



Turcitu M.A

Facultatea de Medicină Veterinară București, Laboratorul de analize Medicale-Veterinare, Departamentul de Biologie moleculară și Analize genetice

MANAGEMENTUL HEMOPLASMEI FELINE - FELINE HEMOPLASMAS MANAGEMENT

Cuvinte-cheie:

Hemoplasme feline,
management adecvat

Rezumat

Prezenta lucrare reprezintă o sinteză a datelor din literatură referitoare la speciile de hemoplasme cu potențial infecțios pentru pisică, aspecte de patogeneză și infecții comun asociate, alături de prezentarea unei metode sensibile și specifice de identificare și monitorizare prin tehnici de biologie moleculară (PCR în timp real), astfel încât medicul clinician să poată genera un protocol de screening, diagnostic și tratament adecvat și susținut științific.

Abstract

Present paper constitutes a review of existing literature data regarding haemoplasmas species with pathogen potential for cat, pathogenesis and common associated infections, along with specific and sensitive Real Time PCR method for identification and monitoring, with the final goal being implementation of a correct protocol for screening, diagnosis and treatment based on scientific facts.

Introducere

Hemoplasmelile reprezintă o categorie aparte de micoplasme, respectiv bacterii cu tropism pentru linia roșie sanguină, cu localizare epi-eritocitară și care în anumite condiții pot genera fenomene de anemie hemolitică severă, uneori cu debut fulminant⁽⁵⁾. Taxonomic, actualmente sunt clasificate în cadrul familiei Mycoplasmataceae, genul *Mycoplasma*, cu toate că cercetări recente sugerează plasarea acestora într-un gen separat^(5, 6). Până în prezent au fost descrise trei specii patogene pentru pisică și anume *Mycoplasma haemofelis* (anterior denumită *Haemobartonella felis*), *Candidatus mycoplasma haemominutum* și *Candidatus mycoplasma turicensis*^(1, 2, 9, 11, 13, 16, 17).

Din punct de vedere epidemiologic, prevalența hemoplasmelor este influențată de sex (masculii fiind mai frecvent identificați cu infecție), de stilul de viață al animalului (mai frecventă la exemplarele cu acces în afara locuinței). Prevalența infecției este în general semnificativă pentru *Candidatus mycoplasma haemominutum* (până la 46.7%) și *Mycoplasma haemofelis* (până la 46.6%) și mai redusă pentru *Candidatus mycoplasma turicensis* (până la 26%)⁽⁵⁾. De asemenea, prevalența se pare că este influențată și de arealul geografic, fapt care poate sugera implicarea artropodelor ca vector de transmitere al infecției^(5, 12, 16) și chiar a puricilor⁽¹⁸⁾. Sunt de asemenea incriminate ca și căi de transmitere luptele frecvente⁽⁸⁾ și transfuziile efectuate din ce în ce mai frecvent⁽¹⁰⁾.

Patogenitate

Mycoplasma haemofelis reprezintă exemplul cel mai elocvent din punct de vedere al patogenității, fiind implicată (în formele supraacută/acută) în numeroase cazuri de anemie hemolitică severă, uneori fatală sau dimpotrivă exprimare clinică și/sau paraclinică moderată, astfel încât la modul general prognosticul poate varia de la defavorabil la rezervat. Acest lucru poate fi atribuit inclusiv variației de răspuns specific sau nespecific al organismului, cu toate că boala este întâlnită și la animalele imunocompetente⁽⁵⁾. Pentru celelalte două specii, în infecție unică, semnele clinice și gradul de afectare al organismului gazdă sunt reduse, dar au fost raportate și excepții⁽¹⁴⁾. Dimpotrivă, în formele cronice, exprimarea clinică este de cele mai multe ori inaparentă sau cel mult ștearsă, dar și în acest caz se poate vorbi de posibilitatea de reactivare infecție cu exprimare clinică evidentă^(5, 14). Indiferent de specia incriminată însă, atunci când este vorba de infecții asociate și în special cu retrovirusuri, sau alte eve-

nimente ce pot genera imunopresia, expresia clinică și consecutiv fenomenele de boală sunt exacerbate, astfel că în aceste cazuri diagnosticul și monitorizarea devin esențiale. Există date în literatura de specialitate care sugerează asocierea micoplasmelor cu virusul imunodeficienței feline (FIV)^(3, 7) și virusul leucemiei feline (FeLV)^(3, 4, 7, 15), posibil și consecutiv tratamentelor cu substanțe medicamentoase ce pot genera direct sau indirect scăderea imunității (în special tratamentul cu antiinflamatoare steroidiene). Nu în ultimul rând, atunci când este necesară, transfuzia poate constitui o modalitate extrem de facilă de diseminare a infecției și apariție a semnelor de boală, în acest caz fiind vorba de un organism receptor tarat^(5, 10).

