

Comparación diagnóstica entre análisis citológico y molecular para la detección de *Mycoplasma haemofelis* en gatos residentes de la ciudad de Pereira, Risaralda, Colombia

Diagnostic comparison between cytological and molecular analysis for the detection of *Mycoplasma haemofelis* in resident cats of the city of Pereira, Risaralda, Colombia

Lyda Caballero Méndez^{1,5}, Luz Natalia Franco Montoya^{1,2}, Margarita María Mazo¹, Juan Carlos Sepúlveda³, Esteban Valencia¹, Tatiana Portilla¹, Leandro Restrepo⁴

RESUMEN

Mycoplasma haemofelis es la especie hemotrópica más patogénica que afecta a los felinos parasitando los glóbulos rojos e induciéndoles un proceso hemolítico que puede terminar en anemia. El presente estudio tuvo como objetivo determinar la prevalencia de dicha infección en felinos domésticos de la ciudad de Pereira, Risaralda, Colombia. Se analizaron las muestras de 104 felinos domésticos entre 1 y 10 años de edad. Se tomaron muestras de sangre para el análisis citológico (parámetros hematológicos) y molecular por PCR. Adicionalmente se evaluaron los posibles factores de riesgo asociados con la presencia de *M. haemofelis* (edad, sexo, estado de vacunación y zona geográfica de procedencia). La prevalencia mediante el análisis molecular fue de 80.8%, en tanto que

¹ Grupo de Investigación Bioecos, Laboratorio Multifuncional, Programa de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Tecnológica de Pereira, Risaralda, Colombia

² Escuela de Medicina Veterinaria, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia, Medellín, Antioquia, Colombia

³ Grupo de Investigación Infección e Inmunidad, Laboratorio de Biología Molecular, Programa de Medicina, Universidad Tecnológica de Pereira, Pereira, Risaralda, Colombia

⁴ Bioparque Ukumari, Pereira, Risaralda, Colombia

⁵ E-mail: lydaccm_27@utp.edu.co

Recibido: 19 de mayo de 2021

Aceptado para publicación: 30 de diciembre de 2021

Publicado: 25 de febrero de 2022

©Los autores. Este artículo es publicado por la Rev Inv Vet Perú de la Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Este es un artículo de acceso abierto, distribuido bajo los términos de la licencia Creative Commons Atribución 4.0 Internacional (CC BY 4.0) [<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.es>] que permite el uso, distribución y reproducción en cualquier medio, siempre que la obra original sea debidamente citada de su fuente original

con la coloración de Giemsa fue de 80.7% y con Wright de 81.7%, siendo los animales más jóvenes (1-2 años) los más afectados. Se evidenció una correlación estadística significativa ($p=0.0038$) de la edad con la infección como un factor de riesgo asociado en esta zona del país.

Palabras clave: micoplasmosis, felinos, anemia, PCR, zoonosis

ABSTRACT

Mycoplasma haemofelis is the most pathogenic haemotropic species that affects felines by parasitizing red blood cells and inducing a haemolytic process that can lead to anaemia. The present study aimed to determine the prevalence of this infection in domestic felines from the city of Pereira, Risaralda, Colombia. Samples from 104 domestic felines between 1 and 10 years of age were analysed. Blood samples were taken for cytological (haematological parameters) and molecular analysis by PCR. Additionally, the possible risk factors associated with the presence of *M. haemofelis* (age, sex, vaccination status and geographical area of origin) were evaluated. The prevalence by molecular analysis was 80.8%, while it was 80.7% with the Giemsa stain and 81.7% with the Wright stain, and the youngest animals (1-2 years) being the most affected. A significant statistical correlation ($p=0.0038$) of age with the infection was evidenced as an associated risk factor in this area of the country.

Key words: mycoplasmosis, felines, anaemia, PCR, zoonosis

INTRODUCCIÓN

Los micoplasmas hemotrópicos felinos constituyen un grupo de bacterias que pueden causar anemia hemolítica en gatos (Roura *et al.*, 2010; Tasker, 2010; Korman *et al.*, 2012). Tres hemoplasmas han sido descritos causando infecciones en gatos domésticos y salvajes, *Candidatus Mycoplasma haemominutum*, *Candidatus Mycoplasma turicensis* y *Mycoplasma haemofelis*, siendo este último el microorganismo más patogénico (Santos *et al.*, 2014).

