

DETECÇÃO MOLECULAR DE *Anaplasma platys* EM FELINOS COM MICOPLASMOSE HEMOTRÓPICA

PAOLA RENATA JOANOL DALLMANN¹; DIAGO DUTRA LIMA² VICTÓRIA DA
ROSA LEITE SILVA³; TAISE ISQUIERDO VENCATO⁴; KAUE RODRIGUEZ
MARTINS⁵; RODRIGO CASQUERO CUNHA⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – dallmannpaola@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – diagolima@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – victoria.leite2004@gmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas – taisevencato@gmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas – kauerodriguez@gmail.com

⁶Universidade Federal de Pelotas – rodrigo.cunha@ufpel.edu.br

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, a popularidade dos felinos como animais de estimação tem crescido de forma exponencial, impulsionada por sua adaptabilidade e comportamento que se alinham às dinâmicas da vida moderna. Conseqüentemente, tem levado os tutores a uma maior conscientização sobre a saúde e as enfermidades que podem afetar seus animais (CLANCY et al., 2003; PINTO et al., 2018).

Nesse contexto, um grupo particularmente relevante é o dos micoplasmas hemotrópicos. Essas bactérias pleomórficas são capazes de se aderir à superfície dos eritrócitos, resultando em anemia hemolítica com gravidade variável, desde quadros subclínicos até condições severas. Nos felinos, três espécies principais são reconhecidas: *Mycoplasma haemofelis* (*Mhf*), '*Candidatus Mycoplasma haemominutum*' (*CMhm*) e '*Candidatus Mycoplasma turicensis*' (*CMT*) (SYKES, 2010; TASKER, 2010). A gravidade da infecção pode ser exacerbada em animais imunossuprimidos ou coinfectados, além da presença de outras hemoparasitoses, ressalta a importância de diagnóstico, intervenções terapêuticas e profiláticas adequadas (TANAHARA et al., 2010).

Paralelamente, a infecção por *Anaplasma platys*, embora classicamente descrita em cães, vem ganhando relevância na medicina felina. São bactérias gram-negativa, intracelulares obrigatórias que parasitam as plaquetas do hospedeiro. Nos felinos, os sinais clínicos são inespecíficos, como febre, letargia, anorexia e desidratação, além de alterações hematológicas como trombocitopenia e anemia. A baixa prevalência aparente e a natureza subclínica em muitos casos felinos dificultam o diagnóstico e subestimam o impacto dessa enfermidade (ZOBBA et al., 2015; PINTO et al., 2018; GUIMARÃES et al., 2019; ANDRÉ et al., 2022).

Tanto as infecções por micoplasmas hemotrópicos quanto por *A. platys* representam desafios significativos para a saúde felina, destacando a necessidade de uma abordagem preventiva e de mais pesquisas que aprimorem o diagnóstico, tratamento e controle dessas infecções (QUROLLO et al., 2014; PEDRASSANI et al., 2019). O presente estudo teve como objetivo a detecção de *Anaplasma platys* em amostras sanguíneas de felinos previamente positivas para o gênero *Mycoplasma*, utilizando ensaios de reação em cadeia da polimerase (PCR) baseados na amplificação do rDNA 16S, visando contribuir para o entendimento da coinfeção e seus impactos na saúde felina.

2. METODOLOGIA

Amostragem

Foram selecionadas 60 amostras de sangue de felinos que já haviam sido previamente confirmadas como positivas para pelo menos uma espécie de *Mycoplasma* (*Mhf* e *CMhm*), por meio da PCR para a identificação de hemoplasmas. As amostras foram obtidas de um total de 364 amostras coletadas entre 2022 e 2024, de felinos atendidos rotineiramente em uma clínica veterinária localizada na cidade de Pelotas, Rio Grande do Sul.

Além disso, foram coletados dados clínicos, incluindo a presença de infecções por FIV (vírus da imunodeficiência felina) e FeLV (vírus da leucemia felina), assim como informações sobre outras enfermidades concomitantes. Todas as amostras foram analisadas e processadas no Laboratório de Biologia Molecular Veterinária (LaBMol-Vet) da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL).

