

Feline Haemoplasmen in der Schweiz: Identifikation einer neuen Spezies, Diagnose, Prävalenz und klinische Bedeutung

B. Willi¹, F. S. Boretti², C. Baumgartner¹, V. Cattori¹, M. L. Meli¹, M. G. Doherr³, C. E. Reusch², R. Hofmann-Lehmann¹

¹Veterinärmedizinisches Labor und ²Klinik für Kleintiermedizin der Universität Zürich, ³Departement für Klinische Veterinärmedizin der Universität Bern

Zusammenfassung

Neben den 2 bereits bekannten feline haemotropen *Mycoplasma* Spezies (auch Haemoplasmen) entdeckten wir vor kurzem bei einer Katze mit hämolytischer Anämie eine dritte Spezies, «*Candidatus Mycoplasma turicensis*» genannt, welche nahe mit Haemoplasmen von Nagern verwandt ist. Die Übertragung des neuen Erregers auf 2 SPF-Katzen führte zu Anämie. Mittels dreier neu entwickelter quantitativer real-time PCR Methoden wurde eine epidemiologische Studie in der Schweizer Katzenpopulation durchgeführt und 713 Blutproben von gesunden und kranken Katzen untersucht. Bis zu 104 Parameter pro Katze (ausführlicher Fragebogen, Krankengeschichte, Laborparameter und Retrovirusinfektionen) wurden evaluiert. «*Candidatus Mycoplasma haemominutum*» kam häufiger vor (8.5%) als *Mycoplasma haemofelis* (0.5%) und als «*Candidatus Mycoplasma turicensis*» (1%). Haemoplasmen-Infektionen waren assoziiert mit männlichem Geschlecht, Auslauf und hohem Alter der Katze, nicht aber mit Krankheit oder Anämie. Die Infektionen traten häufiger im Tessin und in der Westschweiz auf. Mehrere Katzen, meist akut infizierte oder mit FIV oder FeLV koinfizierte Tiere, zeigten eine hämolytische Anämie, was auf eine Beteiligung zusätzlicher Faktoren in der Pathogenese hinweist.

Schlüsselwörter: Haemotrope Mykoplasmen, *Haemobartonella felis*, Katze, Prävalenz, Diagnostik

Feline haemoplasma in Switzerland: identification of a novel species, diagnosis, prevalence, and clinical importance

Two feline hemotropic *mycoplasma* spp. (aka hemoplasma) have previously been recognized. We recently discovered a third novel species in a cat with hemolytic anemia, designated 'Candidatus Mycoplasma turicensis', which is closely related to rodent haemoplasmas. This novel species induced anemia after experimental transmission to two SPF cats. Three quantitative real-time PCR assays were newly designed and applied to an epidemiological study surveying the Swiss pet cat population. Blood samples from 713 healthy and ill cats were analyzed. Up to 104 parameters per cat (detailed questionnaire, case history, laboratory parameters and retroviral infections) were evaluated. 'Candidatus Mycoplasma haemominutum' infection was more prevalent (8.5%) than *Mycoplasma haemofelis* (0.5%) and 'Candidatus Mycoplasma turicensis' (1%). Hemoplasma infections were associated with male gender, outdoor access, and old age, but not with disease or anemia. Infections were more frequently found in the South and West of Switzerland. Several hemoplasma infected cats, some acutely infected, others co-infected with FIV or FeLV, showed hemolytic anemia indicating that additional factors might play a role in the pathogenesis of the disease.

Keywords: hemotropic mycoplasma, *Haemobartonella felis*, cats, prevalence, diagnostics

Einleitung

Haemobartonella felis, der Erreger der infektiösen Anämie der Katze, wurde kürzlich von den Rickettsien in den Genus *Mycoplasma* umgeteilt und gehört nun zu den sogenannten haemotropen *Mykoplasmen* oder Haemoplasmen (Neimark et al., 2001, 2002). Basierend auf der Analyse des 16S rRNA Gens verschiedener feline Haemoplasmen-Isolate wurden

2 Spezies identifiziert: *Mycoplasma haemofelis* und «*Candidatus Mycoplasma haemominutum*» (Berent et al., 1998; Foley et al., 1998; Foley und Pedersen, 2001; Neimark et al., 2001). Die beiden Haemoplasmen unterscheiden sich nicht nur genetisch, sondern auch bezüglich ihrer Pathogenität, wobei *M. haemofelis* pathogener scheint als «*Candidatus M. haemominu-*

tum» (Foley et al., 1998; Westfall et al., 2001). Haemoplasmen-Infektionen rufen meist keine pathognomonischen Symptome hervor. Zusätzlich sind die Symptome abhängig vom Stadium der Erkrankung (akute vs. chronische Infektion). Je nach Schweregrad der Erkrankung werden ein schlechtes Allgemeinbefinden, Schwäche, Anorexie, Gewichtsverlust, blasse oder ikterische Schleimhäute, Splenomegalie und Fieber beobachtet (Tasker und Lappin, 2002). Meist führt die Infektion zu einer regenerativen Anämie, gekennzeichnet durch Retikulozyten, Anisozytose, Makrozytose und Polychromasie (Flint et al., 1958; Foley et al., 1998; VanSteenhouse et al., 1995).

Der bis vor einigen Jahren übliche direkte Erregernachweis im Blutausstrich hat eine geringe Sensitivität und Spezifität. Methoden zum Antikörperrnachweis sind kaum etabliert (Alleman et al., 1999; Foley und Pedersen, 2001), da diese eine grosse Menge von Antigen voraussetzen und es bisher nicht gelungen ist, haemotrope *Mykoplasmen* ausserhalb des Wirtes zu züchten. Verschiedene molekularbiologische Studien legten den Grundstein für eine verbesserte Diagnostik und die Unterscheidung von 2 feline Haemoplasmen-Spezies (Berent et al., 2000; Jensen et al., 2001; Tasker et al., 2001). Mittels Polymerase Kettenreaktion (PCR) wurden feline Haemoplasmen weltweit nachgewiesen (Tab. 1). Mittlerweile stehen spezifische real-time PCR Methoden zur Verfügung, welche zusätzlich eine Quantifizierung von Haemoplasmen im Blut erlauben (Tasker et al., 2003a; Willi et al., 2005). Eine Sequenzanalyse des 16S rRNA Gens verschiedener Isolate zeigte, dass die Nukleotidsequenz dieses Gens innerhalb einer Spezies kaum variiert (Tasker et al., 2003b).