La micoplasmosis felina también conocida como anemia infecciosa felina o hemoartonelosis, es causada por una bacterias gram negativa extracelular pequeña (0.3 - 0.8 μm), con habilidad pleomórfica, que utilizan la superficie de los eritrocitos de varias especies de mamíferos para su supervivencia (Silva *et al.*, 2020). Estas infecciones inducen

hemólisis aguda asociada a episodios de anorexia, letargia, deshidratación y pérdida de peso (Willi *et al.*, 2010), así como cuadros severos de anemia hemolítica en gatos inmunocompetentes, pudiendo llegar a causar la muerte del animal (Tasker *et al.*, 2009; Vilhena *et al.*, 2017). La ruta natural de transmisión depende del vector artrópodo *Ctenocephalides felis*; sin embargo, la inoculación subcutánea de sangre que contiene microorganismos sugiere que la transmisión puede ser posible, además, por interacciones agresivas, transfusiones de sangre, y mediante transmisión vertical (Tasker, 2020).

La infección por *Mycoplasma* es usualmente diagnosticada a través de la detección del microorganismo en la superficie del eritrocito en extendidos de sangre periférica coloreados con Giemsa y vistos bajo el microscopio (Inokuma *et al.*, 2004); sin embargo, la observación microscópica por sí sola no es suficiente para confirmar el diagnósti-

co ya que pueden presentarse falsos positivos y negativos (Aklilu *et al.*, 2016, Hawley *et al.*, 2018). En años recientes, la técnica PCR (reacción en cadena de la polimerasa) se ha convertido en el método de elección para el diagnóstico del patógeno, dada su alta sensibilidad y especificidad (Korman *et al.*, 2012, Molina y Pacheco, 2016).

MATERIALES Y MÉTODOS

Consideraciones Bioéticas

El estudio fue aprobado por el Comité de Bioética Animal y los procedimientos fueron realizados en las instalaciones del laboratorio Multifuncional del Programa Medicina Veterinaria y Zootecnia y en el laboratorio de Biología Molecular de la Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Tecnológica de Pereira, Colombia.

Tipo de Estudio y Población

Se realizó un estudio descriptivo de tipo corte transversal con la población felina atendida en la Unidad Móvil de Bienestar Animal del Bioparque Ukumarí, durante las campañas de esterilización realizada en la ciudad de Pereira en 2019 y 2020. Se tomó una población base de 104 felinos con un margen de error del 5% y un nivel de significancia del 95%, en base a otras prevalencias de la misma enfermedad halladas en Latinoamérica (Carvajal, 2012, González, 2014). Se tuvieron en cuenta variables como edad, sexo, estado de vacunación (si el felino estaba vacunado frente a algún agente infeccioso) y zona geográfica de procedencia.

Como criterios de inclusión se tuvieron en cuenta felinos no castrados entre 1 y 10 años clasificados en tres grupos etarios (1, 2, ≥ 3 años), pertenecientes a estratos socioeconómicos uno (bajo-bajo) y dos (bajo) de la ciudad de Pereira (Yunda, 2019), que corresponden a zonas con recursos económicos limitados, limitando su acceso a servi-

cios veterinarios. Como criterios de exclusión se consideraron a felinos mayores de 10 años, castrados y/o con coagulopatías o enfermedades cardíacas de base.

Muestras

Las muestras de sangre se tomaron de la vena cefálica o yugular externa en el momento en que los pacientes se encontraban anestesiados para el procedimiento quirúrgico de esterilización. Las muestras se tomaron mediante aspiración con jeringa empleando tubos de BD Vacutainer tapa lila pediátrico que contenían EDTA como anticoagulante. Las muestras fueron transportadas al laboratorio en neveras portátiles a una temperatura aproximada de 4 °C. En el laboratorio se realizaron dos extendidos por cada muestra: uno para coloración de Wright y el otro para coloración con Giemsa, los cuales fueron analizados por microscopía de luz clara para determinar la presencia o ausencia del hemoparásito. Además, se hicieron hemogramas de cada muestra en un analizador hematológico Urit Medical 2900Vet Plus.

