

Ocorrência e características clínicas e laboratoriais de cães infectados por micoplasmas hemotrópicos (*Mycoplasma haemocanis* e *Candidatus Mycoplasma haematoparvum*): estudo de quatro anos em animais atendidos em hospital veterinário localizado no município de São Paulo, Brasil

Occurrence, clinical and laboratorial characteristics of dogs infected by hemotropic mycoplasmas (*Mycoplasma haemocanis* and *Candidatus Mycoplasma haematoparvum*): a four years study in animals attended in a veterinary hospital located in São Paulo, town, Brazil

Resumo

As infecções caninas por hemoplasmas são geralmente crônicas e assintomáticas e, sob situações de imunossupressão, coinfeções com outros agentes etiológicos ou esplenectomia, podem gerar anemia e emaciação, dentre outras manifestações clínicas. O presente trabalho analisou os prontuários de 194 animais da espécie canina atendidos no Hospital Veterinário Pet Care, na cidade de São Paulo, Brasil, no período de 2011 a 2015 e submetidos à PCR em tempo real para *Mycoplasma haemocanis* e *Candidatus Mycoplasma haematoparvum*, e descrevendo as principais características clínicas e laboratoriais dos pacientes infectados. Dos 194 animais observados, cinco machos (71,42%) e duas fêmeas (28,57%) apresentaram-se infectados pelos hemoplasmas acima referidos, determinando uma frequência de ocorrência de 3,6%. Dos sete pacientes positivos, seis eram idosos, com idade en-

tre oito e 18 anos (87,71%) e todos apresentavam comorbidades, com destaque para erliquiose (57,14%). Anemia foi encontrada em dois cães (28,57%) e trombocitopenia em três (42,85%), e todos os animais com contagem plaquetária diminuída apresentaram-se coinfectados por *E. canis*. Não se observou correlação entre a infecção pelos micoplasmas, febre e contagem leucocitária nos animais positivos. A conclusão obtida é de que, na população investigada, a frequência de ocorrência de infecção por Micoplasmas hemotrópicos foi baixa e os casos observados predominaram em machos e idosos coinfectados por *Ehrlichia canis*.

Recebido em 9 de setembro de 2015 e aprovado em 1º de junho de 2016

Abstract

Canine hemoplasma infections are usually chronic and asymptomatic, and under immunosuppression, coinfections with other etiological agents, or splenectomy, they can cause anemia and emaciation, among other clinical manifestations. This study analyzed the medical records of 194 dogs treated at the Pet Care Veterinary Hospital, São Paulo, Brazil, between 2011 and 2015, subjected to real-time PCR for *Mycoplasma haemocanis* and *Candidatus Mycoplasma haematoparvum*, and describes the main clinical and laboratory characteristics of the infected patients. Five males (71.42%) and two females (28.57%) had become infected by these hemoplasmas, determining a 3.6% frequency. Among

these animals, six were elderly (87.71%), between eight and 18 years old, and all patients had comorbidities, especially Ehrlichiosis (57.14%). Anemia was found in two dogs (28.57%), and thrombocytopenia in three (42.85%). All animals with decreased platelet count were coinfecting by *E. canis*. No correlation was found between mycoplasma infection, fever, and leukocyte count in positive animals. The conclusion reached was that in the population investigated, frequency of hemoplasma infection was low, and the cases observed predominated in males and elderly patients coinfecting by *Ehrlichia canis*.

F. N. Baltazar¹

A. L. Sena²

M. A. Quinzani³

C. A. Bearl³



Palavras-chave

Infecção. Cães. Hemoplasmas.

Keywords

Infection. Dogs. Hemoplasmas.

