuencias del 16S ribosomal evidenciaron un 98.7% de identidad con diferentes aislados de *Mycoplasma haemominutum* (*Mhm*) reportados en la base de datos.

## DISCUSIÓN

Díaz-Regañón *et al.* (2018) reportan una prevalencia de *Mhm* de 0.5% en gatos de Madrid, España, mientras que Martínez-Díaz *et al.* (2013) reportan prevalencias de hasta 41% en Portugal. Por otro lado, en América del Sur se han reportado prevalencias de 7.8% en Chile (Walker *et al.*, 2016) hasta de 11.2% en Brasil (Santis *et al.*, 2014). En Colombia solo se han reportado casos de hemoplasmosis felina como diagnóstico presuntivo basados únicamente en los hallazgos clínicos, extendidos de sangre y valores hematológicos (Ortiz, 2011). Del conocimiento de los autores, solo ha sido reportado un estudio empleando técnicas

moleculares, utilizando PCR convencional para el diagnóstico de hemoplasmas en muestras de 420 gatos de dos refugios para animales localizados en las ciudades de Cali y Bogotá, encontrándose 97% de frecuencia de presentación de *Mycoplasma haemofelis* (Carvajal, 2012). El presente estudio describe por primera vez el diagnóstico molecular de hemoplasmas en la ciudad de Ibagué y de *Mhm* en el país utilizando PCR punto final.

Diversos estudios han demostrado la correlación entre el número de células rojas, el bajo hematocrito y la positividad a hemoplasmas (Ghazisaeedi *et al.*, 2014; Hwang *et al.*, 2015). Para los casos 1, 2 y 4 fue evidente una disminución de estos parámetros; sin embargo, otros trabajos no han evidenciado dicha correlación entre la infección por *Mhm* y la presentación de anemia (Aquino *et al.*, 2014; Santos *et al.*, 2014; Sarvani *et al.*, 2018), por lo que es posible que otros factores, como la coinfección con enfermedades virales, puedan influir en la variación de valores hematológicos (Shelton *et al.*, 1990; Gleich y Hartmann, 2009; Hartmann, 2011; da Costa *et al.*, 2017). En el presente trabajo, la prueba de inmunocromatografía positiva para antígenos de LeVF en los pacientes 1, 2 y 4 no permite esclarecer la fase de la infección y, por lo tanto, es posible que la presentación de anemia esté sujeta a otras patologías no establecidas.

Firmino *et al.* (2016) encontraron una disminución en el número de glóbulos blancos, neutrófilos segmentados y plaquetas en los gatos con coinfección de *Mhm* y LeVF. En el presente estudio, los pacientes 1 y 2 presentaron esta coinfección junto con una disminución en el conteo plaquetario; sin embargo, el número de leucocitos aumentó en el paciente 2; así mismo, la disminución en el conteo plaquetario fue evidente en los pacientes 3 y 5. Ghazisaeedi *et al.* (2014), por otro lado, encontraron una disminución en el conteo plaquetario en pacientes infectados con hemoplasmas, pero otras causas de trombocitopenia pudieran explicar igualmente los resultados.

Algunos estudios demuestran una asociación entre la infección por hemoplasmas con animales con acceso al exterior y con parásitos externos, especialmente pulgas (Spada *et al.*, 2014) lo cual puede indicar una transmisión directa por picadura (Woods *et al.*, 2005) o por mordeduras de otros gatos (Dean *et al.*, 2008). En los pacientes del presente estudio no se evidenciaron parásitos externos, por lo cual es difícil establecer su presencia como posible mecanismo de infección. Por otro lado, ser macho, mestizo o positivo a FIV son factores de riesgo asociados a la presencia de hemoplasmas (Jenkins *et al.*, 2013; Rosenqvist *et al.*, 2016; Walker *et al.*, 2016; Attipa *et al.*, 2017) y a la infección con *Mhf* (Sarvani *et al.*, 2018); sin embargo, hay trabajos que solo describen la coinfección con FIV como único factor de riesgo para *Mhf* (Bauer *et al.*, 2008). En el presente estudio, los cinco pacientes fueron mestizos, 4 fueron machos y 2 fueron resultaron positivos a antígenos contra VIF. Así mismo, Sarvani *et al.* (2018) demostraron que el acceso a la calle aumenta 5.54 veces la probabilidad de infección con *Mhf*, característica que fue un común denominador en los cinco casos de este estudio.

