

FREQUÊNCIA DE *Mycoplasma haemofelis* EM GATOS (*FELIS CATUS*) DE TERESINA-PI

Iuliana Marjory Martins Ribeiro (Bolsista do PIBIC/UFPI); Ariane Farias Leal (Colaborador, PIBIC/CNPq); Francisco de Assis Leite Souza (Colaborador, Doutorando em Ciência Animal UFPI); Silvana M. M. de Sousa Silva (Orientador, Depto de Clínica e Cirurgia Veterinária – UFPI)

Introdução

A micoplasmose felina ou Anemia Infecciosa Felina (AIF) são denominações utilizadas para designar a enfermidade causada por um hemoplasma, o *Mycoplasma haemofelis* (antiga *Haemobartonella felis*) (TANENO, 2009). *M. haemofelis* é uma bactéria, gram negativa, pleomórfica, localizado epicelularmente ao eritrócito, onde ocorre sua replicação (SYKES, 2010). A transmissão pode ocorrer através da picada de carrapatos ou pulgas infectados, pela via placentária, mordidas ou transfusão de sangue (RIKIHISA et al., 1997). Os sinais mais comuns que os animais doentes manifestam são anemia, anorexia, depressão, desidratação, letargia e, em alguns casos, perda de peso e morte súbita (SYKES, 2010). Considerando-se a inexistência de informações sobre essa enfermidade no Estado do Piauí, o presente trabalho tem como objetivo demonstrar a frequência de *Mycoplasma haemofelis* em gatos domésticos de Teresina-PI.

Metodologia

Para este estudo foram utilizados 174 gatos domésticos, com idade variando entre dois meses e 13 anos, de tamanho e peso variados e de ambos os sexos. Foram coletadas amostras de sangue por venopunção jugular para exame hematológico e extração de DNA. Foram feitos esfregaços provenientes de vasos auriculares, para pesquisa de *M. haemofelis* em microscópio de luz branca (objetiva de 100x). Os esfregaços foram fixados em álcool metílico e corados com Wright-Giemsa a 10%. Para extração de DNA utilizou-se o Illustra® Blood GenomicPrep Mini Spin Kit (GE Healthcare®), seguindo-se as instruções do fabricante. As amostras de DNA foram quantificadas em espectrofotômetro NanoDrop® 2000 (Thermo Scientific). A detecção de *M. haemofelis* foi realizada por meio da “Nested” PCR utilizando-se dois pares de primers cujas sequências foram: na primeira fase da reação (PCR) o Mhfe F1 (forward) 5' TTAATGCTGATGGTATGCCT 3' e o Mhfe R1 (reverse) 5' TGCTTAATTCCGAAACTCCC 3' e para segunda fase da reação (nPCR), o Mhfe F2 (forward) 5' GATTAATCCCATAGGAAG 3' e o Mhfe R2 (reverse) 5' ACTATCATAATTATCCCTCG 3'. Foram consideradas positivas as amostras que tiveram um produto de amplificação de 272 pb.

Resultados e Discussão

A ocorrência da infecção por *M. haemofelis* nos gatos domésticos avaliados pela nPCR foi de 17,82% (31/174). O fragmento amplificado tinha aproximadamente 272 pares de base (Figura 1).



Figura. 1- Visualização da amplificação dos produtos da nPCR pela eletroforese em gel de agarose a 1,5%. Coluna 1, 100pb DNA ladder. Coluna 2, o controle positivo. Coluna de 3 a 9, 11 e 12 são amplificações positivas para *Mycoplasma haemofelis*. Coluna 16, controle negativo da reação.

Alguns autores ressaltam que o diagnóstico negativo de *M. haemofelis* pela nPCR não garante a ausência do agente; isso pode ocorrer se parasita estiver abaixo do limiar de detecção ou caso já tenha sido iniciado antibioticoterapia ou ainda devido às flutuações na parasitemia. No entanto, resultado positivo do nPCR não significa infecção ativa, pois, mesmo que não apresentem alterações clínicas de infecção, os animais podem permanecer portadores do agente por toda sua vida (WILLI et al., 2007).

Avaliando-se as lâminas dos esfregaços sanguíneos, não se pode confirmar a presença do parasita, pois além da sensibilidade deste método ser baixa (<20%), a especificidade não é segura, uma vez que corpúsculos de Howell-Jolly ou precipitados de corantes podem ser confundidos com o parasita (GRACE & NORSWORTHY, 2011).

