

## COINFECÇÕES POR *Anaplasma platys*, *Bartonella henselae* E MICOPLASMAS HEMOTRÓPICOS EM FELINOS DOMÉSTICOS DE PELOTAS, RIO GRANDE DO SUL, BRASIL

PAOLA RENATA JOANOL DALLMANN<sup>1</sup>; DIAGO DUTRA LIMA<sup>2</sup>; CAMILA XAVIER SILVEIRA<sup>3</sup>; VICTÓRIA DA ROSA LEITE SILVA<sup>4</sup>; PEDRO MACHADO MEDEIROS DE ALBUQUERQUE<sup>5</sup>; RODRIGO CASQUERO CUNHA<sup>6</sup>

<sup>1</sup>*Universidade Federal de Pelotas – dallmannpaola@gmail.com*

<sup>2</sup>*Universidade Federal de Pelotas – diagolima@gmail.com*

<sup>3</sup>*Universidade Federal de Pelotas – camilaxavier.vet@gmail.com*

<sup>4</sup>*Universidade Federal de Pelotas – victoria.leite2004@gmail.com*

<sup>5</sup>*Universidade Federal de Pelotas – albuquerque95pedro@gmail.com*

<sup>6</sup>*Universidade Federal de Pelotas – rodrigo.cunha@ufpel.edu.br*

### 1. INTRODUÇÃO

As coinfecções por patógenos bacterianos transmitidos por vetores representam um crescente desafio na clínica de felinos, com importantes aplicações para a saúde única devido ao potencial zoonótico envolvido. Micoplasmas hemotrópicos, como *Mycoplasma haemofelis* (*Mhf*) e ‘*Candidatus Mycoplasma haemominutum* (*CMhm*)’ são agentes amplamente distribuídos, capazes de causar anemia hemolítica de gravidade variável, especialmente em felinos imunossuprimidos (SYKES, 2010; TASKER, 2010).

*Anaplasma platys*, agente etiológico da trombocitopenia cíclica infecciosa canina, tem o cão como hospedeiro primário. Entretanto, relatos de detecção molecular em felinos têm se tornado mais frequentes, sugerindo potencial papel epidemiológico destes animais na manutenção do agente (QUROLLO *et al.*, 2014; ALMEIDA *et al.*, 2022). Em gatos, a infecção por *A. platys* tende a ser assintomática ou a cursar com sinais inespecíficos e alterações hematológicas discretas, dificultando o diagnóstico clínico (ANDRÉ *et al.*, 2022). Além disso, evidências de infecções humanas indicam potencial zoonótico, reforçando a relevância da vigilância em múltiplas espécies (ARRAGA-ALVARADO *et al.*, 2014).

Por sua vez, *Bartonella henselae* é um importante patógeno zoonótico, tendo o gato doméstico como principal reservatório (STAGGEMEIER *et al.*, 2010; QUROLLO *et al.*, 2014; SEPÚLVEDA-GARCÍA *et al.*, 2023). Transmitida predominantemente pela pulga *Ctenocephalides felis*, é o agente etiológico da doença da arranhadura do gato (DAG) em humanos, que pode evoluir para formas graves em indivíduos imunocomprometidos (BUSH *et al.*, 2024). Em felinos, a bacteremia crônica costuma ser assintomática, favorecendo a disseminação silenciosa e aumentando o risco à saúde pública (GIRMA *et al.*, 2019; SEPÚLVEDA-GARCÍA *et al.*, 2023).

A interação entre múltiplos agentes patogênicos pode modificar a resposta imunológica do hospedeiro, intensificar diferentes manifestações clínicas e dificultar o diagnóstico. O presente estudo teve como objetivo a detecção de *A. platys* e *B. henselae* em amostras sanguíneas de felinos previamente positivas para o gênero *Mycoplasma*, utilizando ensaios de reação em cadeia da polimerase (PCR), visando contribuir para o entendimento da coinfecção e seus impactos na saúde felina.

### 2. METODOLOGIA

#### Amostragem

Foram selecionadas 68 amostras de sangue de felinos previamente confirmadas como positivas para pelo menos uma espécie de *Mycoplasma* — *Mhf* ou *CMhm* — por meio de PCR específica para hemoplasmas. Essas amostras foram obtidas a partir de um total de 364 coletas realizadas entre 2022 e 2024, provenientes de felinos atendidos rotineiramente em uma clínica veterinária localizada na cidade de Pelotas, Rio Grande do Sul.

Adicionalmente, foram obtidos dados clínicos, incluindo a presença de infecções por FIV (vírus da imunodeficiência felina) e FeLV (vírus da leucemia felina). Os dados sobre infecção viral foram obtidos a partir dos prontuários, os quais continham os resultados dos testes imunocromatográficos comerciais (SNAP® FIV/FeLV Combo Test; IDEXX Laboratories) realizados pelo médico veterinário responsável na clínica. Todas as análises e o processamento das amostras foram realizados 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 utilizando protocolo baseado em reagente de fenol-guanidina (Brazol™) e avaliadas quanto à pureza e concentração em espectrofotômetro NanoDrop® (Thermo Fisher Scientific, EUA). O material foi armazenado a -80 °C até a PCR.