Múltiples estudios han evaluado la presencia de *Mhm*, tanto en gatos sanos como enfermos, no hallándose una clara asociación entre la infección y el desarrollo de la enfermedad en gatos inmunocompetentes (Barker y Tasker, 2013; Ghazisaeedi *et al.*, 2017).

El presente reporte evidencia por primera vez la presencia de *Mhm* en el país y la presencia de hemoplasmas en la ciudad de Ibagué. Es importante que los médicos veterinarios tanto de Ibagué como de Colombia reconozcan la presencia potencial de *Mhm* en los gatos domésticos, y adopten medidas para su diagnóstico y tratamiento. Estudios adicionales son necesarios para establecer la prevalencia de hemoplasmas y su impacto sobre la salud animal.

## Agradecimientos

Este proyecto de investigación fue financiado con recursos del Fondo de Ciencia, Tecnología e Innovación del Sistema General de Regalías de la República de Colombia (Proyecto Código 420120516). Los autores agradecen a la Oficina Central de Investigaciones y Desarrollo Científico de la Universidad del Tolima por su apoyo en la realización de este estudio.

## LITERATURA CITADA

1. **Aquino LC, Hicks CAE, Scalon MC, Lima MG, Lemos M, Paludo G, Helps C, et al. 2014.** Prevalence and phylogenetic analysis of haemoplasmas from cats infected with multiple species. *J Microbiol Meth* 107: 189-196.
2. **Assarasakorn S, Veir JK, Hawley JR, Brewer MM, Morris AK, Hill AE, Lappin MR. 2012.** Prevalence of *Bartonella* species, hemoplasmas, and *Rickettsia felis* DNA in blood and fleas of cats in Bangkok, Thailand. *Res Vet Sci* 93: 1213-1216. doi: 10.1016/j.rvsc.2012.03.015
3. **Attipa C, Papasouliotis K, Solano-Gallego L, Baneth G, Nachum-Biala Y, Sarvani E, Knowles TG. 2017.** Prevalence study and risk factor analysis of selected bacterial, protozoal and viral, including vector-borne, pathogens in cats from Cyprus. *Parasite Vector* 10: 130. doi: 10.1186/s13071-017-2063-2
4. **Barker E, Tasker S. 2013.** Haemoplasmas: lessons learnt from cats. *New Zeal Vet J* 61: 184-192. doi: 10.1080/00480169.2013.771760
5. **Bauer N, Balzer HJ, Thüre S, Moritz A. 2008.** Prevalence of feline haemotropic mycoplasmas in convenience samples of cats in Germany. *J Feline Med Surg* 10: 252-258. doi: 10.1016/j.jfms.2007.12.004
6. **Carvajal D. 2012.** Frecuencia de infecciones rickettsiales y hemoparasitarias en gatos domésticos (*Felis catus* Schereber 1775) de los Centros de Zoonosis, en las Ciudades de Bogotá y Cali. Tesis de Maestría. Colombia: Univ. Nacional de Colombia. 138 p.
7. **da Costa FV, Valle S, Machado G, Corbellini L, Coelho E, Rosa RB, González FH. 2017.** Hematological findings and factors associated with feline leukemia virus (FeLV) and feline immunodeficiency virus (FIV) positivity in cats from southern Brazil. *Pesquisa Vet Brasil* 37: 1531-1536. doi: 10.1590/s0100-736x2017001200028
8. **Dean RS, Helps CR, Gruffydd Jones TJ, Tasker S. 2008.** Use of real-time PCR to detect *Mycoplasma haemofelis* and «*Candidatus Mycoplasma haemominutum*» in the saliva and salivary glands of haemoplasma-infected cats. *J Feline Med Surg* 10: 413-417. doi: 10.1016/j.jfms.2007.12.007
9. **Díaz-Regañón D, Villaescusa A, Ayllón T, Rodríguez-Franco F, García-Sancho M, Agulla B, Sainz Á. 2018.** Epidemiological study of hemotropic mycoplasmas (hemoplasmas) in cats from central Spain. *Parasite Vector* 11: 140. doi: 10.1186/s13071-018-2740-9
10. **Firmino FP, Aquino LC, Marçola TG, Bittencourt MV, McManus CM, Paludo GR. 2016.** Frequency and hematological alterations of different hemoplasma infections with retrovirus co-infections in domestic cats from Brazil. *Pesquisa Vet Brasil* 36: 731-736. doi: 10.1590/S0100-736X2016000800009
11. **Ghazisaeedi F, Atyabi N, Zahrai T, Gentilini F, Ashrafi I, Akbarein H, Tasker S. 2014.** A molecular study of hemotropic mycoplasmas (hemoplasmas) in cats in Iran. *Vet Clin Path* 43: 381-386. doi: 10.1111/vcp.12166
12. **Gleich S, Hartmann K. 2009.** Hematology and serum biochemistry of feline immunodeficiency virus-infected and feline leukemia virus-infected cats. *J Vet Intern Med* 23: 552-558. doi: 10.1111/j.1939-1676.2009.0303.x