Der vorliegende Artikel präsentiert Resultate einer Prävalenzstudie basierend auf Blutproben von 713 Schweizer Hauskatzen. Die Proben wurden entweder in der Klinik für Kleintiere des Tierspitals Zürich oder

von privaten Tierärzten in der ganzen Schweiz entnommen und mittels PCR im Veterinärmedizinischen Labor analysiert. Im Laufe der Untersuchungen entdeckten wir neben den 2 bekannten feline Haemoplasmen eine dritte Spezies, welche vorläufig «*Candidatus Mycoplasma turicensis*» benannt wurde.

Tiere, Material und Methoden

Insgesamt wurden Blutproben von 713 Schweizer Hauskatzen, 86 gesunde und 627 kranke, untersucht. Einige Proben wurden eingeschickt, da der behandelnde Tierarzt den Verdacht auf eine Haemoplasmen-Infektion hatte. Die Ergebnisse dieser Proben wurden aus der Prävalenzberechnung ausgeschlossen. Soweit vorhanden wurden von jeder Katze die folgenden Daten (bis zu 104 Parameter pro Katze) dokumentiert: Rasse, Alter, Geschlecht, Wohnort, Auslauf ins Freie, Anzahl der Katzen im gleichen Haushalt, Auslandsaufenthalt, Impfstatus, Grund der Untersuchung, komplette Krankengeschichte, Vorbehandlung, klinische Untersuchung, Diagnose, Behandlung, klinischer Verlauf und Laborwerte.

Nach der Extraktion von DNA aus den Blutproben (MagNaPure LC DNA Isolation Kit I; Roche, Rotkreuz) wurden diese zuerst mittels konventioneller PCR (Jensen et al., 2001) und publizierten real-time PCR Methoden untersucht (Tasker et al., 2003a). Aufgrund von Diskrepanzen bei den Resultaten der 2 Methoden und da wir in der Folge eine neue, dritte Haemoplasmen-Spezies bei einer der Katzen (# 946) entdeckten, wurden schliesslich alle Proben mittels dreier neu im Veterinärmedizinischen Labor entwickelter, quantitativer real-time TaqMan PCR Methoden untersucht. Von einigen Schweizer Isolaten (5 «*Candidatus M. haemominutum*», 4 *M. haemofelis* und 3 «*Candidatus M. turicensis*») wurde das 16S rRNA Gen sequenziert. Zur Darstellung der phylo-

Tabelle 1: Feline Haemoplasmen in der Schweiz, Grossbritannien, Spanien, Südafrika, den USA, Australien und Japan: Prävalenz ermittelt mittels PCR.

Land	Anzahl Katzen	<i>M. haemofelis</i> positiv (%)	<i>C. M. haemominutum</i> positiv (%)	<i>C. M. turicensis</i> positiv (%)	Studie
Schweiz	615	0.5	8.5	1.0	
Grossbritannien	426	1.4	16.9	Nicht getestet	(Tasker et al., 2003b)
Spanien	30 ¹	(20) ¹	(10) ¹	Nicht getestet	(Criado-Fornelio et al., 2003)
Südafrika	78	6.4	32.1	Nicht getestet	(Lobetti und Tasker, 2004)
USA	220	4.5	12.7	Nicht getestet	(Jensen et al., 2001)
	484	4.3	8.3	Nicht getestet	(Luria et al., 2004)
Australien	147	4.1	23.1	Nicht getestet	(Tasker et al., 2004a)
Japan	21 ¹	(22) ¹	(67) ¹	Nicht getestet	(Watanabe et al., 2003)

¹ Ausschliesslich Katzen mit Verdacht auf Haemoplasmen-Infektionen untersucht.

genetischen Verwandtschaftsverhältnisse wurde das Wisconsin GCG-Paket («PileUp» und «PAUP-Search», Accelrys GmbH, München, Deutschland) verwendet.

Um die Bedeutung des neuen Erregers «*Candidatus M. turicensis*» zu untersuchen, wurden 2 spezifiziert pathogen-freie (SPF) Katzen mit infiziertem Blut inokuliert. Um die Wahrscheinlichkeit der Infektion zu erhöhen wurde die erste Katze mit Methylprednisolon (10 mg/kg, intramuskulär) vorbehandelt bevor sie 4 ml frisches Heparinblut von Katze 946 erhielt. Die zweite Katze erhielt 4 ml Blut der ersten SPF-Katze, entnommen am 35. Tag nach deren Inokulation. Beide Tiere wurden täglich klinisch untersucht und es wurden regelmässig Blutproben entnommen.

Statistik

Die Korrelation zwischen «*Candidatus M. turicensis*» Bürde und Hämatokrit nach experimenteller Infektion wurde mittels Spearman-Rankkorrelationskoeffizient (S) beschrieben. Zur Identifikation von potentiell mit dem klinischen Krankheitsstatus oder dem Infektionsstatus assoziierten Faktoren wurden je nach Risikofaktor-Format der Chi²-Test (chi), der Mann-Whitney U-Test (MWU) oder der Kruskal-Wallis-ANOVA auf Rangfolgen (KW) eingesetzt. Für eine grobe geografische Analyse wurden die Katzen anhand der Postleitzahlen der Besitzeradresse 3 Regionen (Westschweiz, Tessin, Deutschschweiz) zugeordnet. Für den Vergleich der durch die 3 Haemoplasmen verursachten Erregerbürde wurde ebenfalls der KW-ANOVA sowie der Dunn's Post-Test (D) eingesetzt. Die statistischen Auswertungen erfolgten mittels Excel (Microsoft, Wallisellen), Analyse-it (Analyse-it Software, Leeds, Grossbritannien) und Prism

(GraphPad, San Diego, CA). Grenzwert für statistische Signifikanz war P = 0.05. Für die geografische Darstellung wurden die Haemoplasmen-infizierten und die nicht infizierten Katzen basierend auf der Postleitzahl der Besitzeradresse auf das Zentroid der entsprechenden Schweizer Gemeinde georeferenziert. Die Darstellung auf der Karte erfolgte mittels der GIS-Software MapInfo 4.0 (www.mapinfo.com).

