

Hemoparasitas e bactérias hemotrópicas observadas por microscopia direta em amostras de sangue periférico de cães em uma clínica particular no município de Lorena, São Paulo, Brasil

Hemoparasites and hemotropic bacteria detected through direct microscopy in dogs peripheral blood samples in a veterinarian private clinic in the municipality of Lorena, São Paulo, Brazil

Resumo

As hemoparasitoses, afecções responsáveis por complicações clínicas e hematológicas, são um grande desafio para o clínico e patologista clínico. Sua alta incidência em todo o território brasileiro e a dificuldade observada para o estabelecimento de um diagnóstico preciso levam muitas vezes ao emprego de tentativas e diagnóstico terapêutico. Os principais agentes etiológicos encontrados no Brasil são *Anaplasma platys*, *Babesia canis vogeli*, *Ehrlichia canis*, *Mycoplasma haemocanis* e, com menor frequência e importância clínica, *Anaplasma phagocytophilum*. Os altos índices pluviométricos e temperaturas elevadas, observados no Brasil, país tropical, favorecem os ciclos de vida dos artrópodes vetores de tais agentes, e tornam seu controle um grande desafio para veterinários e proprietários de animais. Os agentes etiológicos determinam manifestações clínicas inespecíficas: febre, apatia, anorexia e alterações hematológicas como trombocitopenia e anemia, o que pode dificultar ainda mais sua detecção. Este trabalho descreve a ocorrência de hematozoários em uma clínica veterinária particular no município de Lorena, São Paulo, e as principais alterações hematológicas encontradas nas avaliações dos animais acometidos pelas enfermidades.

Abstract

Hemoparasitosis, diseases that may cause clinical and hematological complications, are considered a great challenge to practitioners and clinical pathologists. Its high incidence in all Brazilian territory and the difficulty for a precise diagnosis can lead in most cases to a therapeutic diagnosis. *Anaplasma platys*, *Babesia canis vogeli*, *Ehrlichia canis*, *Mycoplasma haemocanis* and with a lower frequency and clinical relevance, *Anaplasma phagocytophilum* are the main etiological agents affecting dogs in Brazil. The climatic conditions found in several Brazilian areas, such as high rain and temperature levels, favor the arthropods vectors life cycles. This subject became an important challenge to both veterinarians and pet owners. These etiological agents determine unspecific clinical signs, such as fever, apathy, anorexia and hematological alterations like thrombocytopenia and anemia, which may make their detection even more difficult. This paper describes the occurrence of hemoparasites and the hematological results of dogs attended in a veterinarian private clinic in the municipality of Lorena, São Paulo, Brazil.

Recebido em 29 de agosto de 2018 e aprovado em 12 de abril de 2019.

Luan Gavião Prado¹

Rafael Vieira Sene²

Elisângela Camargo de Medeiros³

Letícia Maioli do Nascimento⁴

Ana Beatriz França de Faria⁵

Rua Dr. Siqueira Campos, 25 ap. 53, Liberdade
São Paulo, São Paulo/SP, Brasil
CEP: 01509-020
✉ luangprado@gmail.com



Palavras-chave

Hemoparasitose. *Anaplasma*. *Babesia*.
Mycoplasma. *Ehrlichia*.

Keywords

Hemoparasite. *Anaplasma*. *Babesia*.
Mycoplasma. *Ehrlichia*.

As doenças transmitidas por artrópodes são afecções de grande importância na clínica médica de caninos, devido à sua alta prevalência, suas consequências para o paciente, pelas diferentes características biológicas dos agentes causais e pela dificuldade do diagnóstico etiológico (LEAL *et al.*, 2015; VARGAS-HERNANDEZ *et al.*, 2016).