Extracción de ADN y Cebadores

Se extrajo el ADN de las muestras de sangre con el QIAamp DNA Blood Mini kit (Qiagen) siguiendo las instrucciones del fabricante. A partir del ADN obtenido se realizó la amplificación del fragmento 16s ARN ribosomal de la bacteria *Mycoplasma haemofelis* str. Langford 1 (NCBI FR773-153.2) empleando PCR convencional. Se emplearon los cebadores para la detección de *Mycoplasma haemofelis* descritos por Tasker *et al.* (2009). La expresión del gen constitutivo gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa felino fue usado para normalizar la expresión de los datos de cada muestra, los cebadores para el GADPH felino fueron descritos por Leutenegger *et al.* (1999) (Cuadro 1). Los cebadores se alinearon con base en las secuencias reportadas en el sitio web GenBank NCBI (*National Center for Biotechnology Information*). Se empleó como control positivo

Cuadro 1. Secuencia de los cebadores

Cebadores	Secuencia	% GC	Temp (°C)	Tamaño del amplicón (pb)
<i>Mycoplasma haemofelis</i>	5'-GTGCTACAATGGCGAACACA'(F) 5'-TCCTATCCGAACTGAGACGAA-3'(R)	50 48	61 60	79
GAPDH felino	5'-GCCGTGGAATTTGCCGT-3'(F) 5'-GCCATCAATGACCCCTTCAT-3'(R)	59 50	63 62	82

ADN de *Mycoplasma* del kit comercial Mycoplasma PCR detection kit (Applied Biological Materials - abm) y como control endógeno del proceso GAPDH felino (NCBI NM001009307.1) (Cuadro 1).

PCR

Para la PCR convencional se emplearon las siguientes concentraciones: 50 ng/ μ l de ADN genómico, 2.0 mM MgCl₂ (Promega), buffer PCR 1x (Promega), 0.2 mM dNTPs, 0.2 μ mol de cada cebador (Sigma), 1.5 UI de Taq Polimerasa (Thermo Scientific) en un volumen final de 25 μ l de reacción bajo las siguientes condiciones: desnaturalización inicial 94 °C por 5 min, desnaturalización 94 °C por 30 s, hibridación 57 °C por 1 min, extensión 72 °C por 1 min, extensión final 72 °C por 5 min. Para la visualización de los productos de PCR se empleó como agente revelador SYBR green (Invitrogen). Los amplificados obtenidos se corrieron en geles de agarosa al 2%, y fueron observadas en un sistema documentador de geles Doc Rx (Bio Rad).

Análisis de Datos

Se determinó la frecuencia de animales infectados y se realizó una descripción estadística de los datos hematológicos según procedencia, grupo etario y sexo. Todos los datos fueron sometidos a pruebas de normalidad y homocedasticidad, y una vez cumpli-

das las premisas se procedió con los análisis de correlación utilizando las pruebas Chi cuadrado y t test ($p < 0.05$). Para todos los análisis se empleó el Statistical Analysis Software.

RESULTADOS

El 80.7% (84/104) de los gatos muestreados fue positivo para *Mycoplasma haemofelis* usando PCR convencional del fragmento 16s del ARNr con la amplificación de un fragmento de 79 pb de longitud (Figura 1).

En las láminas coloreadas con Giemsa se encontró una positividad para *M. haemofelis* similar a la hallada por PCR (80.7%; 84/104), en tanto que con la coloración de Wright fue de 81.7% (85/104); es decir, se encontró una correlación significativa ($p < 0.01$) entre el diagnóstico por PCR y por el examen citológico. En el examen se pudo observar al interior de los glóbulos rojos y a nivel epitelial cuerpos redondos basófilos, algunas veces en forma de anillos o bastón de 0.5-3 μ m (Figura 2).

