

Lorena Rodrigues Ramos Peres

**AVALIAÇÃO RETROSPECTIVA DAS ALTERAÇÕES
HEMATOLÓGICAS DE CÃES E GATOS COM DIAGNÓSTICO
MICROSCÓPICO SUGESTIVO DE ANAPLASMOSE**

Curitiba

2019



Lorena Rodrigues Ramos Peres

**AVALIAÇÃO RETROSPECTIVA DAS ALTERAÇÕES
HEMATOLÓGICAS DE CÃES E GATOS COM DIAGNÓSTICO
MICROSCÓPICO SUGESTIVO DE ANAPLASMOSE**

Trabalho de Conclusão do Curso de Graduação em Medicina Veterinária do Centro de Ciências Rurais da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito para a obtenção do Título de Médica Veterinária.

Orientador: Prof. Dr. Angela Patricia Medeiros Veiga.

Curitiba

2019

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Peres, Lorena Rodrigues Ramos
AVALIAÇÃO RETROSPECTIVA DAS ALTERAÇÕES HEMATOLÓGICAS DE
CÃES E GATOS COM DIAGNÓSTICO MICROSCÓPICO SUGESTIVO DE
ANAPLASMOSE / Lorena Rodrigues Ramos Peres ; orientadora,
Angela Patricia Medeiros Veiga, 2019.
27 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) -
Universidade Federal de Santa Catarina, Campus
Curitibanos, Graduação em Medicina Veterinária,
Curitibanos, 2019.

Inclui referências.

1. Medicina Veterinária. 2. Anaplasmoses. 3. Índices
plaquetários. 4. Alterações hematológicas. I. Medeiros
Veiga, Angela Patricia . II. Universidade Federal de Santa
Catarina. Graduação em Medicina Veterinária. III. Título.

Lorena Rodrigues Ramos Peres

**AVALIAÇÃO RETROSPECTIVA DAS ALTERAÇÕES
HEMATOLÓGICAS DE CÃES E GATOS COM DIAGNÓSTICO
MICROSCÓPICO SUGESTIVO DE ANAPLASMOSE**

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do Título de “Médica Veterinária” e aprovado em sua forma final pela seguinte banca examinadora:

Curitiba, 10 de julho de 2019.

Prof. Alexandre de Oliveira Tavela, Dr.
Coordenador do Curso

Banca Examinadora:

Prof.^a Angela Patrícia Medeiros Veiga, Dr.^a
Orientadora
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof.^a Rosane Maria Guimarães da Silva, Dr.^a
Membro
Universidade Federal de Santa Catarina

M.V. Mayara Vavassori
Membro
Universidade Estadual de Santa Catarina

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus e a vida por terem me proporcionado a chegar até aqui e conseguir realizar mais esse sonho.

À minha família que sempre me apoiaram, me deram força e estiveram do meu lado nos momentos difíceis durante a graduação e nunca me deixaram desistir dos meus objetivos.

Ao meu avô, Sérgio Jacobsen Rodrigues que sempre foi meu espelho de profissionalismo, excelência e amor pela Medicina Veterinária. A minha avó Sônia Maria Maciel Rodrigues e a minha mãe Janaíne Rodrigues que também sempre estiveram do meu lado para todos os momentos, bons e ruins, durante a minha vida.

A minha orientadora, Angela Patricia Medeiros Veiga, por toda a ajuda durante o período em que trabalhamos juntas no LAClin e por toda orientação com a minha monografia.

Aos meus amigos, em especial, a Priscila e a Ana Carolina que sempre estiveram do meu lado mesmo distantes.

Aos meus amigos Mariana, Maurício, Gabriela, Julia, Sinara e Pauline que se tornaram a minha família em Curitiba durante a faculdade. Obrigado por todo apoio, amizade, companheirismo por esses 5 anos, sem vocês, com certeza, essa etapa da minha vida não seria tão especial como foi. Obrigado meu amigo Maurício, por ter me apresentado a Patologia Clínica e me ajudado tanto durante o período em que trabalhamos juntos no LAClin. Você foi, sem dúvidas, grande contribuidor na minha formação como profissional.

A minha amiga Mariana, que se tornou uma irmã pra mim. Obrigado por compartilhar comigo nossos sonhos, medos e todos os momentos felizes que já passamos juntas.