Dentre os hemoparasitas que afetam os cães: *Babesia canis vogeli*, *Anaplasma platys*, *Anaplasma phagocytophilum*, *Ehrlichia canis* e o *Mycoplasma haemocanis* ocupam posição de destaque. Estes agentes, embora filogeneticamente distintos, apresentam a característica comum de serem transmitidos por artrópodes (DAGNONE; SOUZA; ANDRÉ, 2009; VARGAS-HERNANDEZ *et al.*, 2016).

Anaplasma platys, *Anaplasma phagocytophilum* e *Ehrlichia canis* são bactérias Gram-negativas, intracelulares obrigatórias que fazem parte da família Anaplasmataceae (DUMLER *et al.*, 2001). *Anaplasma platys* está presente em toda a América Latina e acomete cães, raposas e inclusive o homem (AGARRA-ALVARADO *et al.*, 2014; ALMAZÁN *et al.*, 2016). *Ehrlichia canis* pode ser encontrada em todo o continente americano e apesar de algumas diferenças em sua distribuição, também está presente em todo o território brasileiro (SOARES *et al.*, 2017).

No Brasil a ocorrência da infecção de cães por hemoparasitas é superior à observada em países de clima temperado, pois o clima tropical

¹ Médico-veterinário autônomo.

² Médico-veterinário da Clínica Veterinária SOS Animal.

³ Médica-veterinária da Clínica Veterinária SOS Animal.

⁴ Médica-veterinária autônoma.

⁵ Médica-veterinária da Clínica Veterinária Vet e Pet.

observado em grande parte do território favorece o ciclo de vida do vetor *Rhipicephalus sanguineus s.l.* (SHAW, 2001; PRADO, 2014; SOARES *et al.*, 2017).

Na cidade de Campo Grande, Mato Grosso do Sul, em 181 cães com manifestações clínicas compatíveis com erliquiose ou anaplasmose canina foi encontrada uma ocorrência de 59,66% de infecções por *E. canis*, 15,46% por *A. platys* e 9,94% pelos dois agentes (SOARES *et al.*, 2017).

Em levantamento realizado na cidade do Rio de Janeiro, Brasil, Leal *et al.* (2015), constataram 64,4% de positividade para dois ou mais hematozoários em esfregaços sanguíneos de 204 cães infectados, dos quais apenas 29 apresentavam trombocitopenia. O hematozoário mais prevalente foi *A. platys*, 48,5%, seguido pelo *M. haemocanis* e pela *B. canis vogeli*.

As hemoparasitoses se apresentam, frequentemente, com manifestações clínicas inespecíficas: febre, anorexia e apatia, podendo causar edema de membros e face, ou até mesmo petéquias e equimoses. Hematologicamente pode-se observar anemia hemolítica, imunomediada ou não, trombocitopenia, leucopenia ou leucocitose. Algumas manifestações clínicas e laboratoriais podem ser mais ou menos características de acordo com o agente etiológico. A trombocitopenia é encontrada nas infecções por *Anaplasma platys* e também pode ser vista nas infecções por *Ehrlichia canis* e *Anaplasma phagocytophilum*. Já a anemia é uma alteração de maior ocorrência nos casos de infecção por *Babesia canis vogeli*. Uma ou mais alterações hematológicas podem ser observadas durante a infecção por hematozoários, porém elas não são patognomônicas (PRADO, 2014; LEAL *et al.*, 2015; VARGAS-HERNANDEZ *et al.*, 2016; SOARES *et al.*, 2017).

Este trabalho apresenta a casuística de ocorrência de hematozoários em uma clínica veterinária particular no município de Lorena, São Paulo, e destaca as principais alterações hematológicas encontradas nas avaliações dos animais acometidos pelas doenças.

Materiais e métodos

Foram utilizadas amostras de sangue encaminhadas para o setor de Patologia Clínica de uma clínica veterinária particular, após consentimento do tutor, para avaliação hematológica e pesquisa de hematozoários. O estudo foi conduzido entre os dias 1 de março de 2018 e 20 de junho de 2018.