Ergebnisse

Neue, dritte Haemoplasmen-Spezies

Zu Beginn der vorliegenden Prävalenzstudie fiel die Katze 946 besonders auf (Willi et al., 2005), da die aus dem Blut extrahierte DNA diskrepante PCR-Resultate mit 2 publizierten PCR-Methoden lieferte. Aus der Krankengeschichte dieses Tieres ging hervor, dass die Katze 4 Monate davor klinische Symptome gezeigt hatte, die mit einer Haemobartonellose vereinbar waren (Anorexie, blasser Schleimhäute, Dyspnoe). Die Laboruntersuchungen ergaben eine massive Anämie mit regenerativem Charakter, Leukozytose, Hyperbilirubinämie und Hämoglobinurie (Tab. 2).

Das 16S rRNA Gen des neuen Erregers («*Candidatus M. turicensis*») wurde sequenziert und eine grosse Ähnlichkeit mit den bei Nagern bekannten Erregern *Mycoplasma coccoides* (92%) und *Mycoplasma haemomuris* (90%) festgestellt (Abb. 1). Die Übertragung von Blut der Katze 946 führte zur Infektion, einer milden bis deutlichen Anämie (Hämatokrit 17% und 26%) und einer erhöhten osmotischen Fragilität der Erythrozyten in den 2 SPF-Katzen. Die Erregerbürde bei diesen Katzen war invers korreliert mit dem Hämatokrit der beiden Tiere (1: r_S = -0.79; P < 0.0001; 2: r_S = -0.65; P = 0.0002; Abb. 2).

Tabelle 2: Laborwerte der «*Candidatus Mycoplasma turicensis*»-infizierten Katze 946.

Parameter (Messeinheit)	Messwert	Referenzwerte	
		5% Quantile	95% Quantile
Hämatologie			
- Hämatokrit (%)	12 ¹	24	45
- Retikulozyten ² (×10 ⁹ /L)	202 ³	0	60
- Leukozyten (×10 ⁹ /L)	25.6 ¹ (34.4) ³	5	18.9
Klinische Chemie			
- Bilirubin (µmol/L)	34 ¹ (90) ³	0	15
Urin			
- Bilirubinurie	++ ³	-	-
- Hämoglobinurie	+++ ³	-	-

¹ Am Tag der Einlieferung mit hämolytischer Krise im Notfall bestimmt. ² Aggregierte Retikulozyten. ³ Vier Tage danach bestimmt.

Prävalenz und klinische Bedeutung der feline Haemoplasmen in der Schweiz

Mittels neu entwickelter real-time TaqMan PCR Methoden wurden alle 3 feline Haemoplasmen in der Schweizer Katzenpopulation nachgewiesen (Abb. 3; Tab. 1). Die höchste Prävalenz fand sich für *Candidatus M. haemominutum*; nur wenige Katzen waren *M. haemofelis* oder *Candidatus M. turicensis* positiv (Tab. 1). Mehrere *Candidatus M. haemominutum*-infizierte Katzen waren koinfiziert mit *M. haemofelis* oder *Candidatus M. turicensis*. Die Resultate wurden durch Sequenzieren bestätigt und der Vergleich der 16S rRNA Gensequenzen der Schweizer Isolate ergab einen hohen Verwandtschaftsgrad mit Isolaten aus anderen Ländern (Abb. 1).

Kranke Katzen waren nicht häufiger Haemoplasmen-positiv als gesunde Katzen. Auch fand sich keine Assoziation zwischen PCR-Positivität und dem Befund der Anämie. Dagegen waren männliche Katzen häufiger infiziert (15%) als weibliche (6%; $P_{\text{Chi}} < 0.0001$) und Katzen mit Auslauf ins Freie häufiger (13%) als Wohnungskatzen (6%; $P_{\text{Chi}} = 0.0104$).

Ausserdem waren infizierte Katzen im Schnitt älter (10 Jahre) als nicht infizierte (6 Jahre; $P_{\text{MWU}} < 0.0001$), und Katzen aus der Westschweiz und dem Tessin waren häufiger infiziert (17%) als diejenigen aus der Deutschschweiz (4%; Abb. 3). Ähnliche Assoziationen mit Alter, Geschlecht, Auslauf und Herkunft wurden auch gefunden, wenn *Candidatus M. haemominutum*- oder *M. haemofelis*-infizierte Katzen separat analysiert wurden.

Zwei der 71 mit *Candidatus M. haemominutum* infizierten Katzen zeigten einen Hämatokrit $< 15\%$ und Zeichen einer akuten intravaskulären Hämolyse. Beide Katzen hatten eine relativ hohe Erregerbürde von $\sim 10^6$ Haemoplasmen/ml Blut. Beide waren koinfiziert entweder mit *M. haemofelis* oder FeLV. Neun der 11 *M. haemofelis*-infizierten Katzen waren krank: 2 zeigten zum Zeitpunkt der Blutentnahme Zeichen einer Hämolyse mit einem Hämatokritwert von 12% und einer Erregerbürde von $\sim 10^6$ – 10^7 Haemoplasmen/ml Blut. Eines dieser Tiere war koinfiziert mit FIV. Drei Katzen hatten innerhalb von 2 Monaten vor der Blutentnahme Anzeichen