A toda equipe do laboratório de Patologia Clínica da Universidade Federal do Paraná e da Universidade Estadual de Maringá que me receberam tão bem e me ensinaram tanto durante o meu período de estágio curricular. Conviver nestes dois lugares foi muito importante para mim e na minha formação como Médica Veterinária.

RESUMO

O *Anaplasma platys* é uma bactéria gram-negativa pertencente à ordem Rickettsiales, da família Anaplasmataceae e do gênero *Anaplasma* que causa a trombocitopenia cíclica em cães e gatos. Este agente é transmitido aos animais através do vetor carrapato *Rhipicephalus sanguineus*. A maioria dos portadores não apresenta sintomatologia clínica, sendo a inclusão intraplaquetária do agente um achado acidental nos esfregaços sanguíneos de rotina. Entretanto, quando estão presentes, estes sinais incluem febre, letargia, linfadenomegalia e raros casos de sangramentos, como hematoquezia, podendo estar associados com anemia e leucopenia discreta. O objetivo deste trabalho foi avaliar as alterações hematológicas e os índices plaquetários de 25 animais diagnosticados sugestivamente com anaplasmosose através do esfregaço sanguíneo durante o período de estágio curricular na Universidade Estadual de Maringá.

Palavas-chave: Índices plaquetários. Hematologia veterinária. *Anaplasma platys*. Caninos. Felinos.

ABSTRACT

Anaplasma platys is a gram-negative bacteria belonging to the order Rickettsiales, from the family Anaplasmataceae and from the genus *Anaplasma* that causes cyclic thrombocytopenia in dogs and cats. This agent is transmitted to the animals through the tick vector *Rhipicephalus sanguineus*. Most patients do not present clinical symptoms, and the intraplatelet inclusion of the agent is an accidental finding in routine blood smears; however, when they are present, these signs include fever, lethargy, lymphadenomegaly and rare cases of bleeding, such as hematochezia, with anemia and mild leukopenia. The objective of this study was to evaluate the hematological alterations and the platelet indices of 25 animals suggestively diagnosed with anaplasmosis through the blood smear during the period of curricular internship at Universidade Estadual de Maringá

Key words: Platelet índices. Veterinary hematology. *Anaplasma platys*. Dogs. Cats.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Megacariócito observado em esfregaço de medula óssea de canino corado com May Grunwald-Giemsa. Aumento de 1000x.....	16
Figura 2. Inclusão intraplaquetária sugestiva do microrganismo <i>Anaplasma platys</i> (seta). Aumento de 1000x.	18

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Valores de referência, por espécie, para trombograma, propostos para a microrregião de Curitibanos, Santa Catarina.....	23
---	----

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Porcentagem das espécies com suspeita de anaplasnose plaquetária avaliadas durante o período de abril a junho de 2019 na Universidade Estadual de Maringá.....	22
Gráfico 2. Achados laboratoriais observados nos 25 animais suspeitos de anaplasnose plaquetária avaliados no laboratório de Patologia Clínica da Universidade Estadual de Maringá.....	22
Gráfico 3. Porcentagem dos animais suspeitos de anaplasnose plaquetária, avaliados durante abril a junho de 2019 na Universidade Estadual de Maringá que apresentaram valores de VPM diminuídos e normais durante o estudo.....	24
Gráfico 4. Porcentagem dos animais suspeitos de anaplasnose plaquetária, avaliados durante abril a junho de 2019 na Universidade Estadual de Maringá que apresentaram valores de PDW diminuídos e normais durante o estudo.....	25

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
2.1. PLAQUETAS	15
2.1.1. PARAMÊTROS PLAQUETÁRIOS	17
2.2. ANAPLASMOSE OU TROMBOCITOPENIA CÍCLICA.....	18
2.2.1. PATOGENIA.....	19
2.2.2. DIAGNÓSTICOS DA ANAPLASMOSE	20
2.2.2.1. DIAGNÓSTICO PRESUNTIVO POR ESFREGAÇO SANGUÍNEO.....	20
2.2.2.2. DIAGNÓSTICO SOROLÓGICO.....	20
2.2.2.3. DIAGNÓSTICO MOLECULAR.....	20
3. MATERIAL E MÉTODOS	21
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	21
5. CONCLUSÃO.....	25
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	27

1. INTRODUÇÃO

A anaplasmosse trombocítica é causada por uma bactéria gram-negativa pertencente à ordem Rickettsiales, da família Anaplasmataceae e do gênero *Anaplasma*. O agente etiológico desta doença é conhecido como *Anaplasma platys* (FERREIRA et al., 2008).