O critério de inclusão para o estudo foi a apresentação de manifestações clínicas compatíveis com hemoparasitose: inapetência, hipertermia ou febre, êmese, prostração ou apatia. Posteriormente foi realizada a avaliação das lâminas de esfregaço de sangue periférico para detecção de hematozoários. Foram consideradas apenas as amostras nas quais foram encontradas alterações hematológicas compatíveis com a infecção pelos agentes em questão. Os animais que apresentaram as alterações clínicas citadas, mas nos quais não

houve o encontro de inclusões compatíveis com hemoparasitas ou bactérias hemotrópicas foram retirados do estudo.

O sangue dos animais foi colhido e acondicionado em tubos contendo EDTA e imediatamente encaminhados para o Setor de Patologia Clínica, onde foram realizados os esfregaços que foram corados pelo método de Romanowsky modificado (Panótico Rápido®) e avaliados em microscopia de luz em objetiva de imersão (aumento de 1.000x). Toda a extensão da lâmina foi avaliada. A metodologia utilizada para identificação dos hemoparasitas foi utilizada conforme Prado (2014), brevemente, 100 células-alvo dos principais hemoparasitas e bactérias hemotrópicas foram avaliadas. A amostra foi considerada positiva quando foram encontradas inclusões intracitoplasmáticas ou epicitoplasmáticas (*M. haemocanis*) compatíveis com o agente.

Os valores de eritrograma e plaquetograma foram obtidos por contagem celular em aparelho automático Mindray VC-2800Vet® e os valores de eritrócitos, leucócitos totais e plaquetas foram registrados para posterior análise estatística. Os dados foram registrados no software Excel® e as análises estatísticas descritivas foram realizadas pelo programa BioEstat 5.0®.

Resultados

Foram analisados os resultados de 22 amostras enviadas ao Setor de Patologia Clínica no período avaliado (Tabela 1). Tais amostras satisfizeram os critérios de inclusão. Destas, 63,64% (14/22) foram obtidas de cães machos e 36,36% (8/22) de fêmeas. Não constou no histórico dos animais o respectivo *status* reprodutivo.

A avaliação das lâminas de esfregaço sanguíneo revelou 63,64% (14/22) de infecção por *A. platys* (Figura 1), 18,18% (4/22) por *B. canis vogeli* (Figura 2), 9,09% (2/22) por *E. canis* (Figura 3), 9,09% (2/22) por *M. haemocanis* e 4,54% (1/22) amostras apresentou coinfeção por *E. canis* e *B. canis vogeli*.

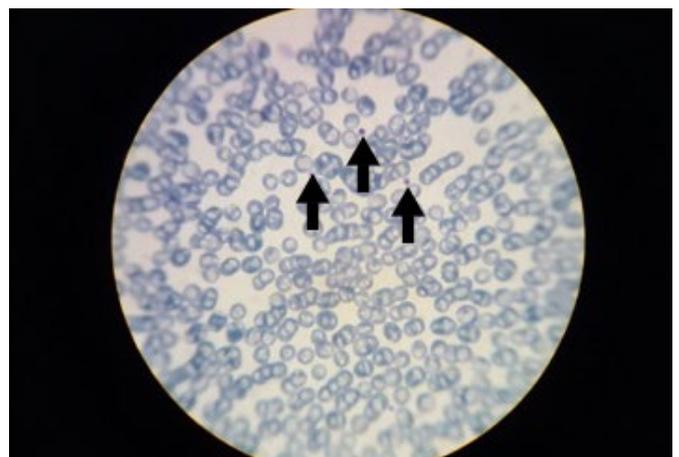


Figura 1 – Plaqueta de cão demonstrada em microscopia óptica, apresentando inclusão de característica de *Anaplasma platys* (seta) em esfregaço de sangue periférico total de cão atendido em uma clínica particular em Lorena, estado de São Paulo, Brasil. Coloração Romanowsky modificado. Aumento de 1.000 vezes em objetiva de imersão.

Fonte: Arquivo pessoal.