Del total de animales muestreados, 59.6% fueron hembras y 48.4% machos, obteniendo una prevalencia de infección para hembras de 88% (50/62) y para machos de 85% (36/42); sin embargo, no hubo correlación entre el género del felino y la presencia del parásito; tampoco se observó correlación

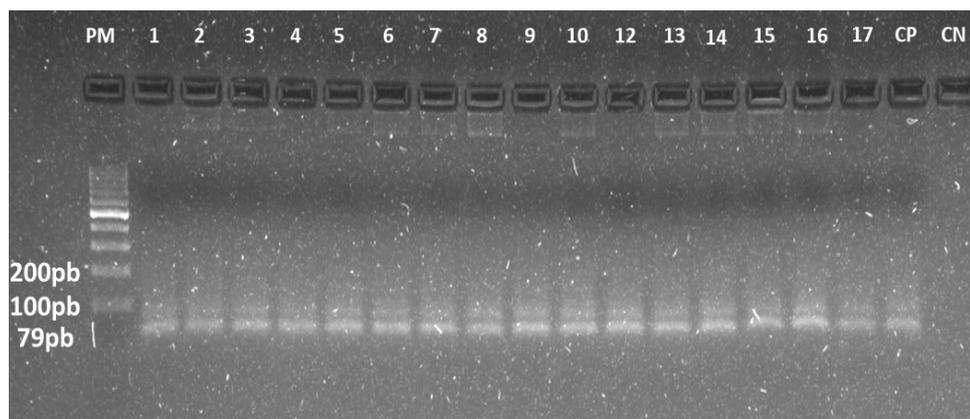


Figura 1. Electroforesis en geles de agarosa del producto de PCR que muestra un tamaño de banda esperado de 79 pb para *Mycoplasma haemofelis* (1-17), CP: control positivo, CN: control negativo, PM: marcador de peso molecular 100pb

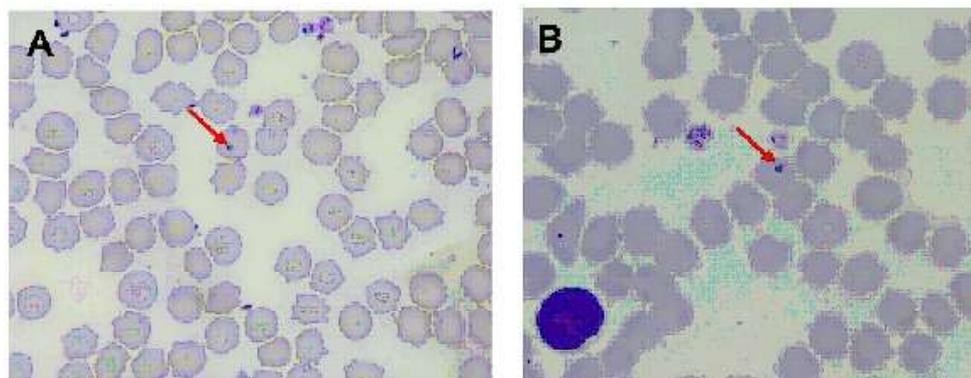


Figura 2. Micrografía de extendidos de sangre periférica de felinos (100x). A. Coloración de Wright B. Coloración de Giemsa. Las flechas rojas indican la presencia de estructura basófila periférica compatible con *Mycoplasma haemofelis*

entre el estado de vacunación ni el estrato socioeconómico con la presencia del parásito. Por otro lado, se evidenció una correlación significativa ($p=0.0038$) de la edad con la infección como un factor de riesgo asociado en esta zona del país, siendo los felinos entre 1 y 2 años de edad los que presentaron la mayor prevalencia del parásito (Cuadro 2).

No se encontró asociación entre los parámetros hematológicos evaluados (células blancas, células rojas, hemoglobina, hematocrito, volumen corpuscular medio, concentración media de hemoglobina, concentración corpuscular media de hemoglobina, plaquetas, linfocitos, neutrófilos) y la presencia del parásito.

