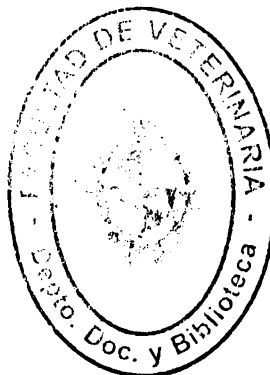


UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE VETERINARIA

HEMOBARTONELOSIS FELINA

por



Diego CUADRADO

TESIS DE GRADO presentada como uno de
los requisitos para obtener el título de Doctor
en Ciencias Veterinarias.

Orientación: Medicina Veterinaria

MODALIDAD Revisión Monográfica



MONTEVIDEO
URUGUAY
2010

TABLA DE CONTENIDO

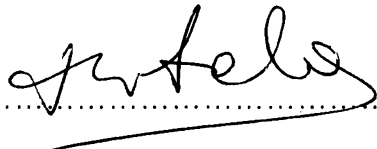
PÁGINA DE APROBACIÓN	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
LISTA DE CUADROS, FIGURAS Y GRÁFICOS.....	IV
1. <u>RESUMEN</u>	1
<u>SUMMARY</u>	1
2. <u>INTRODUCCIÓN</u>	2
3. <u>OBJETIVOS</u>	4
4. <u>PRESENTACIÓN DE LA ANEMIA INFECCIOSA FELINA</u>	5
4.1- Definición y características de la enfermedad.....	5
4.2- Análisis Filogenéticos del agente causal y su reclasificación a través del tiempo...6	6
5-PATOGENIA E INMUNIDAD : INDUCCIÓN A LA ANEMIA.....	7
5.1-Hemolisis.....	7
5.2- Secuestro... ..	8
5.3- Respuesta Inmune.....	9
5.4- Reacción de Coombs o prueba de antiglobulina directa.....	10
6. <u>EPIDEMIOLOGIA</u>	10

6.1-Factores de riesgo.....	11
6.2- Prevalencia.....	13
6.3- Co relación entre H.felis y Retrovirus.....	14
7-MANIFESTACIONES CLINICAS.....	16
7.1- Enfoque diagnostico de la Anemia.....	16
7.2-Signos en la enfermedad primaria.....	17
8-INFECCIÓN NATURAL VS INFECCIÓN EXPERIMENTAL.....	17
9- DIAGNOSTICO.....	19
9.1-Aproximación al diagnostico por el examen clínico.....	19
9.2-Características del examen de laboratorio.....	19
9.3-Microscopia.....	20
9.4-Cultivo (o falta de él).....	21
9.5-Detección de anticuerpos	21
9.6-Reacción en cadena de la polimerasa.....	21
10- TRATAMIENTO.....	22
11- ESTUDIOS REGIONALES.....	24
11.1-Brasil.....	24
11.2- Argentina.....	25
11.3-Peru.....	26
12- Conclusiones.....	28
13-Bibliografía.....	30

Página de aprobación

Presidente: Firma 

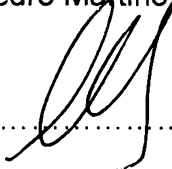
Dr. Alvaro Hernández

Tutor : Firma 

Dra. Teresa Sala

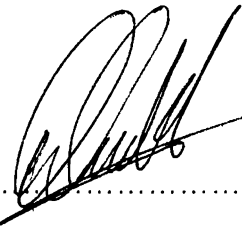
Tercer Miembro : Firma 

Dr. Pedro Martino

Co-Tutor : Firma 


Dra. Claudia Della Cella

Fecha : 16/12/10.

Autor : Firma 

Diego Cuadrado

FACULTAD DE VETERINARIA

Aprobado con 10 (diez) 

AGRADECIMIENTOS

Quisiera agradecer a la Facultad de Veterinaria, a todos los profesores que de una manera u otra participaron en mi formación y me estimularon a seguir estudiando para crecer como profesional, muy especialmente a la Dra.Teresa Sala, Dra. Claudia Della Cella, Dr. Alvaro Hernandez y Dr.Gabriel Semiglia.

TABLA DE CUADROS

Cuadro I. Factores de riesgo en 2 grupos de estudio.....	12
Cuadro II. Prevalencia de las 3 principales especies de H.felis.....	13
Cuadro III. Estudio de prevalencia en 3 grupos etarios de gatos en Peru.....	27

TABLA DE FIGURAS

Figura I. Imágenes de frotis de los 3 mycoplasmas felinos.....	7
Figura II. La micrografía electrónica de transmisión de un parásito de Hemoplasma (Mycoplasma haemofelis) ilustrando una sola membrana limitativa separando el citoplasma del organismo del Eritrocito anfitrión.....	8

TABLA DE GRAFICOS

Grafico1.Incidencia de H.felis según la edad entre machos y hembras.....	12
--	----

RESUMEN

Se realiza una revisión y actualización bibliográfica de la Anemia infecciosa Felina (Haemobartonelosis Felina), las características de su agente causal, la Haemobartonella felis, las diferentes clasificaciones filogénicas y taxonómicas que a sufrido a través del tiempo, el comportamiento de este organismo "parasito" en el hospedador, y la respuesta de este al parasito, concentrándonos en los mecanismos de inducción a la anemia como la hemólisis, secuestro y fagocitosis. Se analizan los diferentes trabajos acerca de la epidemiología, profundizando en las vías de transmisión factores de riesgo (la co- relación con los retrovirus), y prevalencia.

Las Manifestaciones clínicas (las diferentes fases reconocidas en la enfermedad experimental y natural) y el diagnóstico, su dificultad y las diferentes herramientas de laboratorio para confirmarlo (tinciones, métodos moleculares, etc.).

Se dedico especial atención a la revisión bibliográfica del tratamiento y sus diferentes estudios a nivel mundial, experimentando con diferentes principios activos y la respuesta del microorganismo a los mismos.

También se realizó una revisión de los estudios regionales incluyendo Argentina, Perú y Brasil.

SUMMARY

We performed a literature review and updating of Feline Infectious Anemia (Haemobartonelosis Felina), the causal agent characteristic ,the Haemobartonella felis, different phylogenetic and taxonomic classifications that suffered over time, the behavior of this organism "parasite" in the host, and the response of the parasite, concentrating on the mechanisms from induction to the anemia like the hemolysis, kidnapping and phagocytosis. The different papers on the epidemiology, delving into transmission routes and risk factors (the co - relation with the retrovirus), the clinical manifestations (the different phases recognized in the experimental and natural disease) and the diagnosis, the difficulty and different tools for laboratory confirmation (stains, molecular methods, etc.)

Special attention was devoted to literature review of treatment and its various global studies, experimenting with different active ingredients and the response of the same microorganism.

There was also a review of regional studies including Argentina, Peru and Brazil.

3- INTRODUCCIÓN:

La Hemobartonelosis Felina es una enfermedad infecciosa frecuente de distribución mundial que presenta mayor incidencia y gravedad en gatos infectados por virus de leucemia felina o inmunodeficiencia felina o sometidos a situaciones de stress (Fisher DJ .1999). Esta enfermedad es causada por micoplasmas hemotrópicos. Estos microorganismos son bacterias gram negativas, poco acidorresistente, que se adhieren en la superficie externa de los eritrocitos. El daño causado por esta unión del parásito y la respuesta inmune del anfitrión pueden provocar, según la especie, diferentes grados de anemia hemolítica, acompañadas de fiebre e ictericia, que puede llevar a la muerte del paciente (Harvey J.W. 1977). El organismo causante de la anemia infecciosa felina fue descrito por primera vez en 1942 de un gato en Pietermaritzburg, Sudáfrica y fue clasificado como *Felis Eperythrozoon*, un protozoo perteneciente al Orden Hemosporidia y Familia Anaplasmididae. Posteriormente re-clasificaciones colocaron a los Anaplasmididae en el Orden bacteriano Rickettsiales como la Familia Anaplasmataceae y el *Eperythrozoon Felis* y *Haemobartonella felis* se consideran idénticos (Carney HC 1993). Basado en el análisis filogenético de las secuencias de genes 16S rRNA, *Haemobartonella Felis* se ha reclasificado en el género como *Mycoplasma* (Rikihisa Y, Kawahara M, Wen B, et al. 1997).

Tres hemoplasmas claramente diferentes han sido identificados en gatos basado en la secuencias del gen 16S rRNA, *Mycoplasma Haemofelis* (Mhf) (anteriormente designados la forma grande de *H. felis*), *Mycoplasma Candidatus haemominutum* (CMhm), descrito por primera vez en 1998 (anteriormente designada la forma pequeña de *H. felis*). y "*Mycoplasma Candidatus turicensis*" (CMT), por primera vez descrito en Suiza en el 2006. (Willi, B. y col. 2006)

Se han sugerido varias vías de transmisión en gatos. La transmisión por artrópodos chupadores de sangre principalmente pulgas (*Ctenocephalides felis*), es considerada una de los principales modos para adquirir la infección.

Los Hemoplasmas han sido detectados en pulgas utilizando la técnica del PCR, y la transmisión transitoria de *M. haemofelis* de pulgas infectadas para un gato ha sido reportada (Woods, J.E. y col. 2005) Los estudios recientes que consideran los factores de riesgo, han encontrado en general que los gatos machos de más edad, con acceso al aire libre, tienen más probabilidad de infectarse con haemoplasmas. El aumento de la incidencia en los gatos machos con acceso a vida al aire libre, junto con informes de abscesos como consecuencia de mordeduras son considerados factores de riesgo. Se sugiere entonces que la transmisión horizontal se puede producir a través de Peleas, y el CMhm y CMT han sido ambos amplificados de la saliva de los gatos infectados (Dean, y col. 2005 y Willi, y col. 2006).

Una vez infectado, el período de incubación de la enfermedad varía entre 6-17 días y tiene un intervalo de 20-34 días. La enfermedad puede ser dividida en pre-parasitemica, aguda, de recuperación, y la fase de portador. Después de la fase de recuperación, parece que la mayoría, si no todos, los animales infectados se convierten en portadores. Los Parásitos en ocasiones puede ser encontrados durante la fase de portador, pero la disminución del hematocrito tiende a ser menos grave. Las recaídas pueden ocurrir bajo condiciones de estrés, tales como la preñez, hambre, neoplasias, y otras infecciones. (Proceedings of the World Small Animal Veterinary Association Sydney, Australia – 2007).