Ela se caracteriza por uma parasitemia nas plaquetas e linfadenopatia generalizada. Essa doença causa uma trombocitopenia cíclica há cada 7 a 14 dias e retorna ao valor de referência normal das plaquetas em aproximadamente quatro dias. Raramente os animais acometidos apresentam casos de hemorragia, a não ser que ocorra uma redução muito severa no número plaquetário, porém, na maioria das vezes eles permanecem assintomáticos. Na sua fase aguda, observa-se o quadro de trombocitopenia cíclica devido à infecção das plaquetas, já na fase crônica, o parasitismo destas células diminui, ocorrendo parasitismo esporádico e valores normais das plaquetas (SOUSA, 2006).

O *Anaplasma platys* pode ser visualizado em esfregaços sanguíneos, corados com Giemsa ou no próprio Panótico Rápido, como inclusões basofílicas no interior das plaquetas. Ele é transmitido aos animais através do vetor carrapato conhecido como *Rhipicephalus sanguineus* (SOUZA et al., 2004).

A trombocitopenia pode ser avaliada a partir do esfregaço sanguíneo, câmaras hematimétricas ou pelos contadores automáticos que emitem a contagem total de plaquetas (PLT). A automatização também fornece outros índices plaquetários como o volume plaquetário médio (VPM) e a medida da variabilidade do tamanho das plaquetas ou *platelet distribution width* (PDW). Esses parâmetros são usados na medicina humana para avaliar se há indícios de regeneração plaquetária, porém, eles ainda são pouco conhecidos na rotina veterinária e há pouca literatura sobre a aplicação deles para animais.

O objetivo da presente monografia foi avaliar os índices plaquetários e as alterações hematológicas de 25 animais, dentre eles, cães e gatos, que tiveram o diagnóstico sugestivo de *Anaplasma* spp., a partir da visualização em esfregaços sanguíneos da possível inclusão do agente nas plaquetas, avaliados durante o período de estágio curricular obrigatório na Universidade Estadual de Maringá.

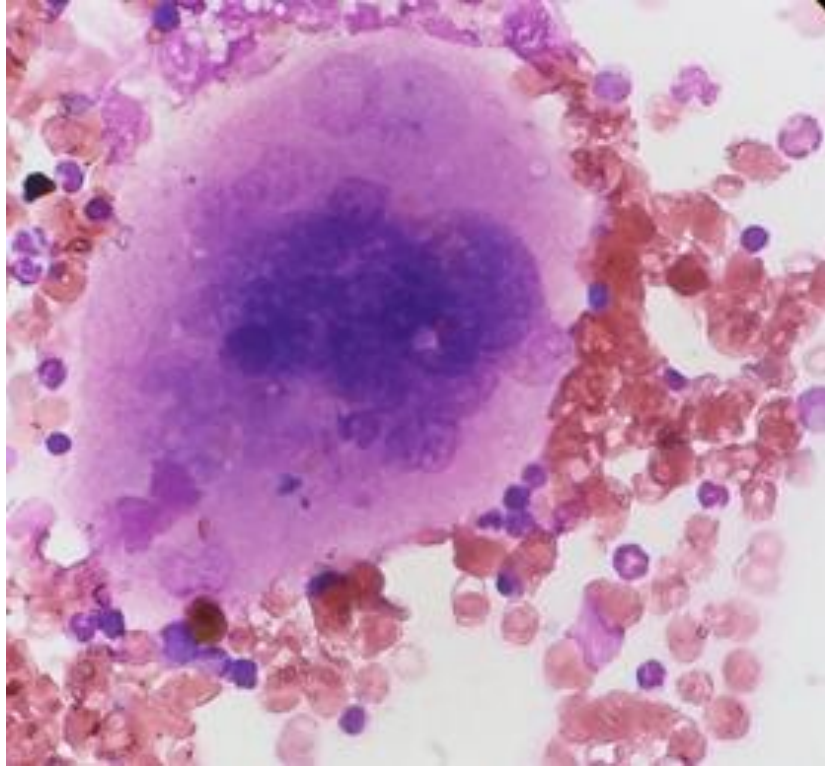
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. PLAQUETAS

As plaquetas são originadas na medula óssea a partir de uma célula pluripotencial que vai dar origem à linhagem megacariocítica. Essa formação inicia-se pelo megacarioblasto, a qual é a primeira célula da linhagem, seguido pelo pró-megacariócito e megacariócito (Figura 1).