13. **Hartmann K. 2011.** Clinical aspects of feline immunodeficiency and feline leukemia virus infection. *Vet Immunol Immunop* 143: 190-201. doi: 10.1016/j.vetimm.2011.06.003
14. **Hwang J, Gottdenker N, Min MS, Lee H, Chun MS. 2015.** Evaluation of biochemical and haematological parameters and prevalence of selected pathogens in feral cats from urban and rural habitats in South Korea. *J Feline Med Surg* 18: 443-451. doi: 10.1177/1098612X15587572
15. **Jenkins KS, Dittmer KE, Marshall JC, Tasker S. 2013.** Prevalence and risk factor analysis of feline haemoplasma infection in New Zealand domestic cats using a real-time PCR assay. *J Feline Med Surg* 15: 1063-1069. doi: 10.1177/1098612X13488384
16. **Kearse M, Moir R, Wilson A, Stones-Havas S, Cheung M, Sturrock S, Buxton S, et al. 2012.** Geneious basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics* 28: 1647-1649. doi: 10.1093/bioinformatics/bts19
17. **Little SE. 2012.** The cat: clinical medicine and management. St. Louis: Elsevier. 1424 p.
18. **Lobetti RG, Tasker S. 2004.** Diagnosis of feline haemoplasma infection using a real-time PCR assay. *J S Afr Vet Asso* 75: 94-99. doi: 10.4102/jsava.v75i2.460
19. **Luria BJ, Levy JK, Lappin MR, Breitschwerdt EB, Legendre AM, Hernandez JA, Gorman SP, et al. 2004.** Prevalence of infectious diseases in feral cats in Northern Florida. *J Feline Med Surg* 6: 287-296. doi: 10.1016/j.jfms.2003.11.005
20. **Marcondes M, Hirata KY, Vides JP, Sobrinho LSV, Azevedo JS, Vieira TSWJ, Vieira RFC 2018.** Infection by *Mycoplasma* spp, feline immunodeficiency virus and feline leukemia virus in cats from an area endemic for visceral leishmaniasis. *Parasite Vector* 11: 131. doi: 10.1186/s13071-018-2716-9
21. **Martínez-Díaz VL, Silvestre-Ferreira AC, Vilhena H, Pastor J, Francino O, Altet L. 2013.** Prevalence and co-infection of haemotropic mycoplasmas in Portuguese cats by real-time polymerase chain reaction. *J Feline Med Surg* 15: 879-885. doi: 10.1177/1098612X-13480985
22. **Merck. 2007.** The Merck veterinary manual. 11<sup>th</sup> ed. Merck Manuals.
23. **Ortiz JF. 2011.** Three clinical cases of feline leukemia associated with regenerative anemia, breast carcinoma, or peritonitis. *Rev Colom Cienc Pecua* 24: 55-62.
24. **Rosenqvist MB, Meilstrup AKH, Larsen J, Olsen JE, Jensen AL, Thomsen LE. 2016.** Prevalence of feline haemoplasma in cats in Denmark. *Acta Vet Scand* 58: 78. doi: 10.1186/s13028-016-0260-1
25. **Roura X, Peters IR, Altet L, Tabar M, Barker EN, Planellas M., Helps C, et al. 2010.** Prevalence of hemotropic mycoplasmas in healthy and unhealthy cats and dogs in Spain. *J Vet Diagn Invest* 22: 270-274. doi: 10.1177/104063871-002200219
26. **Santis G, Miraglia H, Marques KC, Gonçalves LR, Denardi N, Domingos I, Campos JB, et al. 2014.** Molecular detection of hemotrophic mycoplasmas among domiciled and free-roaming cats in Campo Grande, state of Mato Grosso do Sul, Brazil. *Rev Bras Parasitol V* 2961: 231-236. doi: 10.1590/S1984-29612014039
27. **Santos AP, Conrado FO, Messick JB, Biondo AW Oliveira ST2, Guimaraes AM, Nascimento NC, et al. 2014.** Hemoplasma prevalence and hematological abnormalities associated with infection in three different cat populations from Southern Brazil. *Rev Bras Parasitol V* 23: 428-434. doi: 10.1590/S1984-29612014079