Los signos clínicos de haemoplasmosis generalmente no son específicos. Los animales infectados pueden presentar depresión, letargo, anorexia, pérdida de peso, debilidad, y las membranas mucosas pálidas. La presencia de la ictericia es variable. En la fase aguda, la fiebre puede ser aparente mientras que los gatos infectados de forma crónica tienden a ser normo térmicos. Una hepato-esplenomegalia y linfadenopatía generalizada pueden estar presentes. (Sykes, J. 2009)

El diagnóstico de hemoplasmosis se realiza mediante el examen citológico de frotis sanguíneos, PCR o ambos. Al microscopio óptico, *Mhm* es muy pequeño (0,3 μm) y difícil de identificar.

Mhf se observa como cuerpos cocoides basófilos pequeños (0,3-0,6 μm) en la superficie de los eritrocitos, a veces formando cortas cadenas de microorganismos, aunque no siempre es posible distinguir entre *Mhm* y *Mhf* mediante la evaluación al microscopio óptico de frotis sanguíneos. *Mtc* se descubrió recientemente en Suiza y los estudios sugieren que tiene una distribución mundial (Sykes, J. 2009). El desafío para llegar al diagnóstico definitivo se da por la variedad de presentaciones clínicas de la enfermedad, el acceso a los exámenes colaterales, su semejanza con otras enfermedades con características clínicas similares, pero sobre todo existe una problemática a nivel local y regional sobre la carencia de estudios epidemiológicos e incidencia de la enfermedad.

4- OBJETIVOS

Objetivos Generales:

- 1-Resumir y actualizar datos de esta enfermedad.
- 2-Contribuir al desarrollo de herramientas diagnósticas en Uruguay.
- 3-Crear conciencia acerca de la presencia de la enfermedad a nivel mundial, regional y plantear la posibilidad de su presencia a nivel local.

Objetivo Particular:

- 1-Realizar un amplio estudio acerca de los trabajos realizados en la región basados en casos clínicos.
- 2-Considerar la Haemobartonelosis felina dentro de la relación de enfermedades que pueden sufrir los felinos domésticos en nuestro medio, generando un protocolo de rutina para determinar la presencia de estos microorganismos.

4- PRESENTACION DE LA ANEMIA INFECCIOSA FELINA



4-1 Definición y características de la enfermedad

La Hemobartonelosis felina, también conocida como Anemia infecciosa felina (AIF), actualmente se denomina Hemoplasmosis Felina.

Es una enfermedad infecto contagiosa de distribución mundial, producida por una bacteria "parásito" hemotrópica, anteriormente denominada Hemobartonela felis y actualmente reclasificada como Micoplasma hemotrópico (Neimark et al., 2001). Los micoplasmas hemotrópicos, también conocidos como hemoplasmas, que se sabe infectan a los gatos son, Micoplasma haemofelis (Mhf), Candidatus Micoplasma haemominutum (Mhm) y Micoplasma turicensis (Mtc), estos microorganismos son bacterias gram negativas pequeñas que se adhieren a la superficie de los eritrocitos y que se han identificado en todo el mundo (Sykes, J., 2009).

Estos organismos presentan membrana plasmática pero no presentan paredes celulares y dependerán de un hospedador felino (en este caso) para sobrevivir y reproducirse. Una vez que el sistema inmunológico del gato encuentra este invasor, la destrucción de los glóbulos rojos infectados comienza, y el resultado es la anemia. Durante la fase aguda, el gato puede llegar a tener una anemia con un hematocrito <20% y hasta <10%. (Hemoplasmosis Felina, congreso de WSAVA, Sídney, Australia 2007).

La Hemobartonelosis representa una importante causa de anemia en gatos a nivel mundial (Sykes, J., 2003).

La enfermedad se caracteriza por producir palidez de mucosas, letargia, inapetencia, debilidad, y ocasionalmente ictericia y esplenomegalia. En los gatos expuestos naturalmente, los signos clínicos dependerán del grado de anemia, la etapa de la infección y el estado inmune del gato infectado (Ishak, A., 2008).

Esto último es de gran relevancia debido a que se ha identificado que existe una asociación entre la infección con Leucemia viral felina (FeLV) y la hemobartonelosis felina, teniendo mayor riesgo de infectarse con H. felis aquellos animales infectados con FeLV (George, J.W., 2002). Los gatos infectados con Mhm solamente, raramente tienen signos clínicos, sin embargo aquellos infectados con Mhf presentan variedad de signos. La fiebre ocurre en algunos gatos con infección aguda y podría ser intermitente en gatos crónicamente infectados (Ishak, A. 2008).

4-2 Análisis Filogenéticos del agente causal y su reclasificación a través del tiempo

Ha existido una confusión significativa acerca de la filogenia y taxonomía de la *H. felis* a través del tiempo. Se ha reconocido desde 1942, a través de una primera documentación por Clark, R. titulada *Eperythrozoon felis* in a cats, en Pietermaritzburg, Sudáfrica y fue clasificado como *Eperythrozoon Felis*, un protozoo perteneciente al Orden Hemosporidia y Familia Anaplasmidiae. El organismo fue reconocido en frotis de sangre y bazo que habían sido recogidas post mortem. Debido a la semejanza con las especies *eperythrozoon*, fue clasificado como un *Eperythrozoon*, sin embargo en ese periodo no se realizaron mas estudios.

El reconocimiento de la infección en los Estados Unidos no se produjo hasta 1953, cuando Flint y Moss describen un modelo experimental de anemia a través de la inyección intraperitoneal de sangre infectada de un gato anémico de Colorado (California).

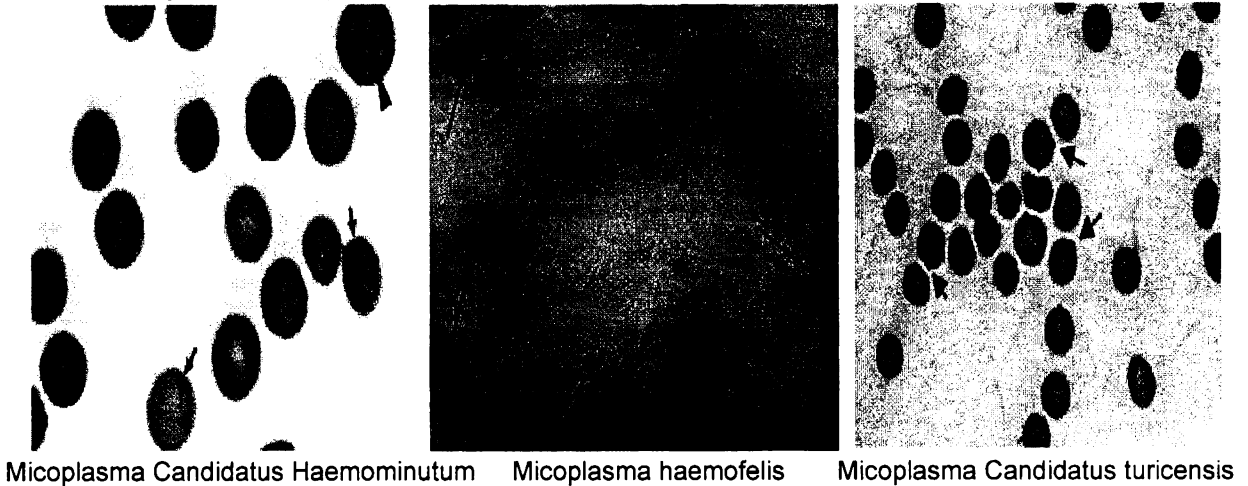
En 1955 el nombre de *Hemobartonella felis* se propuso para el organismo, porque a diferencia de las especies *eperythrozoon*, rara vez se ve libre en el plasma, y la forma en anillos característica del *eperythrozoon* es poco frecuente. La infección fue reconocida en otros estados de Estados Unidos y subsecuentemente fue encontrada teniendo una distribución mundial (Sykes, J. 2003).

Más recientemente, en 1984 se clasificaron como organismos *Rickettsias*, en función de su tamaño pequeño, propiedades de tinción Gram negativa, el parasitismo de eritrocitos y la transmisión propuesta a través de artrópodos hematófagos (kreier and Ristic, 1984)

Sin embargo en un estudio más reciente en el análisis filogenético basado en secuencias de genes ARNr 16S, la *Hemobartonella* spp. y *Eperythrozoon suis* están más estrechamente relacionados con *Mycoplasma* spp. (79 a 83% de similitud) que a *Anaplasma marginale* (72 a 75% de similitud). Sus resultados sugieren que las especies de *Hemobartonella*. y *Eperythrozoon suis* podrán ser reclasificados en el mismo género en la familia *Mycoplasmataceae*. (Rikihisa, et al., 1997)

Estudios recientes basados en la secuencia genética 16S rRNA revelo la existencia de dos hemoplasmas diferentes en gatos domésticos originalmente llamados cepa Ohio (la forma larga o Hflg) y la cepa California (la forma pequeña Hfsm) de *Hemobartonella felis* (Berent et al., 1998 ; Rikihisa et al., 1997). Junto con la reclasificación, la forma larga de Ohio y la forma pequeña de California fueron renombradas como *Mycoplasma haemofelis* (Neimark et al., 2001) y *Mycoplasma Candidatus haemominutum* (Foley and Pedersen, 2001) respectivamente. Recientemente se descubrió un tercer micoplasma hemotropico en una mascota felina en suiza al cual se designo *Candidatus Mycoplasma turicensis*. (Willi et al., 2006).

Figura I - Imágenes de extendidos de los 3 micoplasmas felinos



5-PATOGENIA E INMUNIDAD: Inducción a la Anemia.

Muchos aspectos patogénicos de la Hemobartonelosis Felina aun no han sido bien descritos .Se desconoce el mecanismo exacto de adherencia al glóbulo rojo que utiliza H.felis, sin embargo se conoce el mecanismo de adherencia de los micoplasma en gal. Los micoplasma se adhieren a receptores de las células epiteliales blanco por medio de proteínas o conjugados proteicos, o mediante la interacción con estratos de la superficie aniónica micoplasmica. (August, .JR .2004).

Luego de la adherencia, ocurren respuestas inmunológicas humorales y mediadas por células contra H.felis, los signos clínicos de la hemobartonelosis son provocados por las reacciones inmunomediadas en contra del organismo. (August, .JR .2004).

Varios mecanismos han sido propuestos para la inducción de anemia y hemolisis por micoplasmas hemotrópicos. (Messick, 2004).

La anemia en la Hemobartonelosis felina es el resultado de la combinación de dos mecanismos: el secuestro y la hemolisis. Inicialmente, la parasitemia induce hemolisis.

5.1-HEMOLISIS:

El organismo se adjunta a la membrana de la superficie de los eritrocitos en varios sitios. Este anexo abolla la superficie de la membrana y puede causar daño directo a la membrana, lo cual permite la pérdida de hemoglobina, aumenta la fragilidad osmótica, y acorta dramáticamente la vida media del eritrocito de entre 70 y 80 días hasta 4.3 días. (Carney, .C.1993). Aunque este hemoparasito se encuentra íntimamente asociado con la membrana del eritrocito, el parasitismo per se no induce su destrucción (August, .JR .2004).Este cambio estructural también puede alterar antígenos normales de la

superficie o puede exponer antígenos escondidos que inician la cascada del complemento mediando en la hemólisis. (Carney, C. 1993).