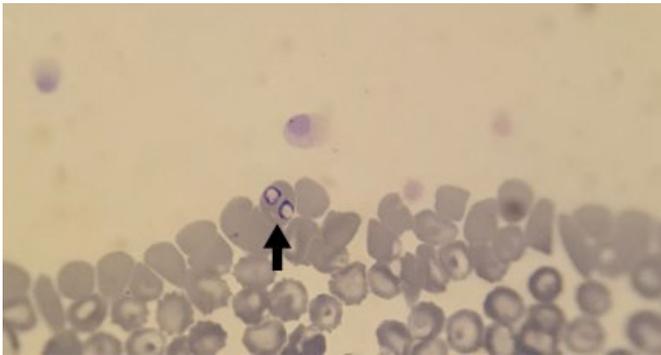


Figura 2 – Eritrócito de cão demonstrado em microscopia óptica apresentando parasitismo por *Babesia canis vogeli* (seta) em esfregaço de sangue periférico total de cão atendido em uma clínica particular em Lorena, estado de São Paulo, Brasil. Coloração Romanowsky modificado. Aumento de 1.000 vezes em objetiva de imersão.

Fonte: Arquivo pessoal.

Foram perdidas as amostras de dois animais e, portanto, as avaliações hematológicas foram realizadas em 20 animais. As duas amostras perdidas eram de animais infectados por *A. platys*.

Foi encontrada trombocitopenia em apenas três (15%) animais, infectados por *A. platys*. Em relação à contagem de eritrócitos, 12 animais (60%) apresentaram contagem

abaixo da referência para a espécie, destas, 16,66% (2/12) apresentaram infecção para *M. haemocanis*, 50% (6/12) por *A. platys*, 16,66% (2/12) por *E. canis* e 8,33% apresentaram parasitismo por *B. canis vogeli* e coinfeção por *B. canis vogeli* e *E. canis*, respectivamente.

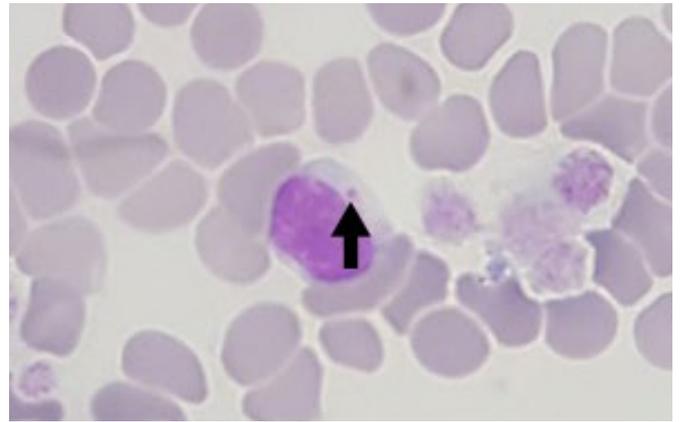


Figura 3 – Monócito de cão atendido em uma clínica particular em Lorena, estado de São Paulo, Brasil demonstrado em microscopia óptica apresentando mórula de *Ehrlichia canis* (seta) em esfregaço de sangue periférico total. Coloração Romanowsky modificado. Aumento de 1.000 vezes em objetiva de imersão.

Fonte: Arquivo pessoal.

Tabela 1 – Identificação do agente infeccioso presente nas amostras e índices hematimétricos avaliados em cães atendidos em uma clínica particular em Lorena, São Paulo, Brasil.