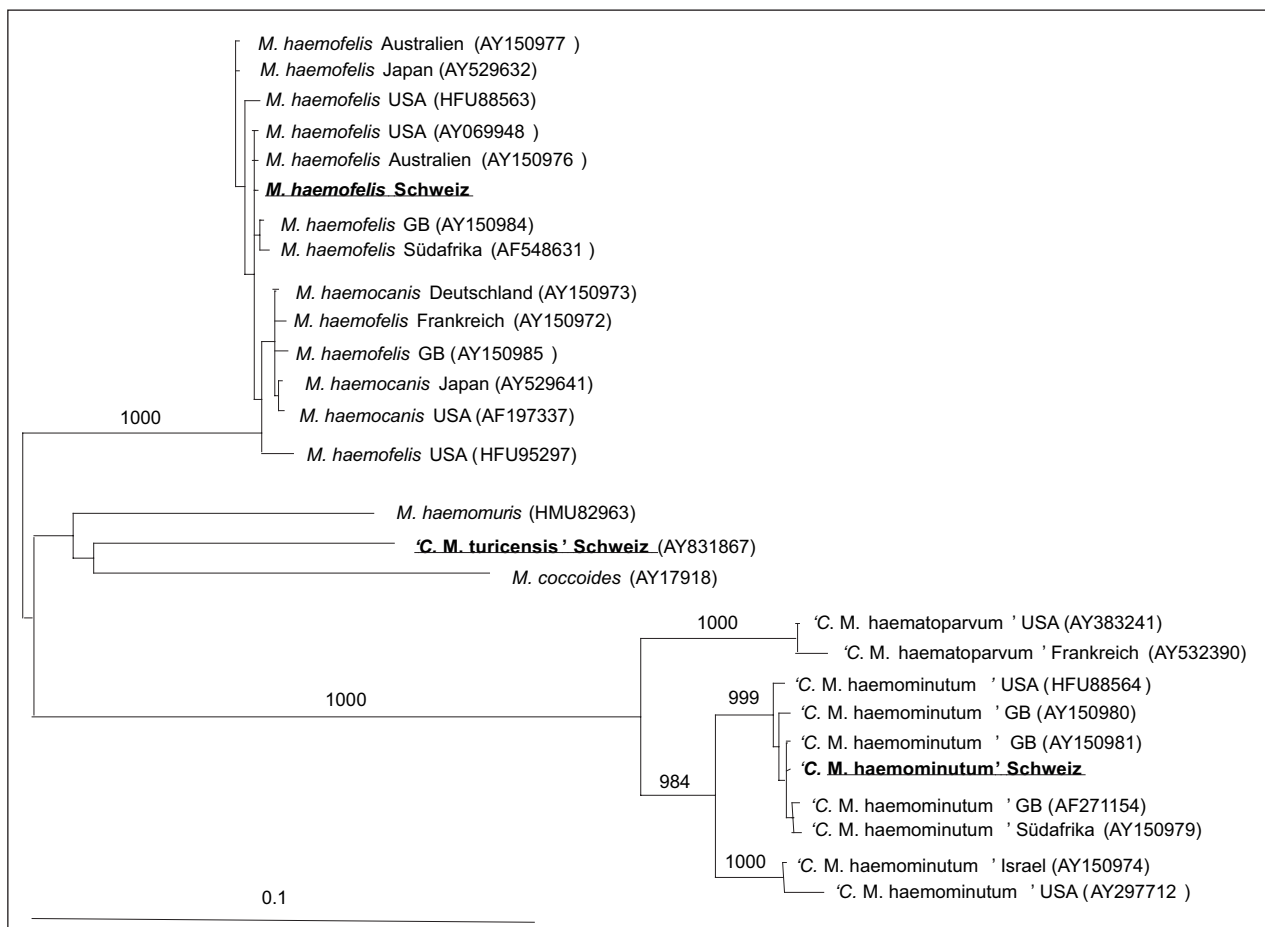


Abbildung 1: Phylogenetischer Baum der feline Haemoplasmen und nahen Verwandten. Die schweizerischen Isolate sind unterstrichen und fett gekennzeichnet. Es sind deutlich 3 Gruppen erkennbar: 1) *M. haemofelis* und *haemocanis*; 2) *Candidatus M. turicensis* und Mykoplasmen der Nager; und 3) *Candidatus M. haemominutum* und *Candidatus M. haematoparvum*. Die Länge der Äste entspricht dem phylogenetischen Abstand (Skala unten in der Abbildung angegeben). Die GenBank Zugangsnummern der benützten Sequenzen sind in Klammern angegeben. Die Sequenzen der schweizerischen Isolate von *Candidatus M. haemominutum* und *M. haemofelis* sind in der GenBank deponiert, jedoch aus urheberrechtlichen Gründen noch nicht veröffentlicht.

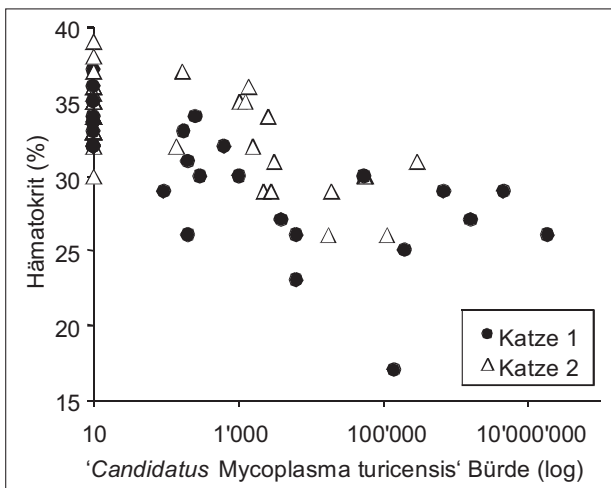


Abbildung 2: Assoziation zwischen der Erregerbürde (*Candidatus M. turicensis*) bestimmt mit quantitativer real-time PCR und dem Hämatokrit nach experimenteller Infektion von 2 SPF Katzen.

einer Hämolyse gezeigt. Diese Katzen hatten nach einer Doxycyclin-Prednisolon Behandlung einen Hämatokritwert von 25–30% und $\sim 10^5$ Haemoplasmen/ml Blut. Die höchste *M. haemofelis* Erregerbürde ($\sim 10^9$ Haemoplasmen/ml) fand sich bemerkenswerterweise bei 2 Tieren mit normalem Hämatokritwert ($\sim 35\%$).

Insgesamt wurden 9 *Candidatus M. turicensis*-infizierte Katzen identifiziert. Alle Tiere waren zum Zeitpunkt der Blutentnahme krank; 3 waren anämisch (Hämatokrit $< 33\%$). Das Tier mit dem tiefsten Hämatokrit ($< 17\%$) war koinfiziert mit FIV. Eine Katze hatte eine hämolytische Anämie durchlaufen (Katze 946, siehe oben). Die Erregerbürden von *Candidatus M. turicensis*-infizierten Katzen (5.0×10^2 Haemoplasmen/ml) waren tiefer als diejenigen der *Candidatus M. haemominutum*- (7.8×10^4 Haemoplasmen/ml; $P_{KW} = 0.0099$, $P_D < 0.05$) und *M. haemofelis*-infizierten Katzen (5.1×10^5 Haemoplasmen/ml; $P_{KW} = 0.0099$, $P_D < 0.01$).