Cuadro 2. Prevalencia de *Mycoplasma haemofelis* en 104 datos según su edad (Pereira, Colombia, 2019-2020)

Edad (años)	Hembras		Machos		Total
	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo	
1	34 (51.5%)	8	24 (36.3%)	0	66
2	12 (52.1%)	3	8 (34.7%)	0	23
3	4 (26%)	4	4 (26%)	3	15

DISCUSIÓN

El cuadro infeccioso causado por *Mycoplasma haemofelis* es considerado como una enfermedad recurrente en medicina veterinaria en Colombia, donde gran parte de las infecciones en gatos están sujetas a infestaciones por el vector *Ctenocephalides felis* (Molina y Pacheco, 2016). El diagnóstico del patógeno en el país está usualmente limitado a la identificación mediante extendidos de sangre periférica y su asociación con los valores hematológicos, por lo que la mayoría de los pacientes reciben tratamientos terapéuticos basados en diagnósticos presuntivos (Mayorga *et al.*, 2019). La prevalencia de 81% en el presente estudio fue muy alta en comparación con estudios similares (Cruz *et al.*, 2011; Latrofa *et al.*, 2020; Silva *et al.*, 2020), aunque Carvajal (2012) reportó una tasa de 70% para la ciudad de Bogotá (Colombia). Esto sugiere la importancia de establecer campañas locales y nacionales dirigidas a mitigar la tasa de infección de este microorganismo, especialmente si se considera que la infección también se reporta en felinos silvestres (Willi *et al.*, 2007; Erdal *et al.*, 2018).

La técnica de PCR convencional tiene el potencial de ser extremadamente sensible y específica para el diagnóstico de *M. haemofelis*, mostrando más sensibilidad que

el examen citológico (Tasker, 2010; Kamyngkird *et al.*, 2021). Sin embargo, para próximos estudios se sugiere realizar qPCR con el fin de diferenciar *M. haemofelis* de otras especies de micoplasmas hemotrópicos. En el presente estudio se obtuvo una correlación significativa entre la técnica citológica y la técnica molecular, por lo que se puede inferir que el extendido de sangre periférica es una prueba de alto valor diagnóstico; sin embargo, se requiere que el técnico de laboratorio tenga la habilidad para el reconocimiento e identificación del microorganismo, así como la experticia en el manejo de técnicas moleculares para realizar un diagnóstico certero de la condición del paciente.

Por otro lado, diversos autores indican que el examen microscópico por sí solo no es suficiente para confirmar el diagnóstico por su baja sensibilidad y especificidad (Tasker, 2010; Hawley *et al.*, 2018), ya que las estructuras de la bacteria pueden ser confundidas con artefactos provenientes de tinciones inadecuadas (falsos positivos) o niveles variables de parasitemia que se presentan en animales clínicamente enfermos (falsos negativos). Adicionalmente, se pueden generar interferencias ocasionadas por mala preparación del material a usar e inclusiones citoplasmáticas tipo cuerpos de Howell Jolly, sumado a la incapacidad para diferenciar otras especies infectantes (Barker, 2019).

Los resultados obtenidos por diversos autores con respecto a los parámetros hematológicos son controversiales. Así algunos reportan una relación entre la presencia de *M. haemofelis* y un estado de anemia hemolítica en gatos inmunocompetentes, especialmente en casos de infección severa y potencialmente mortales (Barker *et al.*, 2011; Ghazisaedi *et al.*, 2014; Vilhena *et al.*, 2018); sin embargo, en este estudio no se encontró dicha relación, en concordancia con lo afirmado por otros estudios (Roura *et al.*, 2010; Munhoz *et al.*, 2018), de allí que el cuadro hemático no podría considerarse como un parámetro predictivo en infecciones causadas por este microorganismo.

Con relación a la edad, se determinó que los gatos más afectados corresponden al grupo etario entre 1 y 2 años. Duarte *et al.* (2015) afirman que la tasa de infección por este patógeno se presenta en animales muy jóvenes o gerontes debido a la menor competencia del sistema inmune y la aparición de enfermedades asociadas a la edad. Adicionalmente, una gran población de gatos domésticos en esta región del país tiene actividades al aire libre, exponiéndose a gatos callejeros portadores de la enfermedad, lo que facilita el adquirir este microorganismo a través de artrópodos hematófagos (Inokuma *et al.*, 2004). Con respecto al sexo del felino, y en concordancia con otros estudios realizados, no se encontró una asociación con la presencia del patógeno (Molina y Pacheco, 2016).