Diagnostic de laborator

Ca și în cazul altor specii de hemoplasmelile, și în cazul celor trei specii patogene pentru feline acestea nu pot fi cultivate *in vitro*, așadar nu există posibilitatea de efectuare a izolării pe medii de cultură bacteriene specifice sau a testării serologice. Până nu demult, singura modalitate de diagnostic a fost reprezentată de examinarea microscopică (colorația Romanowsky), totuși trebuie subliniat faptul că această metodă este una cu o sensibilitate extrem de redusă, fără posibilitate de identificare specie sau de cuantificare încărcătură bacteriană. Mai mult, această metodologie poate genera un număr semnificativ de rezultate fals pozitive, în special prin confundarea hemoplasmelor cu artefactele de colorare sau existența corpusculilor Jolly⁽⁵⁾.

Testele de biologie moleculară și în special testele PCR au revoluționat și în acest caz protocolul de diagnostic, prin identificarea anumitor regiuni genice specifice, cu posibilitatea de efectuare a detecției de gen dar și de specie. Mai mult, consecutiv dezvoltării metodologiei PCR în timp real (Real Time PCR)^(15, 16, 17), s-a reușit implementarea inclusiv a metodelor de detecție semicantitative sau chiar cantitative, astfel încât nivelul informațional generat de o astfel de analiză să fie unul adecvat pentru medicul clinician.

Ca și în cazul utilizării PCR în identificarea altor tipuri de patogeni, sensibilitatea și specificitatea acestor teste este una de neegalat. Protocolul dezvoltat în cadrul laboratorului Facultății de Medicină Veterinară București este unul de tip Real Time PCR semicantitativ ce utilizează sondă de hidroliză (de tip *TaqMan*), cu amplificarea unui fragment specific de 70 perechi de baze aparținând genei 16S a ARN-ului ribozomal. Acest protocol este capabil în anumite condiții de reacție să identifice atât toate cele trei specii de micoplasme patogene, dar și să realizeze dis-

criminarea între acestea, fiind așadar un protocol complet de diagnostic.

Actualizarea protocolului de diagnostic

Pe baza datelor anterior prezentate cu privire la patogenitate, prevalență și metodologie de detecție, coroborat cu datele de ordin clinic și eventual paraclinic, diagnosticul și monitorizarea hemoplasmelor trebuie să țină cont inclusiv de următoarele considerente:

1. Testul de elecție pentru diagnostic este Real Time PCR, datorită sensibilității, specificității și posibilității de exprimare rezultat (semicantitativ).

Așadar, ca și nivel informațional generat, această metodă indică absența/prezența patogenuului, dar și gradul de infestație din acel moment (încărcătură bacteriană crescută/medie/scăzută). Atunci când testul este utilizat pentru evaluarea eficienței terapeutice, suplimentar fața de cele anterior prezentate se obțin date valoroase cu privire la scăderea titrului (tratament eficient) și

cuantificarea cifrică exactă a acestei scăderi;

2. În cazul pacienților cu boli asociate (în special retrovirusuri - FIV, FeLV, terapie cu imunosupresoare) este necesară testarea suplimentară pentru hemoplasme și în funcție de rezultat instituirea unui protocol terapeutic judicios, care să implice și o monitorizare periodică. Atunci când rezultatul este negativ, pe fondul imunosupresiei, se recomandă testarea periodică datorită riscului crescut pentru acești pacienți de a contacta infecții secundare;

3. Orice manifestare clinică și orice rezultat paraclinic indirect care denotă anemie de diferite grade trebuie investigat inclusiv din punct de vedere al bolilor infecțioase și cu precădere pentru hemoplasme;

4. Atunci când situația o impune, transfuzia trebuie efectuată numai după testarea în prealabil a donatorului inclusiv pentru hemoplasme și în funcție de rezultat să se poată lua cea mai bună decizie cu privire la factorii de risc ce pot fi generați de urgența intervenției transfuzionale și eventuala infestație a sângelui.