Pequenos fragmentos do citoplasma desta última célula são liberados na corrente sanguínea dando origem às plaquetas, que possuem cerca de 2 a 5µm de diâmetro e se apresentam como pequenas estruturas circulares com grânulos vermelhos (DIAZ GONZÁLEZ; SILVA, 2008).

Figura 1. Megacariócito observado em esfregaço de medula óssea de canino corado com May Grunwald-Giemsa. Aumento de 1000x.



Fonte: Arquivo pessoal.

A liberação das plaquetas na circulação sistêmica é mediada pelo estímulo da trombopoetina e também pela eritropoietina, após isso, em torno de 3 a 5 dias, novas plaquetas estão presentes no sangue e possuem uma vida média de 8 dias, já que um terço delas são sequestradas pelo baço (DIAZ GONZÁLEZ; SILVA, 2008).

A função destes elementos corresponde à manutenção da hemostasia, por meio da interação entre plaquetas e as células endoteliais. Esse processo depende da manutenção da integridade vascular, bem como da adesão e agregação plaquetária. A liberação das plaquetas pela medula óssea ocorre simultaneamente a determinados estímulos e circunstâncias. A alteração de qualquer uma destas etapas pode ocasionar desordens hemorrágicas (DIAZ GONZÁLEZ; SILVA, 2008).

A contagem das plaquetas pode ser realizada manualmente, por estimativa através do esfregaço sanguíneo, câmaras hematimétricas ou a partir de contadores automatizados. Os valores de referência normais destas células são variados entre as espécies animais, nos quais os menores valores são observados nos equinos e os maiores nos bovinos. Os animais com

trombocitopenia não apresentam sangramentos espontâneos até que a contagem seja menor ou igual a 10.000 plaquetas/ul (THRALL, 2007).

Distúrbios na produção, na distribuição ou devido à destruição destes elementos podem acarretar sua diminuição na circulação sanguínea. Causas como hipoplasia das células hematopoiéticas primordiais, alterações medulares e trombocitopoese ineficaz são quadros que implicam na redução da produção das plaquetas. Já a sua destruição, pode estar relacionada com distúrbios imunológicos ou outras doenças (THRALL, 2007), como a anaplasnose.

2.1.1. PARAMÊTROS PLAQUETÁRIOS

Com a automação da patologia clínica veterinária houve a possibilidade de novas avaliações laboratoriais que auxiliam no diagnóstico clínico. O uso de analisadores hematológicos automáticos oferece facilidade na observação de parâmetros sanguíneos que ainda não são muito conhecidos na rotina veterinária, como os índices plaquetários (FERREIRA et al., 2011). Os índices eritróides já são bem estabelecidos atualmente para avaliação da resposta medular a anemias e a doenças, entretanto, a linhagem megacariocítica possui dados escassos, limitando-se à avaliação da medula óssea para estipular a regeneração plaquetária (SILVA, 2009).

Exceto a contagem de plaquetas (PLT), que já tem valores bem estabelecidos, os outros índices, como volume plaquetário médio (VPM), amplitude de distribuição plaquetária (PDW) e plaquetócrito (PCT), são parâmetros que apresentam poucos valores de referência no Brasil (MEZARROBA et al., 2018), assim, pouco se conhece sobre a variação destes parâmetros na saúde e na doença do animal.

Na medicina humana, estes índices já vêm sendo utilizados na rotina clínica dos hospitais. O volume plaquetário médio (VPM) é um importante marcador de resposta medular, atividade e função plaquetária, sendo muito importante na avaliação de várias doenças, tais como leucemia mielóide aguda, leucemia linfóide aguda, *diabetes mellitus* e outras doenças onco-hematológicas. O VPM corresponde à média dos volumes de todas as plaquetas contadas e apresenta uma correlação inversa com a contagem de plaquetas (MONTEIRO, 2017).