Aunque se puede producir hemólisis intravascular, la mayoría de la hemólisis se cree que es extravascular, en el bazo, el hígado, pulmones y médula ósea. Los Macrófagos del bazo también pueden eliminar hemoplasmas de la superficie de eritrocitos, devolviendo eritrocitos no parasitados a la circulación. (Tasker, S.2006)



Figura II micrografía electrónica de transmisión de un parásito de Hemoplasma (Mycoplasma haemofelis)

5.2-SECUESTRO:

El cuerpo del gato responde a la parasitemia inicial con una remoción activa del organismo sobre el eritrocito. Los macrófagos en bazo, hígado, pulmón y en la circulación general, fagocitan eritrocitos infectados. Los eritrocitos parasitados son atrapados fácilmente dentro de la red reticular de estos órganos, porque la presencia de estos organismos en la superficie de la membrana causa que las células pierdan su biconcavidad y se conviertan en esferas, las cuáles son menos deformables y así menos capaces para moverse a través de las vasijas pequeñas de dichos órganos. (Carney, C 1993). 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, el microorganismo se eliminará de forma más lenta en aquellos gatos esplenectomizados, provocando parasitemias que duran el doble que en aquellos gatos no esplenectomizados. (Maede, Y. 1979).

En 1979 se realizó un trabajo experimental por Yoshimitsu Maede, en el cual bazos de dos gatos infectados con Hemobartonella felis fueron examinados por microscopía electrónica para determinar los medios por los que el organismo fue secuestrado en este órgano.

Los medios de secuestro se produjeron cuando *H. felis*, localizada en los eritrocitos fue removida por fagocitosis por macrófagos tisulares, aparentemente precedido por la adherencia de procesos prolongados de los macrófagos a *H. felis*. El segundo medio y el menos frecuente de la supresión de *H. felis* fue por "picaduras" (de la traducción en inglés "pitting"), un proceso que no causa la destrucción del eritrocito hospedador. La *H. felis* fue "picada" desde los eritrocitos parasitados cuando pasa a través de uniones gaps entre células reticulares o cuando los eritrocitos parasitados pasan entre los procesos del citoplasma de las células reticulares en los cordones esplénicos. Estas observaciones de los bazo de gatos infectados con *H. felis* podrían sugerir que algunos de los organismos se adhieren a las células reticulares y sobreviven en vacuolas intracitoplasmáticas en estas células. (Maede, Y. 1979)

5.3-RESPUESTA INMUNE

Los anticuerpos de la clase inmunoglobulina G (IgG) pueden ser detectados dentro de las 2 semanas después de la infección (Foley, J. 1998); siendo el periodo de signos clínicos máximos correspondiente con el de producción inicial de anticuerpos (Harvey, J. 1977). Los anticuerpos que se unen con los microorganismos *H. felis* sobre los glóbulos rojos inician la cascada del complemento, lo cual es un disparador de la depuración esplénica de los eritrocitos parasitados y su fagocitosis por las células mono nucleares sanguíneas (August, J. R. 2004).

El Daño generado a los eritrocitos puede inducir la producción de anticuerpos antieritrocíticos (Tasker, S. 2006). Alternativamente podrían representar auto anticuerpos que habían sido producidos en contra de antígenos de eritrocitos expuestos o modificado debido a la unión de los organismos al eritrocito. (Willi, B. 2007). Los anticuerpos también pueden ser dirigidos contra el propio organismo *haemoplasma* resultando en la destrucción eritrocítica como un "espectador inocente" (Tasker, S. 2006).

Mucho de estos anticuerpos generan auto aglutinación de los eritrocitos. Si se observa auto aglutinación de los glóbulos rojos se deben sospechar fenómenos inmunomediados los que se confirman con el test de Coombs (Maede, Y. y col. 1975). Debido a la destrucción inmuno mediada del glóbulo rojo, estos gatos son positivos a la prueba de Coombs (Cowell, R. L., y col. 1999).

5.4-REACCIÓN DE COOMBS O PRUEBA DE ANTIGLOBULINA DIRECTA:

Estudio que por lo general dará resultados positivos, pero no demuestra el estado de autoinmunidad verdadera, dicha prueba consiste en extraer sangre del animal positivo a la micoplasmosis hemotrópica felina 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 auto anticuerpos o componentes del complemento serán aglutinados por el suero de anti globulina, 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.

6 –EPIDEMIOLOGIA

La epidemiología de la infección por H.felis no se comprende muy bien, en parte debido a que el microorganismo es difícil de detectar sin las únicas herramientas diagnósticas moleculares disponibles.(August, J.R., 2004).La transmisión experimental puede ocurrir vía intravenosa ,intraperitoneal y vía oral usando sangre fresca infectada (Tasker,S. 2006). El microorganismo puede ser transmitido a través del útero o por vía lactacional, al igual que iatrogénicamente mediante la transfusión de sangre, por artrópodos hematófagos y por vía oral. La infección en el útero o lactogénica es insinuada por la detección de hemobartonelosis en gatitos muy jóvenes.

En 1993 se demostró la presencia de Hemobartonela felis en 4 gatitos Siameses que presentaban anemia. Anemias suficientemente agudas para producir murmullos cardiacos fueron detectadas en cuatro de cinco gatitos siameses a las 9 semanas de edad. Por el estudio de los parámetros hematológicos y exámenes de extendidos de sangre, las anemias estaban clasificadas como por carencia de hierro complicadas con haemobartonelosis. Después de las dos semanas, los murmullos desaparecieron y las anemias se resolvieron pero H. felis estaba todavía presente en extendidos de sangre si bien en números más pequeños. Desde que la camada también tuvo H. felis y no hubo parásitos externos es considerada que la transmisión ocurrió ya sea transplacentariamente o por la leche. (Fisher, E.W., 1983). El microorganismo es transmitido por vía sanguínea, no por orina, ni suero (Splitter, E.y col 1956), lo cual sugiere que los artrópodos hematófagos, como las pulgas podrían ser vectores naturales.

En el año 2005 se publicó una evaluación experimental sobre la transferencia de *Mycoplasma Candidatus haemominutum* y *Mycoplasma haemofelis* por la pulga *Ctenocephalides felis* en gatos. El ADN de Mhf y Mhm en pulgas, las heces y, potencialmente, los huevos y las larvas fue detectado. Los resultados sugieren que la transferencia hematófaga de Mhm y Mhf en pulgas ocurrió y que *Ctenocephalides felis* es un vector posible para Mhf por medio de la actividad de hematófagos (Woods, J.E., 2005).

Los estudios recientes considerando los factores de riesgo han encontrado que la incidencia aumenta en gatos machos, Conjuntamente con informes que los abscesos por mordidas y el vagabundeo externo son factores de riesgo, es sugestivo que esa transmisión horizontal puede ocurrir por peleas, y *Mycoplasma Candidatus haemominutum* y *Mycoplasma Candidatus turicensis*. han sido amplificados de la saliva de gatos infectados (Dean, et al 2005, Willi, et al 2006).

6.1-FACTORES DE RIESGO

Los factores de riesgo para la hemobartonelosis comprenden la edad, sexo, alojamiento en el interior – exterior y la presencia de pulgas. La incidencia de la anemia infecciosa felina aumenta con la edad con una incidencia máxima entre los 4 y 8 años siendo los machos los que parecen tener mayor riesgo de padecer la enfermedad. La infección con *H.felis* pareciera ser estacional lo cual puede relacionarse a su asociación con las pulgas (Nash, A.S., 1986)

En 1990 se realizó un estudio en el cual se analizaron los factores de riesgo basado en 123 gatos seleccionados de 10 hospitales y/o clínicas veterinarias de Wake county (EE.UU). Los factores identificados como causantes de incrementar el riesgo relativo estimado para la hemobartonelosis en gatos en este estudio incluyen enfermedades, el estatus positivo FeLV, la falta de vacunaciones, historia de abscesos por mordidas y /o anemia, la edad (menor o igual a 3 años) y animales libres (cuadro2) esto puede reflejar que los gatos que no están bien cuidados y/o inmunosuprimidos pueden tener más potencial para exponerse a *H. felis* (Grindem,C.B,1990). Otros 2 estudios indicaron que al menos la mayoría de los casos reportados de hemobartonelosis felina fue en gatos mayores de 3 años, el riesgo o la proporción de gatos infectados se incrementa con la edad y con una incidencia máxima que está entre 4 y 6 años. (Nash, A.S., 1986) o entre 7 y 8 años (Hayes, H.M., 1973). Existen entonces diferentes estudios que demuestran 3 franjas etarias; de 1 a 3 años, de 4 a 6 y de 7 a 8, existiendo una incidencia máxima entre los 4 y 8 años. (Gráfico 1).

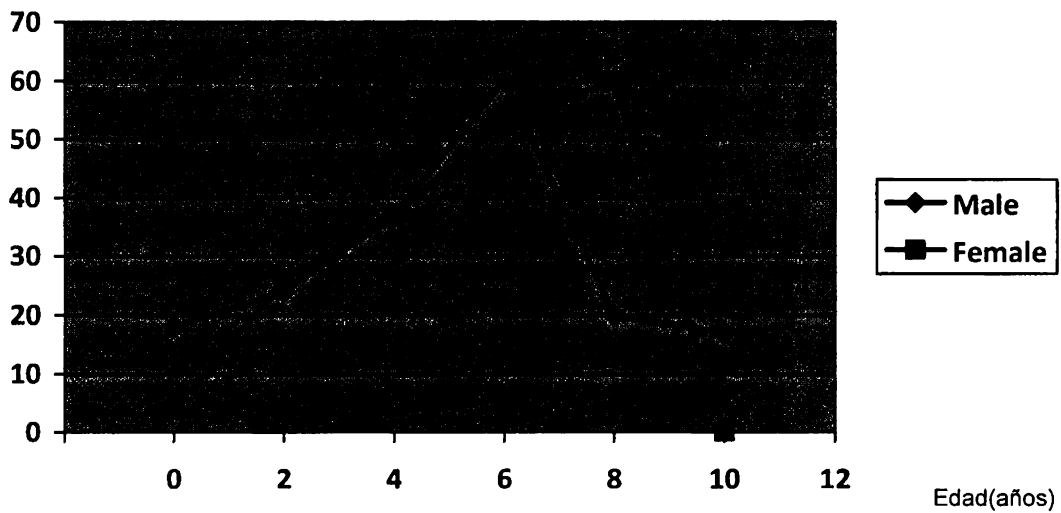
Cuadro 1 Factores de riesgo en 2 grupos de estudio

Variable	All cats (H. felis-positive vs H. felis negative)	ill cats (H felis-positive vs H.felis- negative)
Anemia	14	16,7
Current illness	13,5	Na
Abscesses	2,7	3,6
Felv- positive status	2,6	4,7
Previous anemia	2,6	1,6
No vaccinations	2,3	2,4
Roaming outdoors	2,0	0,6
≤ 3 years old	1,9	1,9
Mixed breed	1,3	0,4
Fleas	1,1	0,6
Sex (male)	0,9	3,7
Multiple-cathouse hold	0,8	0,5

NA: not applicate

GRAFICO I Incidencia de H.felis según la edad entre machos y hembras

Percentage(%)



6.2-PREVALENCIA

La prevalencia varía mucho en los distintos reportes, quizás debido a que los métodos diagnósticos no siempre detectan todos los casos. En la aplicación de métodos basados en PCR, las infecciones causadas por *M.haemofelis*, *M.candidatus haemominutum* en gatos domésticos han sido diagnosticadas en todo el mundo. Las infecciones por *Micoplasma Candidatus turicensis* han sido hasta ahora documentada en Suiza, el Reino Unido (UK) Estados Unidos (EE.UU.), Sudáfrica y Australia. (Willy, B et al 2006).