Extração e quantificação de DNA

As amostras foram submetidas à extração de DNA genômico (gDNA) total utilizando o método por coluna PetNAD™ Nucleic Acid Co-prep Kit, seguindo as orientações do fabricante. Em seguida, para a análise de pureza e concentração do DNA extraído das amostras foi utilizado o espectrofotômetro de luz UV, NanoDrop® (Thermo Fisher Scientific, Waltham Massachusetts, USA).

Identificação de *Anaplasma platys* por PCR

Com o intuito de detectar DNA de *Anaplasma platys*, foi realizada PCR convencional, com primers direcionados ao 16S rDNA. Os primers senso Platys (5'-GAT-TTT-TGT-CGT-AGC-TTG-CTA-TG-3') e anti-senso EHR16SR (5'-TAG-CAC-TCA-TCG-TTT-ACA-GC-3') produzem amplicons de 678 pb. As temperaturas de amplificação foram de acordo com o descrito por INOKUMA et al. (2000).

Os produtos obtidos da PCR foram analisados por eletroforese em gel de agarose a 1,5%, corado com brometo de etídio. A visualização dos fragmentos amplificados foi realizada sob luz UV, por meio de um transiluminador. Para determinar o tamanho dos produtos amplificados, foi utilizada uma escala de 100 pb DNA Ladder (Invitrogen®, Life Technologies, Carlsbad, CA, USA). Para cada rodada de reações, foi incluído água ultrapura como controle negativo, além de um controle positivo.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 60 felinos diagnosticados com micoplasmose hemotrópica, 10% (6/60) apresentaram coinfeção por *Anaplasma platys*. Dentre esses, três animais estavam infectados pela espécie *CMhm*, enquanto os outros três apresentaram *Mhf*. É importante destacar, conforme mostrado na Tabela 1, a presença de outras enfermidades, incluindo três felinos positivos para o vírus da leucemia felina (FeLV) e um animal positivo para o vírus da imunodeficiência felina (FIV).

Além disso, em um paciente foi identificado cinco patógenos diferentes, no qual incluíram bactérias (*Mycoplasma*, *Anaplasma platys*), vírus (FeLV, FIV) e protozoários (*Giardia*).

Tabela 1. Coinfecções e outras enfermidades dos felinos positivos para *A. platys*

Felinos positivos <i>A. platys</i>	CMhm	Mhf	FeLV	FIV	Outras enfermidades
1	+				Doença articular degenerativa
2		+			Cistite e intoxicação
3		+	+		Isosporose
4	+		+	+	Giardíase
5		+	+		
6	+				

Abreviaturas: CMhm= '*Candidatus Mycoplasma haemominutum*', Mhf= *Mycoplasma haemofelis* FIV= vírus da imunodeficiência felina, FeLV= vírus da leucemia felina, + = positivo (detectado).

Os resultados obtidos no presente estudo revelam que 10% dos felinos portadores de *Mycoplasma* estavam infectados por *Anaplasma platys*, uma taxa inferior à de outras pesquisas. No levantamento retrospectivo de fichas de gatos no Hospital Veterinário Mário Dias Teixeira (HOVET), da Universidade Federal Rural da Amazônia, foi encontrado 36% (9/25) das amostras positivas para *A. platys* por PCR. Este levantamento também identificou três coinfecções, incluindo *A. platys* e *Mycoplasma* spp. (ALMEIDA et al., 2022). Em uma pesquisa realizada em Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro, *A. platys* foi encontrado em 13,18% (12/91) dos felinos por meio de PCR, já, ao avaliar as mesmas amostras pela técnica de esfregaço sanguíneo, em apenas uma amostra foi observada a presença de corpúsculos de inclusão nas plaquetas (CORREA et al., 2011). Além disso, em Pelotas, RS, um relato de caso documentou a anaplasmose em um felino doméstico (*Felis catus*), diagnosticada por esfregaço sanguíneo, onde foram observadas estruturas compatíveis com mórulas em plaquetas (FERRAZ et al., 2022). Diante disso, esses resultados enfatizam a importância das abordagens moleculares no diagnóstico, visto que estas técnicas oferecem sensibilidades e especificidades superiores na detecção de agentes (GOTTLIEB et al., 2016).

Ademais, os resultados apresentados são parciais, uma vez que todas as 364 amostras serão submetidas à PCR e outros métodos moleculares para detecção e identificação dos seguintes agentes: *Bartonella henselae*, *Anaplasma phagocytophilum*, *Cytauxzoon felis*, *Hepatozoon* spp., *Babesia* spp., *Ehrlichia* spp., além das amostras restantes para *Anaplasma platys*.