### **Identificação molecular de *A. platys* e *B. henselae***

A detecção do DNA de *A. platys* foi realizada por PCR convencional, utilizando primers específicos para a região do gene 16S rDNA — Platys (5'-GATTTTGTCGTAGCTTGCTATG-3') e EHR16SR (5'-TAGCACTCATCGTTACAGC-3') — que amplificam um fragmento de 678 pb, conforme descrito por Inokuma *et al.* (2000). Para a identificação molecular de *B. henselae*, empregou-se uma *nested* PCR direcionada ao gene gltA. A primeira reação, conduzida de acordo com o protocolo de Rolain *et al.* (2003), utilizou os primers UR-BartoF (5'-CTTCGTTCTCTTCTCA-3') e UR-BartoR (5'-CTTCTCTTCACAATTCAAT-3'), gerando amplicons de 700 a 722 pb. A reação subsequente, realizada segundo Sato *et al.* (2017), utilizou os primers URhenfF (5'-TTGCTCTAAAAAGCTTATCA-3') e URhenfR (5'-CAAAAAGAGGGATTACAAAATC-3'), amplificando fragmentos de 254 pb. Os produtos amplificados foram submetidos à eletroforese em gel de agarose a 1,5%, corado com brometo de etídio, e visualizados sob luz ultravioleta por meio de transiluminador. A determinação do tamanho dos amplicons foi realizada utilizando marcador molecular de 100 pb DNA Ladder (Ludwig Biotecnologia®, Alvorada, RS, Brasil).

## **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Das 68 amostras positivas para hemoplasmas, a infecção por *CMhm* foi predominante (46/68; 67,6%), seguida por *Mhf* (20/68; 29,4%). Coinfecções entre essas duas espécies foram detectadas em 2,9% (2/68) dos animais. Os dados clínicos complementares indicaram que 13,2% (9/68) dos felinos apresentavam diagnóstico sorológico positivo para FIV e 30,9% (21/68) para FeLV.

A detecção molecular de *A. platys* ocorreu em 16,2% (11/68) dos felinos, dos quais seis apresentavam coinfeção exclusivamente por *CMhm* e cinco por *Mhf*. Entre esses animais, quatro apresentavam sorologia positiva para FIV e sete para FeLV, sendo que quatro felinos apresentaram coinfeção simultânea por *A. platys* e ambos os retrovírus. Por sua vez, *B. henselae* foi detectado em 7,4% (5/68) gatos,

dos quais quatro apresentavam coinfecção por CMhm, nenhum por *Mhf* e um por ambas as espécies de hemoplasmas. Nenhum desses felinos foi soropositivo para FIV e apenas um apresentou diagnóstico positivo para FeLV. Adicionalmente, foi identificado um caso único 1,5% (1/68) de coinfecção tripla envolvendo CMhm, *A. platys* e *B. henselae*.

É importante ressaltar que, a detecção de *A. platys* em 16,2% dos felinos é particularmente relevante, considerando que este agente é tradicionalmente associado a cães. A presença de DNA de *A. platys* em gatos sugere que a espécie felina pode atuar como reservatório, hospedeiro amplificador ou sentinel, mesmo na ausência de sintomas evidentes (DAY, 2016; ANDRÉ et al., 2022). Além disso, a coinfecção simultânea por *A. platys*, hemoplasmas e retrovírus felinos pode agravar o quadro clínico dos animais, uma vez que compromete a resposta imunológica do hospedeiro, favorecendo a persistência e a exacerbão de infecções oportunistas (QUROLLO et al., 2014; ALMEIDA et al., 2022; MELO et al., 2023).

A detecção de *B. henselae* em 7,4% das amostras confirma seu papel como zoonose negligenciada e reforça a importância dos gatos como reservatórios. A bacteremia prolongada em felinos assintomáticos representa risco à saúde pública, especialmente em áreas urbanas (SEPÚLVEDA-GARCÍA et al., 2023; BUSH et al., 2024). Evidências anteriores (BORTOLI et al., 2012; ZHANG et al., 2021) corroboram a circulação de hemoplasmas, *Bartonella* e retrovírus em gatos urbanos aparentemente saudáveis, salientando a necessidade de vigilância permanente e controle rigoroso de ectoparasitas.

A coinfecção tripla por CMhm, *A. platys* e *B. henselae* evidencia a presença de infecções concomitantes capazes de comprometer a imunidade, dificultar o diagnóstico e agravar a evolução clínica. Tais achados indicam que felinos domiciliados podem atuar como reservatórios silenciosos de agentes, inclusive zoonóticos, reforçando a necessidade de vigilância molecular contínua, controle rigoroso de ectoparasitas e abordagens diagnósticas integradas, especialmente em animais imunocomprometidos.