La prevalencia de hemoplasmas felinos en los estudios de prevalencia en todo el mundo dieron que *Micoplasma Candidatus haemominutum* (Mhm) es el haemoplasma más abundante con el *Micoplasma Candidatus turicensis* (Mtc) y *Micoplasma haemofelis* (Mhf) siendo estas últimas menos comunes, aunque algunos países tienen una alta prevalencia de la Mtc. Los estudios han encontrado tasas de infección de 10 a 32,1% para Mhm, 1.4-6.4% para Mhf y 1.3-26% para la Mtc. (Tasker, S. 2006).

(cuadro II)

En un estudio de 155 gatos para la infección por hemobartonella felis en el área de Glasgow reveló una prevalencia de 23,2%, *H.felis* fue detectada en la sangre de 36 del total de los gatos examinados. La infección ocurrió en todas los grupos de edades y no hubo diferencia significativa entre sexos y tipo de raza. La infección con *H.felis* fue más frecuente entre los gatos con pulgas y aquellos con infección con leucemia Viral felina que entre los otros gatos en la muestra. (Nash, A.S. y Bobade, P.A. 1986).

Cuadro II Prevalencia de las 3 principales especies de H.felis

<u>Haemoplasma species</u>	<u>Reported prevalence</u>
Candidatus <i>M. haemominutum</i>	10 - 32.1 %
<i>M. haemofelis</i>	1.4 – 6,4 %
Candidatus <i>M. turicensis</i>	1,3 - 26 %

En los últimos estudios, la muestra de la prevalencia de *M. Candidatus turicensis* fue mayor que la prevalencia de *M. haemofelis* pero inferior a la prevalencia de *M. Candidatus haemominutum*. Las infecciones por Hemoplasmas fueron también documentadas en nueve diferentes especies de félidos silvestres en cautiverio procedentes de Europa, África y América del Sur. (Willy, B. y col, 2007) Una conclusión definitiva sobre el potencial patogénico de los hemoplasmas en félidos silvestres aún no se pueden sacar, pero su papel potencial como reservorios y portadores asintomáticos de los agentes se deben continuar estudiando (Willy, B. y col, 2007).

6.3- CO-RELACIÓN ENTRE H.FELIS Y RETROVIRUS.

Una asociación entre la infección por FELV (Leucemia viral felina) y la infección por Hemobartonella felis ha sido identificada en gatos en estudios retrospectivos. Los gatos infectados con FELV tienen un mayor riesgo de infectarse con Hemobartonella felis. Anemias más severas se desarrollan en gatos infectados con ambos agentes en comparación cuando estos se infectan solo con H.felis. (George, J.W., et al, 2002)

La influencia de los retrovirus con H.felis no está totalmente entendida. En un estudio de gatos silvestres en EE.UU se encontró que la infección de FeLV(Leucemia viral felina) se asoció con un aumento en el riesgo de co-infección con Mhm pero no Mhf, mientras que la infección por FIV (inmunodeficiencia viral felina) se asoció con un aumento en el riesgo de co-infección con Mhm y Mhf (Luria, et al 2004). Sin embargo, un estudio Suizo fallo en demostrar ninguna asociación entre retrovirus e infecciones por hemoplasmas.

Estos diferentes resultados pueden deberse a diferencias en las poblaciones de gatos en la muestra y todavía parece prudente recomendar FeLV y FIV en pruebas de cualquier gato en el que se encontró hemoplasmas. (Tasker, S., 2006).

Aunque M.haemofelis causa la enfermedad primaria en gatos, también ha sido reconocida como un patógeno en conjunto con los retrovirus, incluyendo el virus de inmunodeficiencia felina y el virus de la leucemia felina (FeLV), y con otras enfermedades debilitantes. Los gatos experimentalmente coinfectados por FeLV y Micoplasma Candidatus haemominutum desarrollaron anemias más graves que los gatos infectados solamente con el parásito. Además, se sugirió que la infección con Micoplasma Candidatus haemominutum podría inducir enfermedad mieloproliferativa en gatos infectados con FeLV. La infección Crónica con M.haemofelis puede promover la transformación neoplásica de las células hematopoyéticas de gatos infectados con FeLV. (Messick, J.B., 2004).

Existe poca evidencia de una relación sinérgica entre el virus de inmunodeficiencia felina (FIV) y las infecciones H.felis .En un estudio retrospectivo, aproximadamente el 10 % de los gatos infectados fueron infectados con H.felis. Como los registros de gatos negativos a FIV en la misma área de la práctica no se revisó, no hay asociación de riesgo entre las infecciones (George, J.W. et al, 2002).Una correlación negativa entre H.felis y las infección por FIV se encontró en un estudio de una gran población de gatos salvajes de granja. (Yamaguchi, N. et al, 1996).

En el estudio realizado en 2002 por George y colaboradores acerca de los efectos de una infección preexistente por FeLV o por una coinfección con FeLV y FIV en la patogenia de la variante pequeña de *H. felis* (*Mycoplasma Candidatus haemominutum*), se llegó a la conclusión que esta infección preexistente en gatos aparentemente sanos potencia la severidad de la anemia producida por la infección con este *Mycoplasma*. La Anemia es regenerativa, consistente con el hallazgo de los estudios clínicos, esta *Hemobartonela* produce una anemia regenerativa en gatos infectados con FeLV. Cómo interactúan ambos agentes para producir una enfermedad más severa no se sabe aun.

Aunque la concentración media de hemoglobina en el estudio de la anemia fue menor en los gatos coinfectados con FeLV-FIV que los infectados con FeLV solos, la diferencia no fue estadísticamente diferente. Además se observó que la infección con *Mhm* podría inducir enfermedades mieloproliferativa en gatos infectados con FeLV y que *Mhm* podría perder patogenicidad por el pasaje a través de gatos libres de FeLV. (George, J.W. 2002).

Varios estudios realizados en los últimos años mostraron que los factores de riesgo para las infecciones por hemoplasmas son el género, la edad avanzada y los dos retrovirus FIV y / o infección de FeLV. La prevalencia de FeLV y FIV ha sido demostrado ser mucho mayor en gatos con micoplasmosis hemotrópica clínica que en la población general. Los gatos infectados con FIV, FeLV o ambos, estaban en mayor riesgo de estar infectados con hemoplasmas que los gatos negativos a retrovirus.

La infección por *Mhm* es más probable que ocurra en asociación a la infección por FIV. Durante muchos años se sabía que los gatos infectados por FeLV y *Mycoplasma haemofelis* desarrollan anemia más severa que los gatos infectados con *M. haemofelis* solo. Además de esto, existen evidencias de que la infección con *M. haemofelis* puede inducir enfermedad mieloproliferativa en gatos infectados por FeLV. (34th World Small Animal Veterinary Congress 2009 - São Paulo, Brazil)

Debemos entonces suponer basados en los estudios presentados, una asociación como oportunista de los virus de la Leucemia Felina y de la Inmunodeficiencia Felina con *H. felis* y una potenciación en la severidad de la enfermedad. Del mismo modo, se halla asociada en pacientes que desarrollan leucemias y linfomas.

7- MANIFESTACIONES CLÍNICAS

7.1-Enfoque diagnóstico de la anemia

Cabe sospechar un diagnóstico de anemia cuando un gato se presenta con letargia, disminución del apetito y mucosas pálidas o blancas. El consumo de la arena de su bandeja o de las heces puede formar también parte del historial. Los resultados de la exploración física pueden ser taquicardia y taquipnea o un soplo sistólico como consecuencia de la disminución de la viscosidad sanguínea. El diagnóstico definitivo de anemia depende de la disminución del hematocrito, de la hemoglobina o de la cifra total de eritrocitos. Para no pasar por alto algunas de las muchas causas de anemia, se pueden clasificar de manera general las anemias, en las que provocan disminución de la producción de hematíes, las que causan pérdidas sanguíneas y las que tienen como consecuencia un aumento de la destrucción de los Hematíes.

La anemia causada por una disminución de la producción de hematíes es siempre no regenerativa. La pérdida de sangre y el aumento de la destrucción de hematíes vienen seguidos generalmente de una respuesta regenerativa de tres a cinco días después de la lesión inicial, aunque la pérdida crónica de sangre gastrointestinal puede volverse no regenerativa si hay una deficiencia de hierro. La presencia de policromasia, punteado basófilo, normoblastosis (presencia de hematíes nucleados), anisocitosis o aumento del número de cuerpos de Howell-Jolly en la evaluación microscópica de los frotis sanguíneos sugieren la presencia de una respuesta regenerativa.

Mhf es la especie más patógena, provoca una anemia hemolítica intensa, una notable reticulocitosis, normoblastosis y a veces leucopenia y trombocitopenia, acompañadas en ocasiones de fiebre e ictericia, incluso en gatos inmunocompetentes. Puede haber una mayor probabilidad de que los gatos jóvenes desarrollen una enfermedad grave. Los gatos sanos no anémicos rara vez se encuentran infectados por Mhf. Por el contrario, Mhm se considera en general no patógeno o sólo levemente patógeno en gatos inmunocompetentes. En los gatos inmunodeprimidos infectados por Mhm puede observarse una anemia más intensa, como en los infectados simultáneamente por el virus de la leucemia felina. No se ha establecido la verdadera patogenicidad de Mtc, aunque también parece considerablemente menos patógeno que Mhf en los gatos infectados de forma natural. (Sykes, J., 2009)

Los signos varían según el estadio de la infección; dependiendo si la afección es primaria o secundaria, de la velocidad de desarrollo y de la severidad de la anemia.