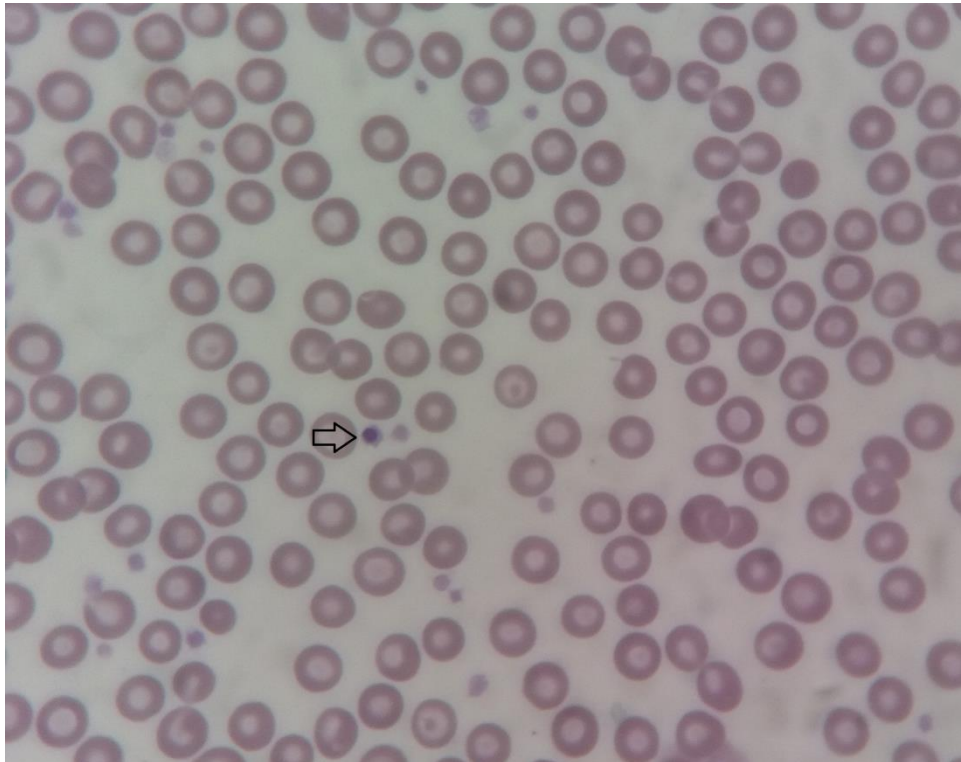
O PCT é o equivalente plaquetário do hematócrito, e corresponde ao volume total de plaquetas num determinado volume de sangue, estando diretamente relacionado com a contagem total de plaquetas e com seu volume. Por outro lado, a amplitude de distribuição plaquetária (PDW) é calculada a partir do histograma de distribuição do tamanho plaquetário (MONTEIRO, 2017).

Como o *Anaplasma platys* parasita as plaquetas e pode causar distúrbios de hemostasia e na sua morfologia, acredita-se que esse agente pode causar alterações nos parâmetros trombométricos que serão avaliados.

2.2. ANAPLASMOSE OU TROMBOCITOPENIA CÍCLICA

O *Anaplasma platys* é uma bactéria gram-negativa intracelular obrigatória de plaquetas. Ele foi descrito pela primeira vez em cães nos Estados Unidos em 1978 (HARVEY; SIMPSON; GASKIN, 1978). No Brasil, o agente vem sendo observado nos esfregaços sanguíneos a partir da visualização sugestiva da inclusão e também por exames moleculares (SANTOS et al., 2009).

Figura 2. Inclusão intraplaquetária sugestiva do microrganismo *Anaplasma platys* (seta). Aumento de 1000x.



Fonte: Arquivo pessoal.

Como já citado anteriormente, esta doença é responsável por um quadro clínico denominado trombocitopenia cíclica canina e felina (DUMLER et al., 2001) e, além disto, ela causa também uma linfadenomegalia generalizada após um período de incubação de 8 a 15 dias do agente (DAWSON et al., 1991).

A maioria dos animais acometidos não apresenta nenhuma sintomatologia clínica. Porém, quando presentes, estes sinais incluem febre, letargia e raramente ocorrem quadros de sangramentos, sendo a hematoquezia o mais relatado. Os casos mais graves geralmente estão associados com outros hemoparasitos ou com outras doenças concomitantes. No entanto,

cepas mais patogênicas já foram descritas causando sinais como palidez de mucosas, petéquias, perda de peso e linfadenomegalia (GONÇALVES; BOTTEON, 2015).