Os presentes achados, embora preliminares, fornecem um panorama da ocorrência de coinfeções em uma população de alto risco. A análise subsequente do conjunto total de 364 amostras permitirá uma avaliação epidemiológica mais robusta, incluindo a investigação de outros patógenos de importância veterinária e zoonótica, como *Anaplasma phagocytophilum*, *Cytauxzoon felis*, *Hepatozoon* spp., *Babesia* spp. e *Ehrlichia* spp.

#### 4. CONCLUSÕES

O presente estudo evidencia a circulação de *A. platys*, *B. henselae* e hemoplasmas, incluindo a ocorrência de coinfeções com retrovírus, na população de felinos estudada. Os achados ressaltam a importância de considerar múltiplos agentes, como *A. platys*, no diagnóstico diferencial de animais com sinais clínicos inespecíficos, sobretudo em indivíduos positivos para FeLV. Destaca-se, ainda, a relevância da implementação de painéis moleculares abrangentes, essenciais para o manejo clínico adequado e para a vigilância de patógenos zoonóticos.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, J.C.F.; SOUZA, C.C.N.; BARROZO, P.H.M. et al. Aspectos epidemiológicos da infecção por *Ehrlichia canis*, *Anaplasma platys* e *Mycoplasma* spp. em gatos domésticos. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 29 n. 1, p. 36-40, 2022.

- ANDRÉ, M.R.; CALCHI, A.C.; FURQUIM, M.E.C. et al. Molecular Detection of Tick-Borne Agents in Cats from Southeastern and Northern Brazil, **Pathogens**, v. 11, n. 1, p. 106, 2022.
- ARRAGA-ALVARADO, C.M.; QUROLLO, B.A. et al. Case report: molecular evidence of *Anaplasma platys* infection in two women from Venezuela. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 91, n. 6, p. 1161–1165, 2014.
- BORTOLI, C.P.; ANDRÉ, M.R.; SEKI, M.C. et al. Detection of hemoplasma and *Bartonella* species and co-infection with retroviruses in cats subjected to a spaying/neutering program in Jaboticabal, SP, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 21, n. 3, p. 219-223, 2012.
- BUSH, J.C.; ROBVEILLE, C.; MAGGI, R.G.; BREITSCHWERDT, E.B. Neurobartonelloses: emerging from obscurity! **Parasit Vectors**, v. 17, n. 1, p. 416, 2024.
- DAY, M.J. Cats are not small dogs: is there an immunological explanation for why cats are less affected by arthropod-borne disease than dogs? **Parasit Vectors**, v. 9, n. 1, p. 1-9, 2016.
- GIRMA, G.; DUGUMA, M.; HAILE, G. A review on cat scratch disease and its zoonotic significance. **Journal of Veterinary Medical Research**, v. 1, n. 1, p. 1–7, 2019.
- INOKUMA, H.; OHNO, K.; ONISHI, T. 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.
- MELO, T. B.; SILVA, T.R.M.; ALMEIDA, T.L.A.C. et al. Molecular detection of vector-borne pathogens in cats tested for FIV and FeLV. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, v. 40, n. 1, p. 1-5, 2023.
- QUROLLO, B.A.; BALAKRISHNAN, N.; CANNON, C.Z. et al. Coinfection with *A. platys*, *B. henselae*, *B. 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.
- ROLAIN, J.M.; FRANC, M.; DAVOUST, B. et al. Molecular detection of *B. quintana*, *B. koehlerae*, *B. henselae*, *B. clarridgeiae*, *Rickettsia felis*, and *Wolbachia pipiensis* in cat fleas, France. **Emerging Infectious Diseases**, v. 9, n. 3, p. 338-342, 2003.
- SATO, S.; KABEYA, H.; NEGISHI, A. et al. Molecular survey of *Bartonella henselae* and *Bartonella clarridgeiae* in pet cats across Japan by species specific nested-PCR. **Epidemiology and Infection**, v. 145, n. 13, p. 2694-2700, 2017.
- SEPÚLVEDA-GARCÍA, P.; ALABI, A.; ÁLVAREZ, K. et al. *Bartonella* spp. in households with cats: Risk factors for infection in cats and human exposure. **One Health**, v. 16, n. 1, p. 100545, 2023.
- STAGGEMEIER, R.; VENKER, C.A.; KLEIN, D.H. et al. Prevalence of *Bartonella henselae* and *Bartonella clarridgeiae* in cats in the south of Brazil: a molecular study. **Memórias Instituto Oswaldo Cruz**, v. 105, n. 1, p. 873–888, 2010.
- SYKES, J.E. Feline hemotropic mycoplasmas. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, v. 20, n.1, p. 62–69, 2010.
- TASKER, S. Haemotropic mycoplasmas: What's their real significance in cats? **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 12, n. 5, p. 369–381, 2010.
- ZHANG, Y.; ZHANG, Z.; LOU, Y.; YU, Y. Prevalence of hemoplasmas and *Bartonella* species in client-owned cats in Beijing and Shanghai, China. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 83, n.5, p. 793-797, 2021.