7.2-Signos en la enfermedad primaria

Si la enfermedad es primaria, se podrían observar algunos de los siguientes signos:

- 1- Anemia aguda, provocada por la eritrofagocitosis extravascular debido a los macrófagos en bazo, hígado, pulmones y médula, presentándose decaimiento marcado, mucosas pálidas e ictericas e hipotermia.
- 2- Fiebre repentina (39 – 41° C), anemia aguda, debilidad, mucosas pálidas, soplo cardíaco, esplenomegalia, taquicardia y taquipnea compensatoria.
- 3- Pérdida de peso, pocos signos clínicos, fiebre no muy elevada y decaimiento, presentando una anemia de moderada gravedad, aquí los hospederos podrán tener "días buenos y días malos". (Benard, J.L. 2009).

La micoplasmosis hemotrópica 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 proliferativas de las células T. (Benard, J.L. 2009).

Si la micoplasmosis hemotrópica felina es una enfermedad secundaria, se observará lo siguiente:

- 1- Cuadro de gravedad moderada en pacientes con leucemia viral felina (ViLeF) y/o inmunodeficiencia viral felina (VIF) negativos pero con otras afecciones inmunosupresoras (nefropatías, pancreatitis, tumores, gastroenteritis crónicas, etc.).
- 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 (Benard, J.L. 2009).

8- INFECCIÓN NATURAL VS INFECCIÓN EXPERIMENTAL.

Una cantidad de estudios han comunicado la infección experimental exitosa de los gatos con sangre felina infectada con *H.felis*. En esos estudios para facilitar la comprensión de la Hemobartonela en felinos la enfermedad se divide en Preparasitemica, parasitemica, aguda, de recuperación y fases de portador. Los cuerpos de *H.felis* aparecen en los glóbulos rojos periféricos 2 a 21 días después de la inoculación parenteral siendo este el periodo preparasitemico el cual no mostrará signos.

La fase de parasitemia, abarcará de una a tres semanas si la forma de contagio es intravenosa, pero si es por vía oral, el lapso de tiempo será de 22 a 51 días. (Harvey, J. y col. 1977). Las primeras manifestaciones clínicas (cuando sucedieron) ocurrieron de forma coincidente con la visualización del microorganismo (Foley, J 1998).

La fase Aguda representa el tiempo entre la primera y última parasitemia, siendo un lapso de tiempo de un mes o más; observándose signos clínicos y una parasitemia, en ocasiones puede causar la muerte del hospedero después de parasitemias masivas, la disminución temprana y repentina del volumen del paquete celular (VPC), 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.

Después de que la parasitemia aguda grave disminuye, los felinos pueden ingresar en una serie de ciclos de infección consistentes en periodos de latencia y recrudescimiento (August, JR .2004).

La Fase de recuperación, abarca desde el momento de mayor parasitemia hasta que se estabiliza el volumen del paquete celular dentro o cerca de los niveles de normalidad, requiriendo esto más de un mes, pudiéndose detectar anemias leves y signos clínicos inaparentes. La recuperación de la cantidad tanto de glóbulos rojos como blancos puede ser inestable y pueden requerirse de 2 a 4 meses para que los parámetros hematológicos retornen a la normalidad. (Harvey, J. y col. 1977).

La Fase de portador, es la más importante ya que podrá durar hasta 2 años, los gatos serán clínicamente normales, y la reaparición de la enfermedad es poco frecuente, ya que se eliminará el microorganismo por mecanismos inmunes. Se reportan casos en los cuales los microorganismos pueden quedar intactos en las vacuolas fagocíticas de macrófagos de bazo y pulmones y también puede darse la supervivencia de los microorganismos en células provocando estados crónicos indefinidos, y debido a esto los gatos portadores estarán en equilibrio pudiendo combatir la replicación de los microorganismos con la fagocitosis y eliminación de los mismos. Harvey y Gaskin reportaron que la totalidad de sus gatos infectados de forma experimental se volvieron portadores, y que se encontraron cuerpos de *H. felis* casi un tercio de las veces en los extendidos sanguíneos de los gatos con infección crónica. Estudios realizados por la universidad de Bristol han encontrado que el estado crónico es más comúnmente encontrado con infección por Mhm que por la infección por Mhf, este estudio también demostró que gatos infectados con Mhf podían espontáneamente llegar a ser negativos a la prueba de PCR en extendidos repetidos meses luego de iniciada la infección, sin embargo, gatos infectados con Mhm tendían a ser fuertemente positivos al PCR por meses o años luego de la infección. (Tasker, S. 2006)

En el caso de las infecciones naturales las respuestas clínicas y hematológicas a la infección con *H.felis* son mucho más variables comparado con las infecciones experimentales. Cerca del 50 % de los gatos diagnosticados con hemobartonelosis están clínicamente enfermos, mientras que otros casos son detectados en animales clínicamente normales durante la evaluación rutinaria de los extendidos sanguíneos.

Las manifestaciones clínicas asociadas con hemobartonelosis en los gatos naturalmente infectados se desarrollan de forma gradual e incluyen palidez, disnea con respiración a boca abierta, debilidad y fiebre. Después de la infección primaria, muchos animales se transforman en portadores sanos. El reservorio dentro del organismo de los gatos portadores es desconocido, aunque los microorganismos *H.felis* han sido observados dentro de macrófagos esplénicos y pulmonares (August, JR .2004).

9- DIAGNOSTICO

Si bien el organismo fue reconocido por primera vez en 1942 en Sudáfrica y luego en los estados Unidos en 1953, el diagnóstico definitivo de hemobartonelosis felino sigue siendo difícil en muchos casos (VanSteenhouse , J.L. y col. 1993). Ya a finales de los 80 se publicaron varios comunicados acerca de la dificultad que significaba el diagnóstico, en uno de ellos (Turner, C. 1986) se comunicaba : “ nuestros resultados de una encuesta no publicada han indicado una limitación técnica en el diagnóstico de la anemia infecciosa felina que limita seriamente los estudios epidemiológicos sobre esta enfermedad”. Por el contrario y con el desarrollo reciente de métodos moleculares se ha facilitado enormemente la identificación de estos agentes y el análisis PCR es el método diagnóstico de elección para las infecciones por hemoplasmas felinos.

9.1- Aproximación al Diagnostico por el Examen Clínico:

Al examen físico del gato afectado por esta enfermedad, se podrá apreciar las mucosas pálidas e ictericas, temperatura normal, variando en el hospedero según la cepa que lo este afectando, habrá taquipnea, taquicardia, deshidratación, linfadenopatía mesentérica, disnea, depresión, caquexia, debilidad, vómitos, letargia y anorexia de 1-2 días de duración; a la palpación abdominal se podrá percibir una esplenomegalia, debido a que cuando el sistema inmune identifica como anormal a las células afectadas, son destruidas en el bazo. (Gómez, N.V. 1999).

9.2- Características del examen de laboratorio:

La infección por hemoplasmas normalmente causa una Anemia regenerativa. La regeneración se caracteriza por la presencia o una respuesta adecuada de reticulocitos por el grado de anemia presente .Los recuentos elevados de reticulocitos son característicos de una anemia regenerativa, pero otras características de la regeneración que se pueden observar en los frotis de sangre incluyen anisocitosis y la policromasia. La naturaleza de la anemia por hemoplasmas es a menudo macrocítica

y normocrómica, aunque la macrocitosis puede reflejar infección por FeLV. Glóbulos rojos nucleados también pueden ser prominentes. (Tasker, S. 2006).

El hematocrito puede declinar al 15 % o menos, con concentraciones de hemoglobina cercanas al 12,9 g/dl. Los signos clínicos se pueden volver aparentes una vez que el hematocrito cae por debajo de 20 %; cerca del 50 % de los pacientes felinos tienen grandes cantidades de eritrocitos parasitados circulantes. En ocasiones en sangre periférica se observa eritrofagocitosis por las células mononucleares (August, JR .2004). La prueba de Coombs y la prueba de aglutinación en placa han sido reportados en la infección aguda de *M.haemofelis* durante la anemia clínica, indicando la presencia de anticuerpos de glóbulos rojos. Los estudios han demostrado que estos suelen ser anticuerpos IgM reactivos, pero su significado es desconocido. Estos anticuerpos desaparecen con el tratamiento de la infección, La Hiperbilirrubinemia puede resultar de la hemolisis y puede ser una característica de la hemolisis extravascular e intravascular.

La hemoglobinemia y la hemoglobinuria solo ocurren con hemolisis intravascular la cual es reportada ocasionalmente con la infección por micoplasmas. (Tasker, S. 2006).

9.3-Microscopia

El diagnóstico de la infección por hemoplasmas solía depender de la demostración de los organismos en un frotis de sangre de buena calidad con tinción de Romanowsky . Los Haemoplasmas aparecen en la superficie de los eritrocitos de forma individual, en parejas o en cadenas. (Tasker, S. 2009). Los microorganismos son coloreados con precisión con Wright – Giemsa u otras tinciones como nuevo azul de metileno y el mismo Romanowsky, y aparecen como cuerpos azul oscuro o gramnegativos de conformación variable, de 0,3 a 0,8 µc, sobre la superficie de los glóbulos rojos felinos (August, JR .2004). Sin embargo diagnósticos falsos positivos pueden producirse, reduciendo la especificidad, debido a las manchas por precipitados, o la inadecuada fijación o secado y a un diagnóstico erróneo por cuerpos de Howell-Jolly como órganos hemoplasmas (sin embargo los cuerpos de Howell-Jolly son el doble de grandes que los parásitos y no son refráctiles). La citología también tiene poca sensibilidad.

La ausencia de organismos en los frotis de sangre no excluye un diagnóstico de haemoplasmosis. (Tasker, S. 2009). En un trabajo comparativo reciente sobre la eficiencia en la tinción entre la naranja de acridina (un colorante fluorescente) y la tinción de Romanowsky para el diagnóstico de *Hemobartonella felis* en frotis de sangre, demostró que la tinción con naranja de acridina es superior a la tinción de Romanowsky . El procedimiento de naranja de acridina sufre las desventajas de que exige la fijación de los frotis de sangre por 24 horas y la necesidad de microscopio ultravioleta. (Bobade, P.A., Nash, A.S. 1986).

Según se informa, el naranja de acridina detecto H.felis en 15 de 57 gatos muestreados en un estudio (Small, E., Ristic, M.1971), mientras que con la coloración de Giemsa solo fueron positivos 5 casos (Foley, J 1998).