Von einigen Katzen standen mehrere Blutproben für eine Verlaufsuntersuchung zur Verfügung. Bei der Analyse dieser Daten konnte unter anderem eine Katze identifiziert werden, welche durch eine Bluttransfusion mit *Candidatus M. haemominutum* infiziert worden war. Nach Antibiotikabehandlung von *Candidatus M. haemominutum*- ($n = 2$, Amoxicillin \pm Enrofloxacin) und *Candidatus M. turicensis*-infizierten Katzen ($n = 1$, Doxycyclin), nicht aber *M. haemofelis*-infizierten Tieren, konnte eine Elimination des Erregers aus dem Blut aufgezeigt werden. Nicht alle Antibiotikabehandlungen führten zur Erregerelimination. Ausserdem wurde bei einer *Candi-*

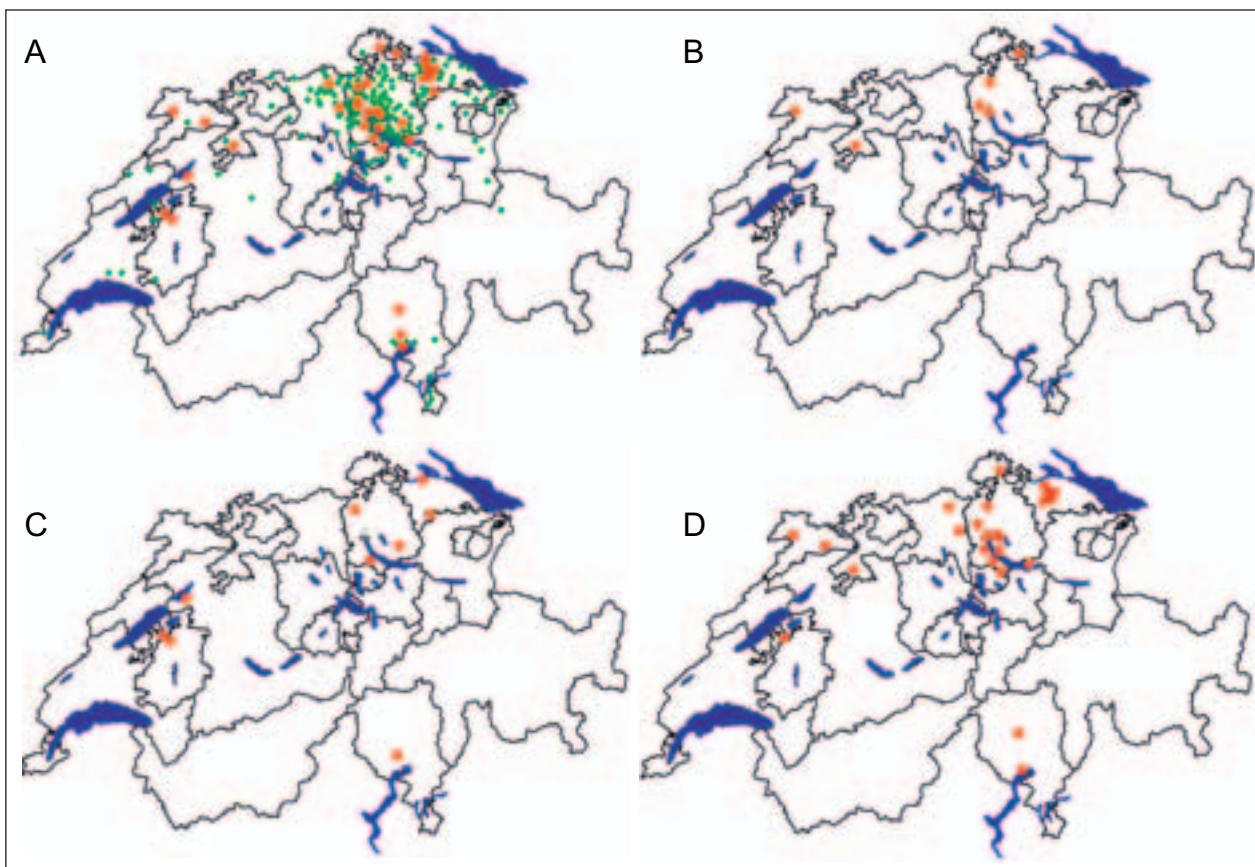


Abbildung 3: Herkunft der untersuchten Blutproben und PCR Resultate: rot = positive Proben; grün = negative Proben. A) Alle Haemoplasmen; B) *Candidatus M. turicensis*; C) *M. haemofelis*; D) *Candidatus M. haemominutum*. Die eingesandten Proben sind nicht repräsentativ für die Schweizer Katzenpopulation.

datum *M. haemominutum* Infektion eine Elimination des Erregers aus dem Blut ohne Antibiotikatherapie beobachtet ($n = 1$). Nur bei *M. haemofelis*-infizierten Katzen konnten erhebliche Schwankungen der Haemoplasmenbürde festgestellt werden.

Diskussion

In einer Katze aus der Region Zürich haben wir eine bisher unbekannt feline haemotrope *Mykoplasmen* Spezies entdeckt (Willi et al., 2005). Die Katze hatte 4 Monate zuvor Anzeichen einer hochgradigen intravaskulären Hämolyse gezeigt. Der neue Erreger *Candidatus M. turicensis* induzierte ebenfalls eine Anämie nach Übertragung auf 2 SPF-Katzen. Eine phylogenetische Analyse des Erregers (16S rRNA Gen) ergab überraschenderweise eine enge Verwandtschaft mit *M. coccoides*, welcher bei Nagern zu einer hämolytischen Anämie führt (Cox und Calaf-Iturri, 1976; Iralu und Ganong, 1983). Da die Katze, in welcher der Erreger erstmals nachgewiesen wurde, Auslauf ins Freie hatte und ein guter Mäusejäger war, könnte eine interspezies-Übertragung vermutet werden. Allerdings konnten wir bisher den Erreger nicht in wildlebenden Mäusen nachweisen.