A trombocitopenia é o achado laboratorial mais comum associado a esse patógeno, porém, em alguns casos, pode-se encontrar anemia e leucopenia discreta. Além da injúria direta às plaquetas, pode ocorrer processo imunomediado, agravando o quadro de trombocitopenia e piorando a resposta do animal ao tratamento (GONÇALVES; BOTTEON, 2015).

Já em relação aos felinos, o diagnóstico de hemoparasitoses, como anaplasmose e erlichiose é escasso, em comparação com os hemoplasmas, isto pode estar relacionado com vários fatores, incluindo o pouco conhecimento sobre as doenças transmitidas por carrapatos nesta espécie, menor patogenicidade dos agentes comparados a outros animais ou, remoção rápida dos carrapatos através da lambadura frequente, resultando na diminuição da oportunidade de transmissão destas doenças, porém, elas também estão presentes nesta espécie (STUBBS et al., 2000).

2.2.1. PATOGENIA

A transmissão desta doença ocorre principalmente pelo carrapato conhecido como *Rhipicephalus sanguineus*, porém, a contaminação também pode acontecer via transfusão sanguínea de um animal infectado para outro sadio. Os animais parasitados desenvolvem a trombocitopenia cíclica, com uma ou duas semanas de duração. O ciclo de vida deste agente ainda não é completamente elucidado (GASPARNI et al., 2008).

Estima-se que a prevalência de infecção por *A.platys* no Brasil varie em torno de 10% a 18% e os animais infectados geralmente apresentam sinais clínicos brandos ou são assintomáticos (AGUIAR, 2015).

Este patógeno também pode causar uma redução da agregação plaquetária associada a uma trombocitopenia regenerativa. Durante a fase aguda da doença a medula óssea pode responder com uma hiperplasia megacariocítica, podendo ocorrer hipergamaglobulinemia com elevação dos valores de IgM e IgA, redução dos níveis de ferro e da sua capacidade de fixação. As inclusões não são observadas nos dias em que ocorre a trombocitopenia. Esse quadro permanece acentuado por um período de tempo para posteriormente tornar-se brando (GASPARNI et al., 2008).

O microorganismo *Anaplasma platys* não é considerado um agente muito patogênico ou um importante causador de doença. As inclusões intraplaquetárias geralmente são um achado acidental no esfregaço sanguíneo dos animais acometidos (BREITSCHWERDT et al., 1997).

Os felinos são menos predispostos às infestações por carrapatos e aos parasitas transmitidos por esses artrópodes do que os caninos. Além disso, os gatos têm uma suposta resistência inata ou adaptação às infecções, o que limita o desenvolvimento das doenças ou compromete a transmissão de agentes infecciosos entre carrapatos a esta espécie (SHAW et al. 2005).

2.2.2. DIAGNÓSTICOS DA ANAPLASMOSE

2.2.2.1. DIAGNÓSTICO PRESUNTIVO POR ESFREGAÇO SANGUÍNEO

A inclusão intraplaquetária do *Anaplasma platys* pode ser diagnosticada sugestivamente a partir do esfregaço sanguíneo ou em uma lâmina elaborada da capa leucocitária corados com Giemsa, Wright ou Panótico Rápido. Esse método possibilita a visualização da mórula da bactéria de forma mais fácil e prática, porém, nem sempre estão presentes e não é uma forma de diagnóstico definitivo deste agente (INOKUMA et al., 2001).

2.2.2.2. DIAGNÓSTICO SOROLÓGICO

Existem também muitos testes sorológicos disponíveis no mercado para a detecção de microrganismos da família Anaplasmataceae, como o teste por fixação de complemento, hemaglutinação indireta, Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI), Ensaio Imunoenzimático (ELISA), Dot-blot ELISA e Western blot. Destes, o mais utilizado é a RIFI que foi desenvolvida para a detecção de anticorpos séricos, entretanto, neste teste, ocorre um grande número de reações cruzadas originadas por antígenos comuns com os outros patógenos desta família (TRAPP et al., 2006).

2.2.2.3. DIAGNÓSTICO MOLECULAR

Esta forma de diagnóstico é feita a partir da reação em cadeia pela polimerase (PCR), sendo considerada a de maior sensibilidade para esta doença, possibilitando até a classificação taxonômica deste agente e de outros patógenos infecciosos. Ela também auxilia na identificação dos carrapatos que podem servir de vetores para esta doença, quais animais que apresentavam altos títulos de anticorpos na RIFI foram tratados com sucesso e também distinguem pacientes que permanecem com infecção persistente (BROWN et al., 2005).