References

- Berent, L. M., J. B. Messick, and S. K. Cooper. 1998. Detection of *Haemobartonella felis* in cats with experimentally induced acute and chronic infections, using a polymerase chain reaction assay. *Am. J. Vet. Res.* 59:1215-1220
- Foley, J. E., and N. C. Pedersen. 2001. 'Candidatus *Mycoplasma haemominutum*', a low-virulence eperythrocytic parasite of cats. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 51:815-817.
- Gentilini F, Novacco M, Turba ME, Willi B, Bacci ML, Hofmann-Lehmann R (2009): Use of combined conventional and real-time PCR to determine the epidemiology of feline haemoplasma infections in northern Italy. *J Feline Med Surg* 11, 277-285.
- George JW, Rideout BA, Griffey SM, Pedersen NC (2002): Effect of preexisting FeLV infection or FeLV and feline immunodeficiency virus coinfection on pathogenicity of the small variant of *Haemobartonella felis* in cats. *Am J Vet Res* 63, 1172-1178.
- Haemoplasmosis in Cats (2016) - ABCD European Advisory Board on Cat Diseases
- Hicks CA, Barker EN, Brady C, Stokes CR, Helps CR, Tasker S (2014): Non-ribosomal phylogenetic exploration of Mollicute species: new insights into haemoplasma taxonomy. *Infect Genet Evol* 23, 99-105.
- Macieira DB, de Menezes RD, Damico CB, et al (2008): Prevalence and risk factors for hemoplasmas in domestic cats naturally infected with feline immunodeficiency virus and/or feline leukemia virus in Rio de Janeiro - Brazil. *J Feline Med Surg* 10, 120-129.
- Museux K, Boretti FS, Willi B, et al (2009): In vivo transmission studies of 'Candidatus *Mycoplasma turicensis*' in the domestic cat. *Vet Res* 40: 45.
- Neimark, H., K. E. Johansson, Y. Rikihisa, and J. G. Tully. 2001. 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.* 51:891-899.
- Pennisi MG, Hartmann K, Addie DD, et al (2015): Blood transfusion in cats. ABCD guidelines for minimising risks of infectious iatrogenic complications. *J Feline Med Surg* 17: 588-593.
- Rikihisa, Y., M. Kawahara, B. Wen, G. Kociba, P. Fuerst, F. Kawamori, C. Suto, S. Shibata, and M. Futohashi. 1997. Western immunoblot analysis of *Haemobartonella muris* and comparison of 16S rRNA gene sequences of *H. muris*, *H. felis*, and *Eperythrozoon suis*. *J. Clin. Microbiol.* 35:823-829.
- Sykes JE, Draznovich NL, Ball LM, Leutenegger CM (2007): Use of conventional and real-time polymerase chain reaction to determine the epidemiology of hemoplasma infections in anemic and nonanemic cats. *J Vet Intern Med* 21: 685-693.
- Tasker, S., C. R. Helps, C. J. Belford, R. J. Birtles, M. J. Day, A. H. Sparkes, T. J. Gruffydd-Jones, and D. A. Harbour. 2001. 16S rDNA comparison demonstrates near identity between an United Kingdom *Haemobartonella felis* strain and the American California strain. *Vet. Microbiol.* 81:73-78.
- Weingart C, Tasker S, Kohn B (2015): Infection with haemoplasma species in 22 cats with anaemia. *J Feline Med Surg* 18, 129-136.
- Willi Barbara, Felicitas S. Boretti, Claudia Baumgartner, Severine Tasker, Bettina Wenger, Valentino Cattori, Marina L. Meli, Claudia E. Reusch, Hans Lutz, and Regina Hofmann-Lehmann (2006). Prevalence, Risk Factor Analysis, and Follow-Up of Infections Caused by Three Feline Hemoplasma Species in Cats in Switzerland. *J Clin Microbiol* 44, 961-969.
- Willi Barbara, Felicitas S. Boretti, Marina L. Meli, Marco V. Bernasconi, Simona Casati, Daniel Hegglin, Maria Puorger, Harold Neimark, Valentino Cattori, Nicole Wengi, Claudia E. Reusch, Hans Lutz, and Regina Hofmann-Lehmann (2007). Real-Time PCR Investigation of Potential Vectors, Reservoirs, and Shedding Patterns of Feline Hemotropic Mycoplasmas. *Applied And Environmental Microbiology*.
- Willi, B., F. S. Boretti, V. Cattori, S. Tasker, M. L. Meli, C. Reusch, H. Lutz, and R. Hofmann-Lehmann. 2005. Identification, molecular characterization, and experimental transmission of a new hemoplasma isolate from a cat with hemolytic anemia in Switzerland. *J. Clin. Microbiol.* 43:2581-2585.
- Woods JE, Brewer MM, Hawley JR, Wisniewski N, Lappin MR (2005): Evaluation of experimental transmission of 'Candidatus *Mycoplasma haemominutum*' and *Mycoplasma haemofelis* by *Ctenocephalides felis* to cats. *Am J Vet Res* 66, 1008-1012.