Caracterizados pela ausência de parede celular, os micoplasmas hemotrópicos, também conhecidos como hemoplasmas, são definidos como bactérias responsáveis pelo parasitismo da superfície dos eritrócitos de hospedeiros vertebrados, como felinos (*Candidatus mycoplasma haemominutum*, *Mycoplasma haemofelis* e *mycoplasma turicensis*) suínos (*Mycoplasma suis*), bovinos (*Mycoplasma wenyonii*), camelídeos (alpaca - *Candidatus mycoplasma haemolamae*), marsupiais (gambás - *Candidatus Mycoplasma haemodidelphidis*), roedores (*Mycoplasma haemomuris*), cães (*Mycoplasma haemocanis* e *Candidatus Mycoplasma haematoparvum*) (MESSICK; HARVEY, 2012). Em seres humanos, foram descritas infecções por *Mycoplasma haemofelis-like*, *Mycoplasma suis-like*, *Mycoplasma ovis*, *Candidatus Mycoplasma haemohominis* e *Candidatus Mycoplasma haematoparvum*, fato este responsável por tornar o assunto importante à saúde pública (VIEIRA *et al.*, 2015). Tais microorganismos foram taxonomicamente designados de gêneros *Haemobartonella* e *Eperythrozoon* até 2002, quando foram reclassificados da ordem *Rickettsiales* para a *Mollicutes* e família *Mycoplasmataceae*, por meio da análise do gene 16S rRNA (MESSICK *et al.*, 2002). Na Alemanha, em 1928, o gênero *Mycoplasma haemocanis* foi detectado em cão esplenectomizado na época denominado *Hemobartonella canis*, e a espécie *Candidatus Mycoplasma haematoparvum* foi pioneiramente observada em 2004, durante um estudo de quadro anêmico em cão esplenectomizado submetido à quimioterapia por leucemia linfocítica (SHARIFIYAZDI; HASIRI; AMINI, 2014).

1 Clínica Médica e Infectologia de Pequenos Animais – Hospital Veterinário Pet Care.

2 Unidade de Terapia Intensiva e Departamento de Oncologia – Hospital Veterinário Pet Care.

3 Carla Alice Bearl; Marcelo A. Quinzani: Médicos-veterinários – Diretoria Clínica – Hospital Veterinário Pet Care.

A transmissão desses patógenos ainda é pouco conhecida. Experimentalmente, já se provou a infecção por *M. haemofelis* por inoculação intravenosa em felinos domésticos. Analogamente, a infecção também foi reproduzida pela picada de carrapato *Rhipicephalus sanguineus* infectado com *M. haemocanis* em cães. Experimentalmente, a infecção foi confirmada por transfusões sanguíneas, transmissão intra-uterina e administração oral de sangue infectado na espécie canina (MESSICK; HARVEY, 2012).

As infecções por hemoplasmas em animais domésticos e selvagens podem permanecer assintomáticas por vários anos, uma vez que estas bactérias não apresentam características fortemente patogênicas, mas coinfeções, imunossupressão e esplenectomia muitas vezes são fatores responsáveis pela sinalização clínica, em alguns casos associados a vários graus de anemia hemolítica (WILLI *et al.*, 2010). Logo, sua cronicidade dificulta o diagnóstico laboratorial pela microscopia de esfregaços sanguíneos, fato que realça a importância dos métodos moleculares de detecção antigênica (PCR) como auxiliares no diagnóstico definitivo. A microscopia desses patógenos foi, por muitos anos, o método de escolha para elucidação diagnóstica, já que durante a fase aguda da infecção, mediante marcada bacteremia, pode-se encontrar até 90% dos eritrócitos parasitados. Apesar disso, sua sensibilidade permanece abaixo de 20% em animais cronicamente infectados, além de especificidade diminuída por artefatos no esfregaço, como precipitados do próprio corante ou a presença de corpúsculos de Howell-Jolly (COMPTON; MAGGI; BREITSCHWERDT, 2012). A técnica de PCR quantitativo em tempo real (qPCR) para detecção de *M. haemocanis* e *Candidatus Mycoplasma haematoparvum* foi padronizada em 2010, estudando-se 100 cães oriundos da Tanzânia e 185 animais atendidos em um Hospital Veterinário de Trinidad (Trinidad e Tobago) (BARKER *et al.*, 2010).