Através da análise hematológica, foi possível observar que 96,77% (30/31) dos animais positivos na nPCR não apresentaram anemia e 3,23% (1/31) dos animais apresentou anemia (normocítica normocrômica), que de acordo com a literatura é uma alteração hematológica que pode ocorrer em animais infectados (MESSICK, 2004). A ausência de anemia em quase totalidade dos animais positivos pode ser explicada pelo fato de que nem sempre pode ocorrer uma correlação inversa entre parasitemia e valor de hematócrito (TASKER et al., 2004; WILLI et al., 2006). Utilizando-se os testes de Fisher e Qui-Quadrado, observou-se que não houve associação ($p > 0,05$) entre os parâmetros hematológicos de animais positivos quando comparado com os negativos pela nPCR. Este resultado pode ser esperado, já que há possibilidades de serem ausentes quaisquer sinais clínicos ou alterações hematológicas em animais cronicamente infectados pela micoplasmose hemotrófica felina (TASKER, 2006).

Relativamente ao sexo, do total de animais positivos para *M. haemofelis*, 22,05% (15/68) eram machos e 15,09% (16/106) eram fêmeas. Neste estudo, observou-se que, embora o número de fêmeas positivas (16) na nPCR tenha sido maior que o número de machos positivos (15), não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre os sexos, segundo o testes Qui-Quadrado (X^2) Fisher. Os machos foram mais acometidos pelo *M. haemofelis* do que as fêmeas, de acordo com o que está descrito na literatura, que registra maior susceptibilidade à infecção nos animais do sexo masculino, errantes ou que tenham acesso ao exterior e não vacinados.

Relativamente à idade, dos animais com *M. haemofelis*, 22,6% (7/31) encontram-se na classe “< 1”, 48,4% (15/31) na classe “1 a 3”, 3,2% (1/5) na classe “4 a 5”, 3,2% (1/31) na classe “6 a 7”, 3,2% (1/31) na classe “> 8” e os 19,4% (6/31) restantes na classe “Desconhecida”.

No presente estudo, observou-se que os animais de 1 a 3 anos de idade foram os mais afetados pelo *M. haemofelis*. Porém não se pode afirmar que animais mais novos são mais susceptíveis à infecção por este hemoparasita, visto que alguns autores mostraram que os animais

mais jovens apresentam maior risco (SYKES et al., 2010) enquanto outros mostram que são os mais velhos (TASKER et al., 2003).

Conclusão

A partir dos resultados obtidos, conclui-se que a frequência de gatos domésticos parasitados por *M. haemofelis*, apesar de baixa, é uma realidade, sendo registrada pela primeira vez no Estado do Piauí.

Apoio

Agradecemos o apoio financeiro do PIBIC/UFPI e à Msc. Msc. Betina Metzger, da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, por ter cedido o controle positivo utilizado na nPCR.

Referências Bibliográficas

- GRACE, S. & NORSWORTHY, G. **Hemoplasmosis**. In G. D. Norsworthy (Ed.). Feline Patient. Iowa: Blackwell Publishing Ltd. 4th Ed. pp. 218-219, 2011.
- RIKIHISA, Y.; KAWAHARA, M.; WEN, B.; KOCIBA, G.; FUERST, P.; KAWAMORI, F.; SUTO, C.; SHIBATA, S.; FUTOHASHI, M. Western immunoblot analysis of *Haemobartonellamuris* and comparison of 16S rRNA gene sequences of *H. muris*, *H. felis*, and *Eperythrozoonisuis*. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 35, n. 4, p. 823-829, 1997.
- SYKES, J.E. Feline hemotropic mycoplasmas. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, 62-69. 2010.
- TANENO, J. C; SACCO, S. R. Micoplasmose Felina: Relato de Caso. **Revista Científica Eletrônica De Medicina Veterinária**, v. 7, p. 1-2, 2009.
- 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. *Journal Feline Med. Surg.*, v. 6, p. 345–354, 2004.
- TASKER, S. & LAPPIN, M.R. Update on hemoplasmosis. In J.R. August (Ed.), *Consultations in feline internal medicine*. China: Elsevier Saunders. Vol. 5, pp. 605-609, 2006.
- TASKER, S., BINNS, S. H., DAY, M. J., GRUFFYDD-JONES, T. J., HARBOUR, D. A., HELPS, C. R., et al. Use of a PCR assay to assess the prevalence and risk factors for *Mycoplasma haemofelis* and 'Candidatus *Mycoplasma haemominutum*' in cats in the United Kingdom (Abstract). *The Veterinary Record*, 152 (7), pp. 193-198, 2003.
- WILLI, B., BORETTI, F.S., TASKER, S., MELI, M.L., WENGI, N., REUSCH, C.E., LUTZ, H. & LEHMANN, R.H. **From *Haemobartonella to hemoplasma*: Molecular methods provide new insights**. *Veterinary Microbiology*, 125, 197–209, 2007.

Palavras-chave: Hemobartonelose, diagnóstico, PCR.