ANIMAL	HEMOPARASITA	WBC (/MM3)	RBC (X106)	HGB (G/DL)	HCT (%)	VCM (FL)	HCM (PG)	CHCM (G/DL)	PLT (/MM3)	SEXO
1	<i>A. platys</i>	11.900	7,57	15,5	50,5	66,8	20,4	30,6	549.000	Macho
2	<i>A. platys</i>	14.300	7,12	15	48,7	68,4	21	30,8	282.000	Fêmea
3	<i>M. haemocanis</i>	7.800	4,82	8	30,7	63,8	16,5	26	111.000	Fêmea
4	<i>B. canis</i>	6.900	5,28	12,6	39,2	74,3	23,8	32,1	143.000	Macho
5	<i>A. platys</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	Fêmea
6	<i>B. canis</i>	5.200	6,34	16,2	48,6	76,7	25,5	33,3	152.000	Macho
7	<i>A. platys</i>	15.600	5,69	13	41,3	72,7	22,8	31,4	100.000	Fêmea
8	<i>B. canis</i>	5.200	5,8	13,4	40,3	69,5	23	33,2	149.000	Macho
9	<i>M. haemocanis</i>	6.900	4,96	11,4	35,7	72	22,9	31,9	158000	Fêmea
10	<i>A. platys</i>	6.300	4,43	9,3	28,9	65,3	20,9	32,1	62000	Fêmea
11	<i>A. platys</i>	10.200	5,29	11,4	35,6	67,3	21,5	32	192000	Macho
12	<i>E. canis</i>	19.000	4,59	10,1	31	67,6	22	32,5	238000	Macho
13	<i>B. canis</i>	15.100	1,17	2,5	7,3	62,6	21,3	34,2	303000	Fêmea
14	<i>A. platys</i>	16.200	3,72	8,5	27,7	74,5	22,8	30,6	970000	Macho
15	<i>A. platys</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	Macho
16	<i>A. platys</i>	15.600	3,58	7	22,3	62,5	19,5	31,3	526000	Macho
17	<i>A. platys</i>	14.600	2,36	4	13,3	86,7	16,9	30	437000	Macho
18	<i>A. platys</i>	7.000	3,8	9,5	26,6	70,2	25	35,7	74000	Macho
19	<i>E. canis</i> + <i>B. canis</i>	8.200	4,63	10,3	31,3	67,7	22,2	32,9	153000	Macho
20	<i>A. platys</i>	5.100	3,73	7,3	27,4	73,6	19,5	26,6	125000	Fêmea
21	<i>E. canis</i>	26.500	3,89	8,1	24,5	63	20,8	33	182000	Macho
22	<i>A. platys</i>	16.200	7,77	18,5	53,7	69,2	23,8	34,4	288000	Macho

Fonte: Arquivo pessoal.

Discussão

Os resultados encontrados concordam com os de Leal *et al.* (2015), em levantamento realizado no município do Rio de Janeiro (Brasil), no qual a espécie de maior ocorrência foi o *A. platys* (48,5%), seguido por *M. canis* (12,2%) e pela *B. canis vogeli* (5,3%). Neste trabalho as ocorrências dos demais hematozoários foi distinta e o *M. haemocanis* foi a espécie com menor frequência de registro.

A maior ocorrência de *A. platys* observada neste estudo pode estar associada à grande ocorrência do vetor *Rhipcephalus sanguineus s.l.* na região, além da dificuldade observada para seu controle, uma vez que o clima tropical da região favorece o ciclo biológico do carrapato, por se tratar de uma área quente e úmida, próxima a rios e nascentes de água (SOARES *et al.*, 2017). O *R. sanguineus* também é o responsável pela transmissão dos hemoparasitas *B. canis vogeli* e *E. canis*, justificando a maior ocorrência destes três agentes nas amostras avaliadas (9,09% para ambos) (LEAL *et al.*, 2015; SOARES *et al.*, 2017).

Leal *et al.* (2015) encontraram apenas 29 animais com trombocitopenia à avaliação hematológica, em 204 amostras avaliadas (14,21%). Este trabalho encontrou valores próximos aos de Leal *et al.* (2015), com apenas 15% dos animais apresentando trombocitopenia. Apesar de o *A. platys* causar infecção em plaquetas e os demais hematozoários causarem alterações imunomediadas em células sanguíneas, ao contrário do que se pensava, a trombocitopenia não ocorre em todos os animais infectados por um ou mais agentes (PRADO, 2014).