La sensibilidad de la evaluación citológica del frotis sanguíneo para el diagnóstico de hemoplasmosis es de tan sólo el 30%, porque puede no haber microorganismos teñibles en los frotis sanguíneos, incluso en gatos con una anemia muy intensa. Los artefactos de precipitado y secado del colorante pueden interpretarse erróneamente como hemoplasmas y, por tanto, es muy poco específica. (Sykes, J. 2009).

9.4-Cultivo(o falta de él)

La H.felis nunca ha sido cultivada en medios artificiales; toda su existencia se encuentra íntimamente asociada con las superficies de los glóbulos rojos sanguíneos .Los micoplasmas en general requieren medios muy enriquecidos para su crecimiento .Los protocolos culturales no publicados que fracasaron incluyeron el cultivo en medios para micoplasmas y en agar con sangre felina fresca .(August, .J.R. 2004).

9.5-Detección de Anticuerpos.

Los anticuerpos pueden ser medidos mediante el análisis indirecto con anticuerpos fluorescentes empleando extendidos sanguíneos obtenidos de pacientes felinos infectados de forma experimental (Foley, J. 1998), o ensayo enzimoimmunosorbente (ELISA) (Turner, C. 1986).La H.felis puede ser detectable a partir del día 21posinfección y se comunicaron valores elevados para el día 28 (Foley, J. 1998).Estos análisis no se encuentran disponibles como rutina para los veterinarios prácticos y su utilidad diagnóstica no ha sido determinada.

Íntimamente asociada con las superficies de los glóbulos rojos sanguíneos.los micoplasmas en general requieren medios muy enriquecidos para su crecimiento .Los protocolos culturales no publicados que fracasaron incluyeron el cultivo en medios para micoplasmas y en agar con sangre felina fresca (August, .JR .2004).

9.6- Reacción en cadena de la Polimerasa

El PCR amplifica pequeñas cantidades de ADN específicas para que las cantidades previamente indetectable lleguen a ser detectables. Cuando se diseña adecuadamente, pueden ser una prueba muy sensible y específica para el diagnóstico de la infección por hemoplasmas. La sensibilidad y especificidad de las pruebas de PCR debe ponerse a disposición de los laboratorios que lo ofrecen comercialmente, por lo que su fiabilidad puede ser evaluada por el veterinario. El PCR es más sensible

que la citología y ahora es considerada como la prueba diagnóstica de elección para la infección de hemoplasmas felino. A diferencia de la citología, el PCR también puede distinguir entre las diferentes especies de hemoplasmas.

El análisis de PCR es hoy el método de elección para diagnosticar las infecciones por hemoplasmas. Todos los ensayos de PCR desarrollados hasta la fecha se basan en el gen 16S rARN de hemoplasmas y permiten la amplificación de genes específicos de destino de la sangre anticoagulada con EDTA o muestras de tejido de animales infectados. Un ensayo en particular de Linda Berent demostró que mediante un análisis de PCR, fue posible detectar *H.felis* en muestras de sangre obtenidas de los gatos durante el pico de parasitemia, y después del desafío con fármacos inmunosupresores. Durante e inmediatamente después del tratamiento con antibióticos, esta prueba puede no detectar el organismo (Berent, L. 1998). Sin embargo, *M.Candidatus turicensis* no es amplificada o no se puede distinguir de *M. haemofelis* con los ensayos anteriores. Por lo tanto se han desarrollado ensayos de PCR cuantitativa en tiempo real para diferenciar los tres hemoplasmas felinos (Willi, B. et al, 2003).

El PCR cuantitativo No convencional puede detectar y distinguir tanto Mhm y Mhf, pero el PCR cuantitativo a tiempo real, además puede cuantificar Mhm y Mhf de ADN en muestras de sangre (Willi, B. 2005).

Las universidades de Zúrich, Suiza, y Bristol, Reino Unido han desarrollado ahora el PCR a tiempo real- para detectar y cuantificar *M. Candidatus turicensis* en muestras de sangre felina. La cuantificación de ADN del Hemoplasma en muestras de sangre puede ayudar a determinar la importancia de la infección y controlar la respuesta al tratamiento. Durante el tratamiento eficaz con antibiótico, los gatos pueden ser PCR negativos, pero puede tardar días o incluso semanas para que los niveles de hemoplasmas comiencen a caer por debajo de los límites de detección. La prueba de PCR puede llegar a ser positivo de nuevo cuando se interrumpe el tratamiento con antibióticos, debido al recrudecimiento de la infección. Las muestras de sangre para PCR para hemoplasmas idealmente no deberían ser recogidos durante el tratamiento con antibióticos, aunque un resultado muy positivo indicaría que la terapia no está siendo eficaz. El PCR puede detectar los gatos infectados de forma crónica y asintomática. Por lo tanto, un resultado positivo de PCR no siempre se correlaciona con la presencia de haemoplasmosis clínica. (Tasker, S. 2009)

10-TRATAMIENTO

Los Derivados de las tetraciclinas son los más comúnmente utilizados para tratar la haemoplasmosis, la doxiciclina es el tratamiento habitualmente preferido debido a los pocos efectos secundarios y que requiere una sola dosis diaria. Cursos de corta duración de la doxiciclina (hasta 21 días) no siempre eliminan la infección y se

recomienda que el tratamiento se mantenga durante al menos 4-6 semanas, dependiendo de la respuesta al tratamiento que se puede evaluar tanto clínica como por PCR. La Doxiciclina parece tener actividad frente a todas las especies de hemoplasmas felinos descritos aunque los estudios controlados se han realizado sólo para Mhf (Willi, B. 2005). Estudios recientes encontraron que 5 mg / kg / día vía oral de enrofloxacin se asoció con una mejoría clínica en los gatos inoculados con Mhf pero, la eliminación del organismo, según lo indicado por los reiterados resultados negativo de la PCR, no siempre resulta (Dowers, K. L., et al. 2002). La Marbofloxacin (2 mg / kg / día vía oral), en recientes estudios de la Universidad de Bristol, se trata de manera efectiva a la enfermedad clínica para Mhf, pero la eliminación de la infección no se demostró a pesar de continuar el tratamiento durante 28 días. Es interesante como Mhm no mostro respuesta favorable para el tratamiento con marbofloxacin como Mhf (Ishak, A.M., et al. 2008). Se han realizado estudios en India acerca del tratamiento en gatos infectados con Clindamicina intramuscular por una semana, administrando 10 mg/kg cada 12 horas. Aunque al día 3 de tratamiento los microorganismos estaban presentes, la temperatura era normal y se detecto que esos organismos en la superficies de los eritrocitos habían decrecido y el hematocrito había aumentado . Una vez cumplida la semana la temperatura, mucosas, pulso y frecuencia respiratoria era normal. Además el hematocrito, los eritrocitos y el nivel de hemoglobina también se normalizaron. Sin embargo efectos adversos se han reportado en gatos y perros incluyendo gastroenteritis (Senturk, S. y col.2007).

El tratamiento de elección para la Hemobartonelosis son las tetraciclinas (tetraciclina, oxitetraciclina o doxiciclina). La tetraciclina por lo común se prescribe en una dosis de 25 mg/kg por vía oral cada 8 horas durante 3 semanas. La oxitetraciclina es conveniente porque puede ser suministrada con menor frecuencia, pero se encuentra asociada con dolor a la administración y reacciones locales en el sitio de inyección. (August, JR .2004)

El tratamiento de elección y específico para la hemobartonelosis en gatos es Doxiciclina. La Doxiciclina es un antibiótico de amplio espectro, presenta el más alto grado de liposolubilidad entre todas las tetraciclinas, penetrando en forma directa como droga activa a través de la doble membrana lipídica de los agentes infecciosos, atacando inclusive a algunas cepas resistentes a otras tetraciclinas. La presencia del alimento en el estómago no interfiere en su absorción y posee excelente distribución y penetración en la mayoría de los líquidos y tejidos orgánicos.

Posee absorción oral elevada con vida media plasmática prolongada de aproximadamente 18 a 24 horas y por sus características farmacocinéticas se la puede considerar como de larga acción, siendo un agente de administración: "una dosis por día". Esto se debe a la lipofilia aumentada de la droga (en referencia a otras tetraciclinas) así como a una extensa fijación a proteínas plasmáticas, que determinan un tiempo de eliminación prolongado. El mecanismo de excreción (casi exclusivamente

por vía intestinal) la hace indicada para el tratamiento de pacientes con disfunción renal preexistente. El mecanismo de acción es común a todas las tetraciclinas: entran al microorganismo, en parte por difusión pasiva y en parte por transporte activo, se unen a un receptor específico en la subunidad ribosomal 30S, bloqueando la unión del ARN mensajero con el ARN transmisor, lo que bloquea la correcta síntesis proteica, impidiendo la reproducción de la bacteria. La doxiciclina se administra 10 mg/kg vía oral c/ 24 horas durante un mínimo de dos semanas. Los gatos que no toleren la doxiciclina pueden ser tratados con enrofloxacin como alternativa. También pueden ser necesarias transfusiones de sangre. El efecto secundario comunicado que debe tenerse en cuenta es una esofagitis con la posibilidad de una estenosis.

El tratamiento simultáneo con Prednisona para tratar la anemia hemolítica inmunomediada secundaria es controvertido y debe evitarse en la medida de lo posible, ya que los glucocorticoides pueden reactivar infecciones por hemoplasmas latentes. En los gatos tratados se resuelve la anemia, pero la mayoría de los gatos permanece con la infección latente y la enfermedad puede reaparecer después de una enfermedad simultánea o de una inmunodepresión. Los antibióticos parecen reducir con menos eficacia la carga de microorganismos en los gatos infectados por *Mycoplasma Candidatus haemominutum*.

11-ESTUDIOS REGIONALES

La Hemobartonelosis Felina es de distribución mundial, con mayor incidencia en las zonas cálidas, a través de técnicas moleculares, microscopia, exámenes clínicos y de laboratorio se han demostrado la presencia de hemoplasmas hemotrópicos en toda América Latina. Es un hecho que esta enfermedad comenzó a hacerse más evidente con el uso de técnicas moleculares para el diagnóstico lo que permitió que se identificara clasificara y cuantificara el microorganismo actuante en dicha región.

Estudios recientes utilizando técnicas moleculares para la detección de diferentes micoplasmas hemotrópicos en mamíferos se han realizado en Brasil. En los gatos domésticos, las infecciones por *Mycoplasma haemofelis*, *Candidatus M. haemominutum* y *Candidatus M. turicensis* fueron identificados. Estas especies también se encontraron en los gatos de vida libre y en cautiverio Neo tropical.