Mittels im Veterinärmedizinischen Labor entwickelter real-time PCR Methoden wurde dieser neue Erreger und die 2 bis anhin bekannten feline haemotropen *Mykoplasmen* bei Schweizer Hauskatzen nachgewiesen. Wie in anderen Ländern war der wohl wenig pathogene Erreger *Candidatus M. haemominutum* am häufigsten anzutreffen, während *M. haemofelis* und auch *Candidatus M. turicensis* deutlich seltener waren. Die in der Schweiz vorkommenden Haemoplasmen ähneln in ihrer Sequenz (16S rRNA Gen) stark den bereits bekannten Isolaten aus anderen Ländern. Insbesondere die durch die PCR erkannten Sequenzabschnitte waren bei allen analysierten Schweizer Isolaten einer Spezies identisch, so dass zu erwarten ist, dass die neuen real-time PCR Methoden alle Haemoplasmen-infizierten Schweizer Katzen erkennen können. Grundsätzlich sind die feline Haemoplasmen-Infektionen in der Schweiz aber weniger verbreitet als in anderen Ländern. Innerhalb der Schweiz wurden Infektionen häufiger in der Westschweiz und im Tessin nachgewiesen. Dies sind Regionen, welche sich durch eine höhere mittlere Jahrestemperatur und das Vorkommen von bestimmten Arthropoden wie *Rhipicephalus sanguineus* und *Dermacentor reticulatus* auszeichnen (Aeschlimann et al., 1965; Aeschlimann et al., 1986; Bernasconi et al., 1996). Die indirekte Übertragung von Haemoplasmen durch blutsaugende Arthropoden wie Flöhe und Zecken wird vermutet (Woods et al., 2005). Das vermehrte Auftreten von Haemoplasmen-Infektio-

nen in Katzen mit Freilauf deutet auf einen solchen Übertragungsweg hin. Ein vermehrtes Vorkommen der Infektion bei männlichen Tieren hingegen spräche auch für eine direkte Übertragung von Haemoplasmen, da männliche Tiere häufiger in territoriale Auseinandersetzungen verwickelt sind. Ein Hinweis auf eine direkte Übertragung liefert auch die Tatsache, dass infizierte Katzen Haemoplasmen im Speichel ausscheiden können.

Zur Diagnose einer Haemoplasmen-Infektion sind die hier beschriebenen real-time PCR Methoden zu empfehlen, zumal sie alle Schweizer Isolate erfassen sollten. Sie sind viel empfindlicher als der mikroskopische Nachweis auf dem Blutausschlag und können zwischen den 3 Haemoplasmen-Spezies differenzieren. Dabei ist unbedingt zu beachten, dass bei Verdacht die Blutprobe vor Einleiten einer antibiotischen Therapie entnommen wird, da sonst falsch negative Resultate auftreten können. Ist dies nicht möglich oder soll eine Probe zur Kontrolle der Therapie entnommen werden, sollte dies frühestens 1 Woche nach Absetzen der Antibiotika durchgeführt werden.

Das pathogene Potential der 3 Haemoplasmen-Spezies scheint unterschiedlich hoch zu sein. Vor allem bei *Candidatus M. haemominutum* und *Candidatus M. turicensis* Infektionen scheinen Kofaktoren wie Immunsuppression, Retrovirusinfektionen oder andere noch nicht erkannte Faktoren eine wichtige Rolle zu spielen. Bei *M. haemofelis* Infektionen haben wir Hinweise darauf, dass vor allem eine akute Infektion zu einer hämolytischen Anämie führt, während chronische Träger selbst bei hoher Erregerbürde keine Symptome zeigen.

Die Mittel der Wahl zur Behandlung einer akuten Haemoplasmen-Infektion sind Doxycyclin (Doxycyclin: 5–10 mg/kg 1× täglich, oder 5 mg/kg 2× täglich) oder Enrofloxacin (nicht >5mg/kg 1× täglich) (Dowers et al., 2002; Tasker et al., 2004b). Katzen mit einer nachgewiesenen *M. haemofelis* Infektion und klinischen Symptomen (Anämie, Hämolyse, ev. Ikterus) sollten therapiert werden. Bei *M. haemofelis*-infizierten Katzen ohne klinische Symptome handelt es sich wahrscheinlich um asymptomatische Trägertiere. Da bisher keine Elimination von *M. haemofelis* aus dem Blut nach Antibiotika-Therapie beobachtet und eine deutliche Reduktion der Erregerbürde im Blut nicht mit Sicherheit nachgewiesen werden konnten, ist eine Therapie nicht in jedem Fall indiziert. Die Katze sollte jedoch beobachtet und bei den ersten Anzeichen einer Anämie und Hämolyse antibiotisch therapiert werden. Da die *M. haemofelis* Erregerbürde im Blut infizierter Katzen sehr stark schwanken kann, schliesst ein negatives PCR-Resultat eine Infektion nicht mit Sicherheit aus. Insbeson-

dere bei starkem klinischem Verdacht sollte daher mehrfach getestet oder aufgrund der Verdachtsdiagnose antibiotisch therapiert werden.

Katzen, welche PCR-positiv für «*Candidatus M. haemominutum*» oder «*Candidatus M. turicensis*» testen und klinische Symptome vereinbar mit einer Haemoplasmen-Infektion aufweisen, sollten nach Ausschluss anderer Ursachen hämolytischer Anämien antibiotisch therapiert werden. Bei «*Candidatus M. haemominutum*» PCR-positiven Katzen ohne klinische Symptome wird eine Therapie ebenfalls empfohlen, da eine deutliche Reduktion der Erregerbürde und in einzelnen Fällen eine Elimination des Erregers aus dem Blut nach Antibiotika-Therapie beobachtet wurde. Auch bei klinisch asymptomatischen «*Candidatus M. turicensis*»-positiven Katzen wird eine Therapie empfohlen, da eine Elimination dieses Erregers aus dem Blut bei mehreren Katzen nach Doxycyclin Therapie beobachtet wurde. Damit kann einer möglichen Ansteckungsgefahr anderer Katzen vorgebeugt werden.