A anemia foi encontrada em 50% dos animais avaliados. Tal alteração se dá provavelmente por mecanismos imunomediados, com a produção de anticorpos inespecíficos, que junto ao sistema complemento, levam à ativação do sistema monocítico fagocitário e maior hemocaterese. A infecção por *B. canis vogeli* também pode levar a processos anêmicos por destruição da hemácia parasitada pelo próprio parasita (ABBAS *et al.*, 2015; LEAL *et al.*, 2015; PRADO, 2014).

A avaliação da diminuição do número de hemácias segundo o agente etiológico observado revelou que os animais infectados por *A. platys* apresentaram maior ocorrência de anemia, seguidos pelos animais infectados por *M. haemocanis* e *E. canis*. Os animais parasitados por *B. canis vogeli* apresentaram diminuição na contagem de eritrócitos, o que concorda com as observações de Leal *et al.* (2015).

Conclusões

Os parasitas e bactérias hemotrópicas apresentam alta ocorrência no município de Lorena, São Paulo, sendo que a espécie *Anaplasma platys* apresentou maior frequência de ocorrência.

Diferentemente do que a maioria dos clínicos acredita ser a principal alteração hematológica presente em animais apresentando parasitismo ou infecções por hemoparasitas e bactérias hemotrópicas, a trombocitopenia foi encontrada em um número muito pequeno de animais. Já a diminuição do número de hemácias, abaixo dos valores de referência para a espécie, foi o principal achado. Assim, deve-se evitar o diagnóstico terapêutico de animais apresentando trombocitopenia como único achado hematológico. 🌐

Referências

- ABBAS, A. K. *et al.* **Imunologia celular e molecular**. 8. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2015.
- AGARRA-ALVARADO, C. M. *et al.* Molecular evidence of *Anaplasma platys* infection in two women from Venezuela. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 91, n. 6, p. 1161-1165, 2014.
- ALMAZÁN, C. *et al.* Molecular identification and characterization of *Anaplasma platys* and *Ehrlichia canis* in Mexico. **Ticks and Tick-borne diseases**, Wallingford, v. 7, n. 2, p. 276-283, 2016.
- DAGNONE, A. S.; SOUZA, A. I.; ANDRÉ, M. R. Molecular diagnosis of Anaplasmataceae organisms in dogs with clinical and microscopical signs of ehrlichiosis. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v. 18, n. 4, p. 20-25, 2009.
- DUMLER, J. S. *et al.* Reorganization of genera in the families *Rickettsiaceae* and *Anaplasmataceae* in the order *Rickettsiales*: unification of some species of *Ehrlichia* with *Anaplasma*, *Cowdria* with *Ehrlichia* and *Ehrlichia* with *Neorickettsia*, descriptions of six new species combinations and designation of *Ehrlichia equi* and 'HE agent' as subjective synonyms of *Ehrlichia phagocytophila*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, London, v. 51, p. 2145-2165, 2001.
- LEAL, P. D. S. *et al.* Infecção por hematozoários nos cães domésticos atendidos em serviço de saúde animal, Rio de Janeiro, RJ. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, Niterói, v. 37, p. 55-62, 2015. Suplemento 1.
- PRADO, L. G. **Avaliação clínica e laboratorial de equídeos sororreagentes para Anaplasma phagocytophilum (Rickettsiales: Anaplasmataceae) em Minas Gerais, Brasil**. 2014. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2014.
- SHAW, S. E. Arthropod-transmitted infectious diseases of cats. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, London, v. 3, p. 193-209, 2001.
- SOARES, R. *et al.* Molecular survey of *Anaplasma platys* and *Ehrlichia canis* in dogs from Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciência**, Rio de Janeiro, v. 89, n. 1, p. 301-306, 2017.
- VARGAS-HERNANDEZ, G. *et al.* Molecular detection of *Anaplasma* species in dogs in Colombia. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v. 25, n. 4, p. 459-464, 2016.