4. CONCLUSÕES

O presente estudo demonstra a presença de *A. platys*, além de coinfecções com *Mycoplasma* spp., na população de felinos estudada. A pesquisa enfatiza a necessidade de protocolos diagnósticos que integrem múltiplos agentes, visando tratamentos mais assertivos, direcionados e eficazes.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, J.C.F.; SOUZA, C.C.N.; BARROZO, P.H.M.; SANTOS, C.S.B. et al. Aspectos epidemiológicos da infecção por *Ehrlichia* spp., *Anaplasma platys* e

Mycoplasma spp. em felinos domésticos. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 29 n. 1, p. 36-40, 2022.

ANDRÉ, M.R.; CALCHI, A.C.; FURQUIM, M.E.C.; ANDRADE, I. et al. Molecular Detection of Tick-Borne Agents in Cats from Southeastern and Northern Brazil, **Pathogens**, n. 1, v.11, p. 106, 2022.

CLANCY, E.A.; MOORE, A.S.; BERTONE, E.R. Evaluation of cat and owner characteristics and their relationships to outdoor access of owned cats. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 222, p.1541–1545, 2003.

CORREA, E.S.; PALUDO, G.R.; SCALON, M.C.; MACHADO, J.A et al. Investigação molecular de *Ehrlichia* spp. e *Anaplasma platys* em felinos dom sticos: altera es clínicas, hematol gicas e bioqu micas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, n.10, v. 31, p. 899–909, 2011.

FERRAZ, A.; SAPIN, C.F.; ONGARATTOA, R.F.; CAPELLA, G.A. et al. Anaplasmosis in Domestic Feline (*Felis catus*) on South of Brazil: a Case Report. **Ensaio e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde**, v. 26, n. 4, p. 398–401, 2022.

GOTTLIEB, J.; ANDRÉ, M.R.; SOARES, J.F.; GONÇALVES, L.R., et al. *Rangelia vitalii*, *Babesia* spp. and *Ehrlichia* spp. in dogs in Passo Fundo, state of Rio Grande do Sul, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.25, n.2, p.172-178, 2016.

GUIMARÃES, A.; RAIMUNDO, J.M; PEIXOTO, M.P.; DA SILVA, C.B. et al. Molecular detection, characterization of *Anaplasma* spp. in domestic cats from Rio de Janeiro state. **Acta Tropica**, v. 91, p. 239-242, 2019.

INOKUMA, H.; OHNO, K.; ONISHI, T.; RAOULT, D., et al. Detection of ehrlichial infection by PCR in dogs from Yamaguchi and Okinawa Prefectures, Japan. **Journal of Veterinary Medical Science**, v.63, n.7, p.815-7, 2000.

PEDRASSANI, D.; BIOLCHI, J.; GONÇALVES, L.R.; MENDES, N.S. et al. Molecular detection of vector-borne agents in cats in Southern Brazil. **Revista Brasileira De Parasitologia Veterinária**, n.4, v.28, p. 632–643, 2019.

PINTO, A.B.T.; PALUDO. G.R.; GAZ TA, G.S.; JARDIM, M.P.B. et al. Anaplasmataceae em gatos (*Felis catus*) no município de Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 38, n. 6, p.1137–1150, 2018.

QUROLLO, B.A.; BALAKRISHNAN, N.; CANNON, C.Z.; MAGGI, R.G.; et al. Co-infection with *Anaplasma platys*, *Bartonella henselae*, *Bartonella koehlerae* and ‘*Candidatus Mycoplasma haemominutum*’ in a cat diagnosed with splenic plasmacytosis and multiple myeloma. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v.16, p. 713-720, 2014.

SYKES, J.E. Feline hemotropic micoplasmas. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, v. 20, n.1, p. 62–69, 2010.

TANAHARA, M.; MIYAMOTO, S.; NISHIOT, T.; YOSHII, Y. et al. An epidemiological survey of feline hemoplasma infection in Japan. **Journal of Veterinary Science**, v. 72, n. 12, p. 1575-1581, 2010.

ZOBBA, R.; ANFOSSI, A.G.; VISCO, S. et al. Cell tropism and molecular epidemiology of *Anaplasma platys*-like strains in cats. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v.6, p. 272–280, 2015.