O presente trabalho descreve a frequência de ocorrência das infecções por *Mycoplasma haemocanis* e *Candidatus Mycoplasma haematoparvum* em cães atendidos entre 2011 e 2015 no Hospital Veterinário Pet Care (unidade Morumbi), localizado na cidade de São Paulo, Brasil, mediante a análise de 194 prontuários de pacientes submetidos à PCR em tempo real, caracterizando as principais alterações clínicas e laboratoriais dos pacientes infectados.

Materiais e métodos

Foram analisados os prontuários de 194 cães atendidos no Hospital Veterinário Pet Care entre 2011 e 2015, por queixas sintomáticas suspeitas para infecções transmitidas por vetores. Durante o atendimento, tais pacientes foram submetidos à coleta de três mililitros de sangue por venopunção jugular, os quais foram armazenados em tubos com e sem anticoagulante (EDTA) e em período de até 24 horas remetidos ao laboratório para análise hematológica, bioquímica

e molecular (PCR em tempo real). Além disso, desses prontuários foram colhidas as seguintes informações: raça, sexo, idade, presença de comorbidades (no histórico clínico anterior registrado no sistema), sintomatologia, temperatura, hematócrito, contagem de leucócitos, plaquetas e o registro do referido exame molecular, o qual incluiu *Mycoplasma haemocanis*, *Candidatus Mycoplasma haematoparvum*, *Babesia* spp., *Anaplasma* spp., *Ehrlichia* spp., *Rickettsia* spp., *Hepatozoon* spp., *Leishmania* spp., *Neorickettsia* spp. e *Bartonella* spp. Animais com hematócrito abaixo de 37% foram considerados anêmicos, de modo que os valores de referência para leucócitos e plaquetas foram padronizados em 6 a 17 mil/mm³, e 200 a 500 mil/mm³, respectivamente. Para a realização da PCR em tempo real, procedeu-se à extração de DNA com o auxílio de *kit* comercial (Corbett Xtractor - Gene, Qiagen, Valencia, CA, EUA). Os testes de PCR foram baseados na plataforma de serviços da IDEXX RealPCR™ (IDEXX Laboratories, Inc., Westbrook, ME, EUA).

Resultados e discussão

A compilação dos 194 prontuários revelou a existência de sete animais positivos para alguns dos hemoplasmas acima citados, fato que confirma a frequência de ocorrência de 3,6%. Destes, cinco eram machos (71,42%) e dois fêmeas (28,57%), seis com idade entre oito e 18 anos (87,71%) e um com três anos (14,28%). Desta forma, no que se refere ao sexo dos animais acometidos, nossos resultados concordam com os obtidos por Barker *et al.* (2010), que relataram ocorrência de *M. haemocanis* em 14 machos (70% dos animais), ou ainda com os de Sasaki *et al.* (2008), que encontraram 96% de machos dentre as amostras positivas para *M. haemocanis* e sugeriram sua transmissão por ingestão de sangue contaminado entre os animais durante brigas e concomitantes traumas por mordedura, característica comportamental presente com maior frequência nos indivíduos desse sexo.

Além de fatores como histórico de esplenectomia e/ou coinfeções, a imunossupressão também é citada como uma das causas de ocorrência dessas infecções, fato que pode justificar o aparecimento de sintomas e sinais clínicos tardios, bem como subsequente número maior de animais idosos infectados. Concomitantemente, por se tratar de doença crônica, há possibilidade de sua manifestação apenas na fase idosa devido a maior probabilidade de coinfeções, fato que justificaria os resultados atuais.