28. **Sarvani E, Tasker S, Kovacjević-Filipović M, Francuski-Andrić J, Andrić N, Aquino L, English S, et al. 2018.** Prevalence and risk factor analysis for feline haemoplasmas in cats from Northern Serbia, with molecular subtyping of feline immunodeficiency virus. *JFMS Open Rep* 4: 20551169-18770037. doi: 10.1177/205511691-8770037
29. **Shelton GH1, Linenberger ML, Grant CK, Abkowitz JL. 1990.** Hematologic manifestations of feline immunodeficiency virus infection. *Blood* 76: 1104-1109.
30. **Spada E, Proverbio D, Galluzzo P, Della A, Bagnagatti G, Perego R, Ferrero E. 2014.** Prevalence of *Haemoplasma* infections in stray cats in northern Italy. *ISRN Microbiol* 2014: 298352.
31. **Tasker S, Hofmann-Lehmann R, Belák S, Frymus T, Addie DD, Pennisi MG, Boucraut-Baralon C, et al. 2018.** Haemoplasmosis in cats: European guidelines from the ABCD on prevention and management. *J Feline Med Surg* 20: 256-261. doi: 10.1177/1098612X1-8758594.
32. **Walker-Vergara R, Morera-Galleguillos F, Gómez-Jaramillo M, Pereira-Almosny NR, Arauna-Martínez P, Grob-Behne P, Acosta-Jamett GA. 2016.** Prevalence, risk factor analysis, and hematological findings of hemoplasma infection in domestic cats from Valdivia, Southern Chile. *Comp Immunol Microb* 46: 20-26. doi: 10.1016/j.cimid.2016.03.004
33. **Woods JE, Brewer MM, Hawley JR, Wisniewski N, Lappin MR. 2005.** Evaluation of experimental transmission of *Candidatus Mycoplasma haemominutum* and *Mycoplasma haemofelis* by *Ctenocephalides felis* to cats. *Am J Vet Res* 66: 1008-1012. doi: 10.2460/ajvr.2005.66.1008