Ein spezielles Augenmerk ist auf die Kontrolle von Blutkonserven für Transfusionen zu richten. Die Empfänger von Bluttransfusionen weisen oft bereits einen sehr schlechten Allgemeinzustand auf. Eine zusätzliche Infektion mit feline Haemoplasmen kann zu einer lebensbedrohlichen Situation führen. Es wird daher empfohlen, Blutspender vor Entnahme der Blutkonserve mittels real-time PCR auf die 3 Haemoplasmen-Spezies hin zu untersuchen.

Dank

Wir danken den Tierärzten, die uns Proben eingeschickt haben für deren Mithilfe. Ausserdem möchten wir uns bei Prof. M. M. Wittenbrink, Dr. B. Wenger, C. Robert und Dr. B. Riond für die exzellente Unterstützung bedanken. Die Arbeiten wurden teils im Zentrum für klinische Studien der Vetsuisse-Fakultät Zürich durchgeführt. Die Studie wurde finanziell unterstützt durch den SNF (PP00B-102866 an RHL), einen Forschungskredit der Universität Zürich und Merial GmbH, Deutschland.

Hémoplasmose en Suisse: identification d'une nouvelle espèce, diagnostique, prévalence et signification clinique

Outre les deux espèces de mycoplasmes hémotropes félins (aussi appelés hémoplasmes) déjà connues, nous avons récemment découvert, chez un chat atteint d'anémie hémolytique, une troisième espèce apparentée aux hémoplasmes des rongeurs. Transmis à deux chats SPF, ce nouvel agent a également provoqué une anémie. Le développement de trois nouvelles méthodes de real-time PCR a permis une étude épidémiologique de la population féline suisse par l'analyse de 713 échantillons sanguins. Jusqu'à 104 paramètres par chat ont été évalués (questionnaires détaillés, anamnèses, valeurs de laboratoires et infections par des rétrovirus). Les résultats indiquent une fréquence plus élevée de «*Candidatus Mycoplasma haemominutum*» (8.5%) que de *Mycoplasma haemofelis* (0.5%) et que du nouvel agent «*Candidatus Mycoplasma turicensis*» (1%). Les infections à hémoplasmes sont associées au sexe masculin, à l'accès à l'extérieur, et à un âge avancé, mais ne présentent aucun lien avec des anémies ou avec d'autres maladies félines. Le sud et l'ouest de la Suisse sont plus touchés par ces infections. Plusieurs chats infectés par des hémoplasmes, souffrant simultanément d'une infection aiguë ou rétrovirale, présentaient des signes d'anémie hémolytique, ce qui indique que d'autres facteurs influencent probablement la pathogénèse.

Emoplasmi nei felini in Svizzera: identificazione di una terza specie, diagnosi, prevalenza e significato clinico

A fianco delle due specie di micoplasmi emotropici felini già conosciute abbiamo scoperto da poco in un gatto con anemia emolitica una terza specie che è imparentata strettamente con gli emoplasmi dei roditori. La trasmissione del nuovo agente patogeno a 2 gatti SPF ha portato ad anemia. Con l'aiuto di tre nuovi metodi per la quantificazione che utilizzano la tecnica real-time TaqMan PCR è stato effettuato uno studio epidemiologico con l'analisi di 713 campioni di sangue nella popolazione svizzera di gatti. Sono stati valutati fino a 104 parametri per gatto (questionario dettagliato, anamnesi, parametri di laboratorio e infezioni da retrovirus). Il «*Candidatus Mycoplasma haemominutum*» si è riscontrato più di sovente (8.5%) del *Mycoplasma haemofelis* (0.5%) e del nuovo agente patogeno «*Candidatus Mycoplasma turicensis*» (1%). Le infezioni da emoplasmi sono associate al sesso maschile, alla tenuta in libertà e all'età avanzata, ma non a malattie o ad anemie, e vengono riscontrate più frequentemente nella Svizzera meridionale ed occidentale. Una possibile partecipazione di fattori supplementari alla patogenesi delle infezioni da emoplasmi è indicata dal fatto che un'anemia emolitica è riscontrabile in una parte dei gatti analizzati, di solito in concomitanza con un'infezione acuta o con un'infezione d'origine retrovirale (FIV, FeLV).