CONCLUSIONES

- La prevalencia de *Mycoplasma haemofelis* en gatos residentes de la ciudad de Pereira fue del 81%.
- Los animales más afectados se encuentran entre 1 y 2 años.
- No se encontró relación significativa entre la infección por *M. haemofelis* con algún parámetro hematológico

Agradecimientos

Los autores expresamos nuestros sinceros agradecimientos al Bioparque Ukumari y al Laboratorio de Biología Molecular y Celular adscrito a la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Tecnológica de Pereira.

LITERATURA CITADA

1. **Aklilu E, Shaharulnizim NJ, Francis JS, Anurrdin. 2016.** Molecular investigation of *Mycoplasma haemofelis* in stray cats in Kota Bharu, Kelantan. Trop Biomed 33: 608-612.
2. **Barker E. 2019.** Update on feline hemoplasmosis. Vet Clin North Am Small Anim Pract 49: 733-743. doi: 10.1016/j.cvsm.2019.02.009
3. **Barker E, Darby A, Helps C, Peters I, Heesom K, Arthur C, Crosssett B, et al. 2011.** Molecular characterization of the uncultivable hemotropic bacterium *Mycoplasma haemofelis*. Vet Res 42: 83. doi: 10.1186/1297-9716-42-83
4. **Carvajal D. 2012.** Frecuencia de infecciones rickettsiales y hemoparasitarias en gatos domésticos de los Centros de Zoonosis, en las Ciudades de Bogotá y Cali. Tesis de Magister. Bogotá, Colombia: Univ. Nacional de Colombia. 138 p.,
5. **Cruz A, Tardón R. 2011.** Detección de *Mycoplasma haemofelis* y «Candidatus *Mycoplasma haemominutum*» a través de PCR en gatos de la comuna de Chillán. Estudio preliminar. Hospitales Veterinarios 3: 2.
6. **Duarte A, Marques V, Correia J, Neto I, Bráz B, Rodrigues C, Santos M. 2015.** Molecular detection of hemotropic *Mycoplasma* species in urban and rural cats from Portugal. J Feline Med Surg 17: 516-522. doi: 10.1177/1098612-X14550172

7. **Erdal K, Gazyađci S, Yađci B, Pekcan Z, Gazyađci A. 2018.** Hemoplasmosis (*Mycoplasma* sp) in a captive non domestic cat (*Panthero leo*) with renal failure. *Turk J Vet Anim Sci* 2: 32-34.
8. **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
9. **González E. 2014.** Determinación de la presencia de *Mycoplasma haemofelis* en felinos de la parroquia Ximena de la ciudad de Guayaquil. Tesis Doctoral. Ecuador: Univ. de Guayaquil. 22 p.
10. **Hawley J, Yaaran T, Maurice S, Lappin M. 2018.** Amplification of *Mycoplasma haemofelis* DNA by a PCR for point-of-care use. *J Vet Diagn Invest* 30: 140-143. doi: 10.1177/1040638717729187
11. **Inokuma H, Taroura S, Okuda M, Hisasue M, Itamoto K, Une S, Taura Y. 2004.** Molecular survey of *Mycoplasma haemofelis* and 'Candidatus *Mycoplasma haemominutum*' infection in cats in Yamaguchi and surrounding areas. *J Vet Med Sci* 66: 1017-1020. doi: 10.1292/jvms.66.1017
12. **Kamyngkird K, Jiyipong T, Amavisit P, Stich R, Jittapalapong S. 2021.** Molecular detection of *Mycoplasma haemofelis*, 'Candidatus *Mycoplasma haemominutum*' and 'Candidatus *Mycoplasma turicensis*' of stray cats residing in Bangkok monasteries, Thailand. *Agric Natural Resources* 55: 423-430. doi: 10.34044/j.anres.2021.55.3.12
13. **Korman R, Cerón J, Knowles T, Barker E, Eckersall P, Tasker S. 2012.** Acute phase response to *Mycoplasma haemofelis* and 'Candidatus *Mycoplasma haemominutum*' infection in FIV-infected and non-FIV-infected cats. *Vet J* 193: 433-438. doi: 10.1016/j.tvjl.2011.12.009
14. **Latrofa MS, Iatta R, Toniolo F, Furlanello T, Ravagnan S, Capelli G, Schunack B, et al. 2020.** A molecular survey of vector-borne pathogens and haemoplasmas in owned cats across Italy. *Parasite Vec* 13:116. doi: 10.1186/s13071-020-3990-x
15. **Leutenegger C, Mislin C, Sigrist B, Ehrenguber M, Hofmann R, Lutz H. 1999.** Quantitative real-time PCR for the measurement of feline cytokine mRNA. *Vet Immunol Immunop* 71: 291-305. doi: 10.1016/S0165-2427(99)00100-2
16. **Mayorga D, Echeverry D, Buriticá E, Rondón I. 2019.** *Mycoplasma haemominutum* en la ciudad de Ibagué (Colombia): reporte de cinco casos. *Rev Inv Vet Perú* 30: 1351-1359. doi: 10.15381/rivep.v30i3.15527
17. **Molina V, Pacheco C. 2016.** Manejo terapéutico de lipidosis hepática felina por *Mycoplasma haemofelis*. *CES Med Vet Zootec* 11: 103-114.
18. **Munhoz A, Simões I, Calazans A, Macedo L, Cruz R, Lacerda L, André M. 2018.** Hemotropic mycoplasmas in naturally infected cats in Northeastern Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet* 27: 446-454. doi: 10.1590/s1984-296120180074
19. **Roura X, Peters I, Altet L, Tabar M, Barker E, Planellas M, Tasker S. 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
20. **Santos A, Conrado F, Messick J, Biondo A, Oliveira S, Guimaraes A, González F. 2014.** Hemoplasma prevalence and hematological abnormalities associated with infection in three different cat populations from Southern Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet* 23: 428-434. doi: 10.1590/s1984-29612014079
21. **Silva F, Borges K, Candido S, Dutra V, Bartoli R, Saturnino K, Braga Í. 2020.** Molecular detection of *Mycoplasma haemofelis* in domestic cats