11.1- BRASIL

En Porto Alegre, 371 gatos fueron a la prueba de PCR para los tres hemoplasmas felinos; 21,3% estaban infectados por lo menos con una especie. La mayoría de las especies comunes en este estudio fue *M. Candidatus haemominutum* con 50 gatos positivos (13,5%), mientras que *M. Candidatus turicensis* y *M. haemofelis* se encontró en 10 (2,7%) y 8 (2,2%), de los gatos, respectivamente (Santos, 2008). Los gatos machos y gatos de acceso a vida libre tenían más probabilidades de estar infectados con hemoplasmas en este estudio. Este fue también el primer informe de *M. Candidatus turicensis* en gatos domésticos en Brasil.

En un estudio en el Hospital de Pequeños Animales de la Universidad de São Paulo, Sudeste de Brasil, *M. haemofelis* y *M. Candidatus turicensis* fueron detectados por PCR y confirmados por la secuenciación del gen 16S ARNr de 23 (8,5%) y 1 (0,37%) de un total de 270 gatos con anemia (hematocrito <30%), respectivamente (HORA, 2008). Otro estudio comparó 80 sanos y 74 gatos enfermos de Botucatu, São Paulo, 8 (10%) gatos sanos y 15 (20%) de los gatos sintomáticos fueron positivos para *M. haemofelis* y / o *Candidatus haemominutum* M. (Batista, 2004).

En conclusión, las especies de hemoplasmas son comunes en las ciudades brasileñas.

11.2- ARGENTINA

Se han publicado estudios por brotes de la enfermedad en Argentina. Uno en particular sobre el diagnóstico y tratamiento de un brote de *Hemobartonella felis* en un refugio de gatos en el norte del Gran Buenos Aires. El brote se produjo durante un período de 9 días en enero de 2002, coincidentemente con una explosión demográfica de pulgas. Esto es coincidente con un estudio realizado por Scaramal en 1995 también en Argentina en el cual se detectó un incremento notable de los casos en los períodos de primavera verano, el 74% de los casos se manifestó en dicho periodo. Los pacientes fueron 50 gatos, 21 Machos y 29 Hembras Europeos, pelicortos y pelilargos, cuyas edades oscilaban entre 3 meses y 6 años de edad. Se encontraban alojados en una casa chalet. Desde el momento de la primera consulta los animales comieron Iams Cat Food (los adultos), Iams Kitten (los jóvenes).

El diagnóstico de *Hemobartonella felis* se realizó mediante extendidos de sangre capilar extraída con agujas 25 G proveniente de la vena marginal de la oreja, coloreada con Giemsa. El agente etiológico se diagnosticó en 35 casos.

La materia fecal fue procesada mediante:

Benbrook modificado, Sulfato de Zn. (búsqueda de *Giardia spp*) Frotis fecal con coloración de Ziehl-Neels modificada (búsqueda de *Cryptosporidium parvum*)

A los gatos que presentaban depilaciones se les tomaron muestras para coloración y cultivo de los pelos. A un gato clínicamente muy deteriorado se le extrajo sangre para diagnóstico de VIF y VILEF.

El tratamiento al que fueron sometidos los pacientes fue el siguiente:

Tratamiento específico: Doxiciclina: los 50 gatos recibieron el tratamiento específico contra Hemobartonela: a la dosis de 10 mg/kg de peso en una toma cada 24 horas por vía oral durante 7 días.

Dexametasona por vía inyectable a 15 gatos durante tres días, a la dosis inicial de 0,5mg /kg y luego tres días más en dosis decreciente, administrada por la tarde.

También se realizó el tratamiento contra:

Ctenocephalides *felis*: 50 gatos, Cystoisospora y Toxascaris 50 gatos. Las piodermias recibieron tratamiento local con nitrofurazona y los que padecían neumonitis: azitromicina 20 mg / Kg cada 24 horas tres días.

Tratamiento de sostén:

Hierro elemental por vía inyectable a 30 gatos, vitamina de complejo B: 50 gatos. Inmunoestimulan^R 0,1 cc/kg de peso 1 vez por semana. Calor a 5 gatos. Vapor a 10 gatos. Intestinal Programme Royal Canin: Los pacientes con diarrea comieron esta dieta hasta normalización de las heces. Tres gatos fueron hospitalizados por cuatro días para reposo absoluto, durante este lapso fueron alimentados con A/D Prescription diet Hill's.

Resultados:

46 enfermos evolucionaron favorablemente. No se realizó transfusión sanguínea a ningún gato por razones económicas. Tres gatos fallecieron al comienzo del brote, y el gato VIF positivo falleció un mes después.

Discusión y Conclusiones:

Si bien el modo de transmisión de H.felis no ha sido totalmente esclarecido, las pulgas cumplen un rol preponderante. El uso de Doxiciclina tiene la ventaja de una sola toma por día durante una semana, en contraposición con el uso de Tetraciclina que requiere dos tomas diarias durante 20 días de tratamiento. El tratamiento de sostén cobró mayor valor toda vez que los felinos se encontraban disminuidos por presentar diversas patologías.

Hospital Veterinario de Virreyes. San Fernando, Prov. de Buenos Aires, Argentina.

PERU

Existe un trabajo, acerca de la presencia de la Hemobartonela en Peru, realizado en la ciudad de Lima Metropolitana y en diferentes consultorios de práctica privada dedicados a la atención de animales de compañía. Las muestras sanguíneas fueron tomadas durante los meses de septiembre a diciembre del 2002. Se recolectaron, muestras de sangre de 60 gatos, elegidos al azar (sanos o enfermos); que llegaban a los consultorios para baño o atención médica, de diferentes edades, razas, sexos y distritos de procedencia. Las edades de los gatos estuvieron comprendidas entre los 2 meses y 18 años, siendo distribuidos para un mejor estudio en tres grupos etarios.(Cuadro III).

Cuadro III Estudio de prevalencia en 3 grupos etarios de gatos en Perú

Grupo	Intervalo de edad	Fenotipo	Total	Porcentaje(%)
1	2 meses a 1 año	cachorros	7	11,67
2	1 a 7 años	adultos	42	70,00
3	7 a 18 años	gerontes	11	18,33
Total			60	100.00

El trabajo fue demostrar mediante el diagnóstico Hemocitológico rutinario, la presencia de los microorganismos que ocasionan la Hemobartonelosis Felina en la ciudad de Lima, Perú.

RESULTADOS

Se encontraron siete (7/60) gatos positivos al microorganismo causante de la enfermedad. El 71.43% (5/7) de los animales positivos se encontró en el Grupo Etario 2, respaldando lo encontrado por Scaramal (1999), que encontró mayor incidencia de la enfermedad en animales entre uno y tres años.

El 28.57% (2/7) de animales infectados estaba dentro del Grupo Etario I, estos animales estaban infectados a pesar de su corta edad.

Los resultados del presente trabajo, al encontrar al microorganismo parasitando el glóbulo rojo mediante pruebas hemocitológicas de rutina (frotis sanguíneo) en diferentes consultorios de animales menores, son determinantes para decir que la Hemobartonelosis Felina existe en Lima Metropolitana con una prevalencia mayor al 5% (Gomez, G. 2003).

12- CONCLUSIONES

-La Bacteria conocida como Hemobartonela felis es un Micoplasma parásito de glóbulos rojos capaz de generar una Anemia hemolítica fatal en felinos.

-Existen 3 especies con mayor prevalencia a nivel mundial, Micoplasma haemofelis (Mhf), Candidatus Micoplasma haemominutum (Mhm) y Micoplasma turicensis (Mtc). Cada uno a su vez presenta diferente poder patógeno, siendo Mhf el que genera la mayor variedad de signos clínicos.

-Cuando el organismo del paciente felino se defiende, se instala una anemia básicamente por dos mecanismos; el secuestro (a través de prolongaciones de macrófagos que capturan a H.felis, y por "Pitting" o el picado en el bazo de H.felis de los eritrocitos), y la hemólisis generada por la reducción de la vida media del eritrocito debido a el "abollamiento" que produce el anexo del parásito al glóbulo rojo.

-Este anexo del microorganismo puede generar cambios en la superficie del eritrocito modificando antígenos de superficie generando una respuesta inmune a través de autoanticuerpos contra estos antígenos desencadenando la destrucción indirecta de estos eritrocitos.

- Dentro de los factores de riesgo para adquirir la enfermedad están, los ectoparásitos (principalmente pulgas), el acceso a la vida libre, mayor predisposición en machos, una incidencia máxima entre los 4 y 8 años y animales predispuestos inmunológicamente. Sobre esto último se demostró una mayor intensidad en la anemia generada por la asociación entre H.felis y algunos retrovirus como el Vilef y Vif.

-Las vías de transmisión son principalmente a través de la sangre (parasitos hematófagos, transfusiones, etc). se ha aislado la bacteria de la saliva de felinos por lo que los abscesos por mordidas se proponen como vía horizontal de contagio. La vía vertical también es posible, se desconoce si es transplacentaria o por vía lactogena.

-Pueden existir 5 etapas en la infección experimental preparasitemica, parasitemica, aguda, de recuperación y de portador, no presentándose todas las etapas en la infección natural.

- el diagnóstico se basa en técnicas moleculares, la clínica y las tinciones además de exámenes de laboratorio.

-El diagnóstico se realiza a nivel mundial a través del PCR. Esta técnica ha sido mejorada para generar el PCR cuantitativo en tiempo real con el cual se puede cuantificar el microorganismo e incluso saber que especie está actuando.

-El tratamiento de elección es la Doxiciclina por un mínimo de 21 días. También se utilizan otros derivados de las tetraciclinas como la oxitetraciclina o la tetraciclina.

-La enfermedad tiene una distribución mundial habiéndose diagnosticado en Europa, Asia, América del norte y América del sur.

-Es claro que la enfermedad puede estar presente en nuestro país debido a que ha sido diagnosticada en Argentina y Brasil como en el resto de América del sur y a que presentamos varios de los factores de riesgo, entre los cuales, el más importante (el vector biológico) la pulga *Ctenocephalides felis* está presente en nuestro territorio.

La carencia de trabajos científicos acerca de la incidencia del microorganismo en nuestro país y la falta de elementos para diagnosticarla generan dificultades a la hora de proponerla como un posible diagnóstico diferencial de anemias en gatos. Es necesario generar conciencia acerca de que la *H. felis* puede estar presente en gatos con anemias regenerativas y que muchas veces estas están potenciadas con retrovirus ya diagnosticados en nuestro país.

-La técnica disponible actualmente para Uruguay sigue siendo la tinción de frotis de sangre periférica de los vasos auriculares, o directamente de la vena cefálica del miembro anterior, sin embargo se debe tener en cuenta que la citología tiene poca sensibilidad y que animales afectados pueden dar negativo.

-Aun no es posible realizar exámenes a través del PCR por un lado por la falta de los primers específicos en los laboratorios especializados y por otro lado, el desconocimiento de la enfermedad como tal que impide el desarrollo de esta técnica para saber más de la epidemiología y prevalencia de la enfermedad en Uruguay.