Literatur

- Aeschlimann A., Büttiker W., Elbl A., Hoogstraal H.: A propos des tiques de Suisse (Arachnoidea, Acarina, Ixodoidea). Rev. Suisse Zool. 1965, 72.
- Aeschlimann A., Schneeberger S., Pfister K., Burgdorfer W., Cotty A.: Données nouvelles sur les tiques ixodides du canton du Tessin (Suisse) et sur la présence d'agents rickettsiens dans leur hémolymphe. Ann. Soc. Helv. Sci. Nat. 1986, 1.
- Alleman A.R., Pate M.G., Harvey J.W., Gaskin J.M., Barbet A.F.: Western immunoblot analysis of the antigens of Haemobartonella felis with sera from experimentally infected cats. J. Clin. Microbiol. 1999, 37: 1474–1479.
- Berent L.M., Messick J.B., Cooper S.K.: Detection of Haemobartonella felis in cats with experimentally induced acute and chronic infections, using a polymerase chain reaction assay. Am. J. Vet. Res. 1998, 59: 1215–1220.
- Berent L.M., Messick J.B., Cooper S.K., Cusick P.K.: Specific in situ hybridization of Haemobartonella felis with a DNA probe and tyramide signal amplification. Vet. Pathol. 2000, 37: 47–53.
- Bernasconi M.V., Valsangiacomo C., Balmelli T., Péter O., Piffaretti J.C.: Zoonosi da zecche nel canton Ticino: aspetti faunistici ed epidemiologici. Boll. Soc. Tic. Sci. Nat. 1996, 84.
- Cox H.W., Calaf-Iturri G.: Autoimmune factors associated with anaemia in acute Haemobartonella and Eperythrozoon infections of rodents. Ann. Trop. Med. Parasitol. 1976, 70: 73–79.
- Criado-Fornelio A., Martinez-Marcos A., Buling-Sarana A., Barba-Carretero J.C.: Presence of Mycoplasma haemofelis, Mycoplasma haemominutum and piroplasmids in cats from southern Europe: a molecular study. Vet. Microbiol. 2003, 93: 307–317.
- Dowers K.L., Olver C., Radecki S.V., Lappin M.R.: Use of enrofloxacin for treatment of large-form Haemobartonella felis in experimentally infected cats. J. Am. Vet. Med. Assoc. 2002, 221: 250–253.
- Flint J.C., Roepke M.H., Jensen R.: Feline infectious anaemia. I. Clinical aspects. Am. J. Vet. Res. 1958, 19: 164–168.
- Foley J.E., Harrus S., Poland A., Chomel B., Pedersen N.C.: Molecular, clinical, and pathologic comparison of two distinct strains of Haemobartonella felis in domestic cats. Am. J. Vet. Res. 1998, 59: 1581–1588.
- Foley J.E., Pedersen N.C.: *Candidatus Mycoplasma haemominutum*, a low-virulence eperythrozytic parasite of cats. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 2001, 51: 815–817.
- Iralu V., Ganong K.D.: Agglutination of mouse erythrocytes by Eperythrozoon coccoides. Infect. Immun. 1983, 39: 963–965.
- Jensen W.A., Lappin M.R., Kamkar S., Reagan W.J.: Use of a polymerase chain reaction assay to detect and differentiate two strains of Haemobartonella felis in naturally infected cats. Am. J. Vet. Res. 2001, 62: 604–608.
- Lobetti R.G., Tasker S.: Diagnosis of feline haemoplasma infection using a real-time PCR assay. J. S. Afr. Vet. Assoc. 2004, 75: 94–99.
- Luria B.J., Levy J.K., Lappin M.R., Breitschwerdt E.B., Legendre A.M., Hernandez J.A., Gorman S.P., Lee I.T.: Prevalence of infectious diseases in feral cats in Northern Florida. J. Feline Med. Surg. 2004, 6: 287–296.
- Neimark H., Johansson K.E., Rikihisa Y., Tully J.G.: Proposal to transfer some members of the genera Haemobartonella and Eperythrozoon to the genus Mycoplasma with descriptions of *Candidatus Mycoplasma haemofelis*, *Candidatus Mycoplasma haemomuris*, *Candidatus Mycoplasma haemosuis* and *Candidatus Mycoplasma wenyonii*. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 2001, 51: 891–899.
- Neimark H., Johansson K.E., Rikihisa Y., Tully J.G.: Revision of haemotrophic Mycoplasma species names. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 2002, 52: 683.
- Tasker S., Braddock J.A., Baral R., Helps C.R., Day M.J., Gruffydd-Jones T.J., Malik R.: Diagnosis of feline haemoplasma infection in Australian cats using a real-time PCR assay. J. Feline Med. Surg. 2004a, 6: 345–354.
- Tasker S., Helps C.R., Belford C.J., Birtles R.J., Day M.J., Sparkes A.H., Gruffydd-Jones T.J., Harbour D.A.: 16S rDNA comparison demonstrates near identity between an United Kingdom Haemobartonella felis strain and the American California strain. Vet. Microbiol. 2001, 81: 73–78.
- Tasker S., Helps C.R., Day M.J., Gruffydd-Jones T.J., Harbour D.A.: Use of real-time PCR to detect and quantify Mycoplasma haemofelis and *Candidatus Mycoplasma haemominutum* DNA. J. Clin. Microbiol. 2003a, 41: 439–441.
- Tasker S., Helps C.R., Day M.J., Harbour D.A., Gruffydd-Jones T.J., Lappin M.R.: Use of a Taqman PCR to determine the response of Mycoplasma haemofelis infection to antibiotic treatment. J. Microbiol. Methods 2004b, 56: 63–71.
- Tasker S., Helps C.R., Day M.J., Harbour D.A., Shaw S.E., Harrus S., Baneth G., Lobetti R.G., Malik R., Beaufilet J.P., Belford C.R., Gruffydd-Jones T.J.: Phylogenetic analysis of hemoplasma species: an international study. J. Clin. Microbiol. 2003b, 41: 3877–3880.
- Tasker S., Lappin M.R.: Haemobartonella felis: recent developments in diagnosis and treatment. J. Feline Med. Surg. 2002, 4: 3–11.
- VanSteenhouse J.L., Taboada J., Dorfman M.I.: Hemobartonella felis infection with atypical hematological abnormalities. J. Am. Anim. Hosp. Assoc. 1995, 31: 165–169.
- Watanabe M., Hisasue M., Hashizaki K., Furuichi M., Ogata M., Hisamatsu S., Ogi E., Hasegawa M., Tsuchiya R., Yamada T.: Molecular detection and characterization of Haemobartonella felis in domestic cats in Japan employing sequence-specific polymerase chain reaction (SS-PCR). J. Vet. Med. Sci. 2003, 65: 1111–1114.
- Westfall D.S., Jensen W.A., Reagan W.J., Radecki S.V., Lappin M.R.: Inoculation of two genotypes of Hemobartonella felis (California and Ohio variants) to induce infection in cats and the response to treatment with azithromycin. Am. J. Vet. Res. 2001, 62: 687–691.

Willi B., Boretti F.S., Cattori V., Tasker S., Meli M.L., Reusch C., Lutz H., Hofmann-Lehmann R.: Identification, molecular characterization, and experimental transmission of a new hemoplasma isolate from a cat with hemolytic anemia in Switzerland. *J. Clin. Microbiol.* 2005, 43:2581–2585.

Woods J.E., Brewer M.M., Hawley J.R., Wisniewski N., Lappin M.R.: Evaluation of experimental transmission of *Candidatus Mycoplasma haemominutum* and *Mycoplasma haemofelis* by *Ctenocephalides felis* to cats. *Am. J. Vet. Res.* 2005, 66: 1008–1012.

Korrespondenzadresse

Barbara Willi, Veterinärmedizinisches Labor, Vetsuisse-Fakultät, Universität Zürich, Winterthurerstrasse 260, 8057 Zürich. Tel. 044 635 86 94. Fax: 044 635 89 23. E-Mail: bwilli@vetclinics.unizh.ch

Manuskripteingang: 10. November 2005

Angenommen: 27. Dezember 2005