- from municipality of Mineiros, Goiás. Braz J Dev 6: 23084-23093. doi: 10.34117/bjdv6n5-021
22. **Tasker S. 2010.** Haemotropic mycoplasmas: what's their real significance in cats? J Feline Med Surg 12: 369-381. doi: 10.1016/j.jfms.2010.03.011
23. **Tasker S. 2020.** Hemotropic mycoplasma. In: Clinical Small Animal Internal Medicine. John Wiley & Sons. p 927-930.
24. **Tasker S, Peters I, Day M, Willi B, Hofmann R, Gruffydd T, Helps C. 2009.** Distribution of *Mycoplasma haemofelis* in blood and tissues following experimental infection. Microb Pathogenesis 47: 334-340. doi: 10.1016/j.micpath.2009.09.009
25. **Vilhena H, Tvarijonaviciute A, Cerón J, Pastorinho M, Martinez S, Pastor J, Silvestre A. 2018.** Acute phase proteins response in cats naturally infected by hemotropic mycoplasmas. Comp Immunol Microb 56: 1-5. doi: 10.1016/j.cimid.2017.11.001
26. **Vilhena H, Tvarijonaviciute A, Cerón J, Vieira L, Pastor J, Silvestre A. 2017.** Acute phase proteins response in cats naturally infected with *Hepatozoon felis* and *Babesia vogeli*. Vet Clin Path 46: 72-76. doi: 10.1111/vcp.12451
27. **Willi B, Filoni C, Catão L, Cattori V, Meli M, Vargas A, Leutenegger C. 2007.** Worldwide occurrence of feline hemoplasma infections in wild felid species. J Clin Microbiol 45: 1159-1166. doi: 10.1128/JCM.02005-06
28. **Willi B, Novacco M, Meli M, Wolf G, Boretti F, Wengi N, Hofmann R. 2010.** Haemotropic mycoplasmas of cats and dogs: transmission, diagnosis, prevalence and importance in Europe. Schweiz Arch Tierh 152: 237. doi: 10.1024/0036-7281/a000055
29. **Yunda J. 2019.** Densificación y estratificación social en Bogotá: distribución sesgada de la inversión privada. EURE (Santiago) 45: 237-257. doi: 10.4067/S0250-71612019000100237