Bibliografía:

- 1-Amiret. (2008). Parásitos de la sangre, Hemobartonela. Madrid, España. Disponible en <http://www.mascotas.org>. Fecha de consulta: 15 set. 2010
- 2-August, J.R. (2004) Hemobartonelosis. Medicina Interna Felina ,4^a. ed. Buenos Aires, Intermedica. 655 p.
- 3-Batista, T.N.(2004) Frequência de infecção do Mycoplasma haemofelis e 'Candidatus Mycoplasma haemominutum' em gatos (Felis catus). Botucatu. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho. Disponible en: www.cbpv.com.br/rbpv/documentos/1832009/rbpv.01803001.pdf. Fecha de consulta: 4/10/10
- 4- Benard,J.L (2009). Determinación de la presencia del Mycoplasma haemofelis en gatos, en el refugio aware de Supango, Sacatepequez, Guatemala.Disponible en: biblioteca.usac.edu.gt/tesis/10/10_1168.pdf. Fecha de consulta : 17/9/10.
- 5- Berent, L.M. y col. (1998) Detection of Haemobartonella felis in cats with experimentally induced acute and chronic infections,using a polymerase chain reaction assay . Am. J. Vet. Res. 59 : 1215-1219.
- 6-Bobade , P.A. y col. (1987) A comparative study of the efficiency of acridine orange and some Romanowsky staining procedures in the demonstration of Haemobartonella felis in feline blood.Vet Parasitol. 26:169-172.
- 7-Carney, H.C, y col. (1993) Feline hemobartonellosis. Vet Clin North Am Small Anim. Pract. 23 : 79-90.
- 8-Dean, R., y col. (2005) Use of the real-time PCR to detect.M haemofelis and `Candidatus Mycoplasma haemominutum´in the saliva and salivary glands of haemoplasma-infected cats, p.554. Proc. BSAVA Congr.British Small Animal Veterinary Association, Gloucester, United Kingdom. Disponible en: linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1098612X08000041. Fecha de Consulta: 17/7/10.
- 9-Dowers, K.L, y col. (2002) Enrofloxacin for treatment of cats experimentally infected with large form Haemobartonella felis. J Am Vet Med Assoc. 221: 250-253.
- 10- Fisher, E.W, y col. (1983) Anaemia in a litter of Siamese kittens. J. Small Anim. Pract. 24: 215-219.

- 11- Foley ,J. y col. (1998) Molecular clinical and pathological comparison of two distinct strain of hemobartonella felis I domestic cats . Am. J. Vet. Res. 59 : 1581-1588.
- 12-Foley, J., Pedersen, N.C. (2001).Candidatus Mycoplasma haemominutum, a low-virulence epierythrocytic parasite of cats. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 51 : 815-817.
- 13-George, J.W, y col.(2002) Effect of Preexisting FeLV infection or FeLV and feline inmunodeficiency virus coinfection on pathogenicity of the small variant of Haemobartonella felis in cats. Am. J. Vet. Res. 63 : 1172-1178.
- 14-Gómez, N.V.y col. (1999). Asociación Argentina de Medicina Felina, Anemia infecciosa. Consultado 15 set. 2010. Disponible en <http://www.aamefe.org/aif.html>.
- 15- Gómez, G. (2003) Diagnóstico Hemocitológico de la Haemobartonellosis en Felinos Domésticos en Lima Metropolitana. Disponible en: www.aamefe.org/hemobartonelosis_en_lima_peru.htm. Fecha de consulta: 4/10/10.
- 16-Grindem, C.B. y col. (1990) Risk factors for Haemobartonella felis infection in cats .J. Am. Vet. Med. Assoc. 196 : 96-99.
- 17- Gretillat, H. 2004. Hallazgo de *Haemobartonella felis* en Chile. Fecha de consulta 15 agosto 2010. Disponible en <http://www.ucl.edu/Revista Avances en Ciencias Veterinarias.html>
- 18-Hayes H.M. y col. (1973).Feline Infectious Anaemia. Risk by age, sex and breed; prior disease; seasonal occurrence; mortality. J. Small Anim. Pract. 14 : 797-804.
- 19- Harvey, J. y col. (1977). Experimental feline haemobartonellosis J. Am. Hosp. assoc. 13 : 28-38.
- 20- Hora, A. S. (2008) Associação da infecção por Mycoplasma haemofelis e os vírus da leucemia e imunodeficiência em felinos anêmicos. São Paulo,115 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo. Disponible en: www.cbpv.com.br/rbpv/documentos/.../rbpv_v18n3_a01.pdf. Fecha de consulta: 4/10/10
- 21-Ishak, K.L, y col. (2008) Marbofloxacin for the Treatment of Experimentally Induced Mycoplasma haemofelis Infection in cats, J. Vet. Int. Med. 22 : 288-292.
- 22-Kreier, J.P. y Ristic, M. (1984). Genus III Haemobartonella . En Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Baltimore .Editado por N. R. Krieg y J. G. Holt. 950 p .
- 23-Kuribayashi, M. (2009) Anemia in cats is it Micoplasma ? The 34th World Small Animal Veterinary Congress WSAVA. São Paulo, Brazil. Disponible en : www.ivis.org. Fecha de consulta 23/8/10

- 24- Lobetti, R. y col (2007) Feline Haemoplasmosis, The 32nd Annual World Small Animal Veterinary Association World Congress Proceedings, Sydney Australia.
Disponible en:
<http://www.vin.com/Proceedings/Proceedings.plx?CID=WSAVA2007&PID=18057&O=Generic>. Fecha de consulta 15/7/10.
- 25-Luria, B. J., y col. 2004. Prevalence of infectious diseases in feral cats in northern Florida. *J. Fel. Med. Surg.* 6 : 287–296.
- 26-Maede, Y. y col. (1979) Sequestration and Phagocytosis of *Haemobartonella felis* in the spleen. *Am. J. Vet. Res.* 40 : 691-695.
- 27-Messick, J.B. (2004) Hemotrophic mycoplasmas (hemoplasmas): a review and New insights into pathogenic potential. *Vet. Clin. Pat.* 33 : 2-13.
Disponible en : www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15048620 Fecha de consulta 9/6/10.
- 28-Nash, A.S, Bobade, P.A.(1986) *Haemobartonella felis* infection in cats from the Glasgow area. *Vet. Rec.* 119 : 373-375.
- 29-Neimark, H. y col. (2001). Proposal to transfer some members of the genera *Hemobartonella* and *Eperythrozoon* to the genus *Mycoplasma* with descriptions of *Candidatus Mycoplasma hemofelis*, *Candidatus Mycoplasma Haemomuris*, *Candidatus Mycoplasma hemosuis*, and *Candidatus Mycoplasma wenyonii*. *J. Syst. Evol. Microbiol.* ; 51 : 891-899.
- 30-Rikihisa, Y, Kawahara, M. y col. (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.
- 31-Ruiz de Gopegui, R. y Torrent, E. (2002). Alteraciones morfológicas de la serie eritroide en un caso de Hemobartonelosis felina. Disponible en: <http://www.veterinaria.org/asociaciones/aevedi/00002CV.htm> .Fecha de consulta 17/7/10.
- 32- Santos, A. P. y col. (2008) Hemoplasma Infection in HIV-positive Patient, Brazil. *Emerging Infectious Diseases* 12 : 1922-1924,
.Disponible en: www.cdc.gov/eid/content/14/12/pdfs/08-0964.pdf. Fecha de consulta 5/10/10.
- 33-Scaramal, J, y col.(1999). Estudio de Hemobartonelosis en 40 gatos. *Rev. Med.Vet.* 78 : 280-284.
- 34- Senturk, S, Yalcin, E.(2007) Treatment of Infectious Anemia with Clindamycin in cat. *Indian Vet.J.* 84 : 72-73 .

- 35- Small, E. y Ristic, M.(1971) Haemobartonellosis. Vet. Clin. North. Am. Small Anim. Pract. 1 : 225-230.
- 36- Splitter, E.J. y col. (1956). Feline infectious anemia. Vet.med. Kansas City . 51 : 17-22.
- 37- Stevenson, M. (1997) Treatment for Haemobartonella felis in cats Vet.Rec. 140 : 512 – 515.
- 38- Sykes, J. E.(2003) Feline hemotropic mycoplasmosis (feline hemobartonellosis). Vet. Clin. Small. Anim. 33 : 773-789
- 39- Sykes, J. (2009) Infectious Causes of Anemia in cats. Disponible en : Veterinary Focus;19:37-39 www.ivis.org/journals/vetfocus/19_2/en/4.pdf Fecha de consulta 15/7/10.
- 40-Tasker, S.(2006) Current concepts in feline haemobartonellosis, In Pract. 8 : 136-141.
- 41- Tasker, S. (2009) Feline Haemoplasma Infection (haemobartonella) - An Update . Veterinary Focus; 19 : 24-28. Disponible en www.ivis.org. Fecha de consulta 15 de agosto del 2010.
- 42- Torrent, E. y col. (2001) Haematological Changes on 48 Cases of Feline Haemobartonellosis. Disponible en : http://www.esvcp.com/ESVCP2001/SVCP2001ProceedingsPrs_0p27.html .Fecha de consulta: 15/7/10.
- 43-Turner, C. (1986) Unreliable diagnosis of haemobartonella felis. Vet. Rec. 119 : 534-535.
- 44-VanSteenhouse, y col. (1993) Feline haemobartonellosis. Compend. Cont. Educ. Pract. Vet., 15 : 535-545.
- 45- Willi, B. y col (2005) Identification, molecular characterization and experimental transmission of a new haemoplasma isolate from a cat with haemolytic anaemia in Switzerland. J. Clin. Microbiol 43 : 2581–2585.
- 46-Willi, B, y col. (2006) Prevalence, risk factor analysis, and follow-up of infections caused by three feline hemoplasmas species in cats in Switzerland. J. Clin. Microbiol. 44 : 961-969.

47-Willi, B. y col. (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 Disponible en: jcm.asm.org/cgi/content/full/44/12/4430. Fecha de consulta : 17/7/10.

48- Willi, B, y col. (2007) From Haemobartonella to Hemoplasma : Molecular methods provide new insights, *Vet. Microb.* 125 : 197-209.

49-. Woods, J.E, y col. (2005) Evaluation of experimental transmission of Candidatus Mycoplasma hemominutum and Mycoplasma haemofelis by Ctenocephalides felis to cats. *Am. J. Vet. Res.* 66 : 1008-1012.

50-Yamaguchi, N. y col. (1996) . Parasite prevalence in free-ranging farm cats, *Felis silvestris catus*. *Epidemiol. Infect.* 116 : 217-223.