Apesar da distribuição cosmopolita desses patógenos, as frequências de ocorrência obtidas nos vários ensaios clínicos já realizados mostram-se por vezes discrepantes, variando entre 0,5% e 40% (TENNANT *et al.*, 2011). Em estudo realizado na Espanha (Barcelona) por meio de inquérito molecular (qPCR) para pesquisa dos mesmos hemoplasmas aqui estudados, de 182 cães examinados, 26 foram positivos (14,3%) (ROURA *et al.*, 2010). Já em ensaio clínico realizado

na Grécia, foi constatado 10,56% de animais infectados (TENNANT *et al.*, 2011), e nos Estados Unidos da América, em 2012, foi registrada a ocorrência de 1,3% (COMPTON; MAGGI; BREITSCHWERDT, 2012). Mediante as propostas de transmissão desses patógenos, possivelmente a mais importante se baseia no método vetorial, onde o carrapato *Rhipicephalus sanguineus* desempenha tal função. Logo, esses resultados podem divergir entre si na dependência da região submetida a estudo (rural ou litorânea *versus* urbana) e consequente distribuição do vetor, característica esta reforçada no presente trabalho pelo fato de quatro dos sete animais com a infecção (57,14%) residirem em ambiente litorâneo ou rural (dois em Peruíbe, um em Ilhabela e o remanescente em Itapetininga), além de todos serem coinfectados com *Ehrlichia* sp. (resultado obtido no histórico clínico anterior, por meio de ensaio imunoenzimático/Elisa), o que sugere maior contato com carrapatos ao longo da vida. Interessantemente, os demais pacientes também apresentavam comorbidades previamente diagnosticadas (Tumor Venéreo Transmissível, Cardiomiopatia Dilatada e Doença Renal Crônica), justificando sua susceptibilidade à bacteremia e ao aparecimento de sinais clínicos tardios.

A sintomatologia referida durante o atendimento envolveu corrimento vaginal, emaciação, hematuria e gastroenterite entre os animais selecionados, mas nenhum apresentou febre, com os valores de temperatura variando entre 38°C e 38,9°C. Adicionalmente, a sintomatologia descrita em literatura se apresenta bastante variável, na dependência da espécie de hemoplasma envolvida (incluindo aquelas responsáveis por bacteremia em outras espécies animais) e da presença de coinfeções (KEMMING *et al.*, 2004), situação esta encontrada em todos os pacientes positivos para tais patógenos. A anemia foi observada em dois animais (28,57%), que apresentaram hematócritos de 35% e 19,9%. Infecções agudas por estes patógenos podem ocasionar quadros anêmicos, antagonicamente às crônicas, como já sugerido (WILLI., 2006). No presente trabalho, os animais anêmicos apresentavam também comorbidades que potencialmente podem caracterizar tal situação clínica (coinfeção por *E. canis* e doença renal crônica, respectivamente), fato que poderia ser justificado por bacteremia especialmente no caso do encontro dos parasitas epieritrocitários, apesar da baixa sensibilidade e especificidade dessa modalidade diagnóstica, o que não ocorreu. No que se refere à contagem de leucócitos, nenhum dos indivíduos selecionados apresentou alterações relevantes, tendo permanecido entre 8,1 mil e 14,1 mil/mm³, característica já previamente descrita na literatura (MESSICK; HARVEY, 2012). Trombocitopenia foi encontrada em três animais (42,85%), dos quatro coinfectados com *E. canis*, achado geralmente não relatado pela literatura. Em contrapartida, Hulme-Moir *et al.* (2010) descreveram um caso canino

positivo para *M. haemocanis*, que havia sido esplenectomizado quatro meses antes do diagnóstico e apresentava moderada trombocitopenia, debelada sete dias após o início da administração de oxytetraciclina. Os autores não relataram a investigação concomitante por outros patógenos que justificassem trombocitopenia e com eventual sensibilidade ao antibiótico utilizado. Interessantemente, os indivíduos trombocitopênicos encontrados apresentavam sorologia positiva (Elisa) para *E. canis*, com valores de contagens plaquetárias variando entre 66 mil e 192 mil células/mm³.

Conclusão

Em 194 animais da espécie canina atendidos no período de 2011 a 2015 pelo Hospital Veterinário Pet Care, localizado na cidade de São Paulo, Brasil, a frequência de ocorrência de infecção por micoplasmas hemotrópicos foi baixa e os casos observados predominaram em machos, idosos coinfectados por *Ehrlichia canis*. 📧

Referências

- BARKER, E. N. *et al.* Development and use of real-time PCR to detect and quantify *Mycoplasma haemocanis* and "Candidatus *Mycoplasma haematoparvum*" in dogs. *Veterinary Microbiology*, Ames, Iowa, v. 140, n. 1-2, p. 167-170, Jan. 2010.
- COMPTON, S. M.; MAGGI, R. G.; BREITSCHWERDT, E. B. *Candidatus* *Mycoplasma haematoparvum* and *Mycoplasma haemocanis* infections in dogs from the United States. *Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases*, Oxford, v. 35, n. 6, p. 557-562, Dec. 2012.
- HULME-MOIR, K. L. *et al.* Use of real-time quantitative polymerase chain reaction to monitor antibiotic therapy in a dog with naturally acquired *Mycoplasma haemocanis* infection. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, Columbia, MO, v. 22, n. 4, p. 582-587, July 2010.
- KEMMING, G. I. *et al.* *Mycoplasma haemocanis* infection – a kennel disease? *Comparative Medicine*, Memphis, TN, v. 54, n. 4, p. 404-409, Aug. 2004.
- MESSICK, J. B. *et al.* 'Candidatus *Mycoplasma haemodidelphis*' sp. nov., 'Candidatus *Mycoplasma haemolamae*' sp. nov. and *Mycoplasma haemocanis comb. nov.*, haemotropic parasites from a naturally infected opossum (*Didelphis virginiana*), alpaca (*Lama pacos*) and dog (*Canis familiaris*): phylogenetic and secondary structural relatedness of their 16S rRNA genes to other mycoplasmas. *Internal Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, Reading, UK, v. 52, n. pt. 3, p. 693-698, May, 2002.
- MESSICK, J. B.; HARVEY, J. W. Hemotropic Mycoplasmosis (*Hemobartonellosis*). In: GREENE, C. E. *Infectious diseases of the dog and cat*. 4. ed. Missouri: Elsevier Saunders, 2012. p. 310-319.
- ROURA, X. *et al.* Prevalence of hemotropic mycoplasmas in healthy and unhealthy cats and dogs in Spain. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, Columbia, MO, v. 22, n. 2, p. 270-274, Mar. 2010.
- SHARIFIYAZDI, H.; HASIRI, M. A.; AMINI, A. H. Intravascular hemolysis associated with *Candidatus* *Mycoplasma haematoparvum* in a non-splenectomized dog in the south region of Iran. *Veterinary Research Forum*, Urmia, v. 5, n. 3, p. 243-246, Summer 2014.
- TENNANT, K. V. *et al.* Real-Time quantitative polymerase chain reaction detection of haemoplasmas in healthy and unhealthy dogs from Central Macedonia, Greece. *Journal of Small Animal Practice*, Oxford, v. 52, n. 12, p. 645-649, Dec. 2011.
- VIEIRA, R. F. C. *et al.* Molecular investigation of hemotropic mycoplasmas in human beings, dogs and horses in a rural settlement in southern Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, São Paulo, v. 57, n. 4, p. 353-357, July-Aug. 2015.
- WILLI, B. *et al.* Prevalence, risk factors analysis, and follow-up of infections caused by three feline haemoplasma species in cats in Switzerland. *Journal of Clinical Microbiology*, Washington, v. 44, n. 3, p. 961-969, Mar. 2006.
- WILLI, B. *et al.* Haemotropic mycoplasmas of cats and dogs: transmission, diagnosis, prevalence and importance in Europe. *Schweizer Archiv für Tierheilkunde*, Zürich, v. 152, n. 5, p. 237-244, May 2010.