Além disto, a PCR auxilia na detecção de novas cepas ou variantes circulantes e permite a detecção precoce da infecção. Para realização desta análise utiliza-se sangue total ou frações celulares, medula óssea e carrapatos (VINASACO et al., 2007).

3. MATERIAL E MÉTODOS

Durante o estágio curricular obrigatório na Universidade Estadual de Maringá, foram observadas acidentalmente, no esfregaço sanguíneo de 25 animais que vieram para avaliação laboratorial de rotina da clínica médica de pequenos animais, mórulas intraplaquetárias sugestivas de *Anaplasma* spp.

A partir disso, objetivou-se determinar a prevalência das espécies acometidas, as alterações eritrocitárias, leucocitárias e plaquetárias presentes nos animais que apresentavam tais inclusões, onde se avaliou a presença ou não de anemia, se os valores dos leucogramas caracterizavam leucopenia/leucocitose ou normalidade, bem como os índices plaquetários, em que foi observada a presença de trombocitopenia, trombocitose ou normalidade, VPM e PDW.

As amostras submetidas à avaliação hematológica foram analisadas primeiramente pelo contador hematológico automático. Após, foi preenchido um capilar com sangue, utilizado para fazer o esfregaço sanguíneo, o mesmo sendo microcentrifugado durante 5 minutos para posteriormente avaliar o hematócrito no animal na escala de hematócrito e as proteínas totais por refratometria. Nas amostras suspeitas de hemoparasitoses, obrigatoriamente eram realizados um *squash* da capa leucocitária do animal a partir do capilar já confeccionado anteriormente. E, por fim, após o preparo das lâminas de esfregaço sanguíneo e das capas leucocitárias, os materiais foram corados com Panótico Rápido, fazendo a imersão das lâminas por 15 segundos em cada reagente do corante para avaliação microscópica.

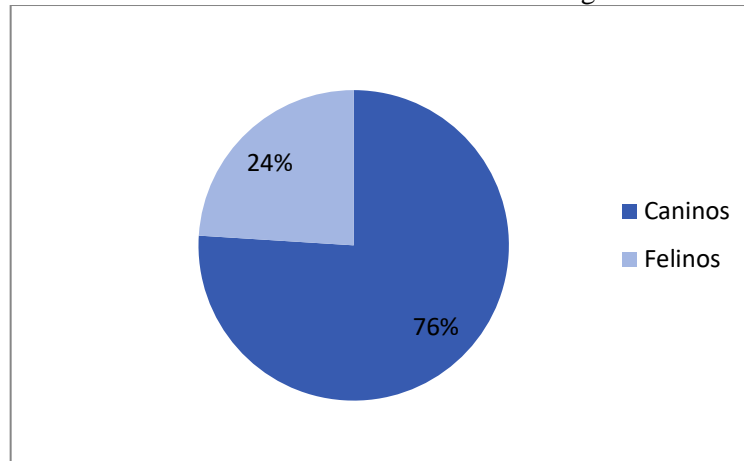
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 25 animais avaliados, 76% correspondiam à espécie canina e 24% à espécie felina (Gráfico 1). A frequência de anaplasmoses é muito maior em cães do que em gatos, devido a possível menor patogenicidade dos agentes nesta espécie comparados a outros animais ou pelo fato de ocorrer uma remoção rápida dos carrapatos através da lambertura frequente, resultando na diminuição da oportunidade de transmissão destas doenças, porém, elas também estão presentes nos felinos (STUBBS et al., 2000).

Em relação aos achados laboratoriais, iniciando pelo eritrograma, 10 (40%) animais apresentaram valores normais e 15 (60%) estavam anêmicos. No leucograma, 15 (60%) animais apresentaram valores leucocitários dentro do limite de referência estabelecido, 4 (16%) estavam leucopênicos e 6 (24%) com leucocitose. No trombograma, 20 (80%) animais encontraram-se com os valores plaquetários normais, 4 (16%) com trombocitopenia e 1 (4%) com trombocitose. Dos 25 animais avaliados, em 22 (88%) deles foi possível a observação de

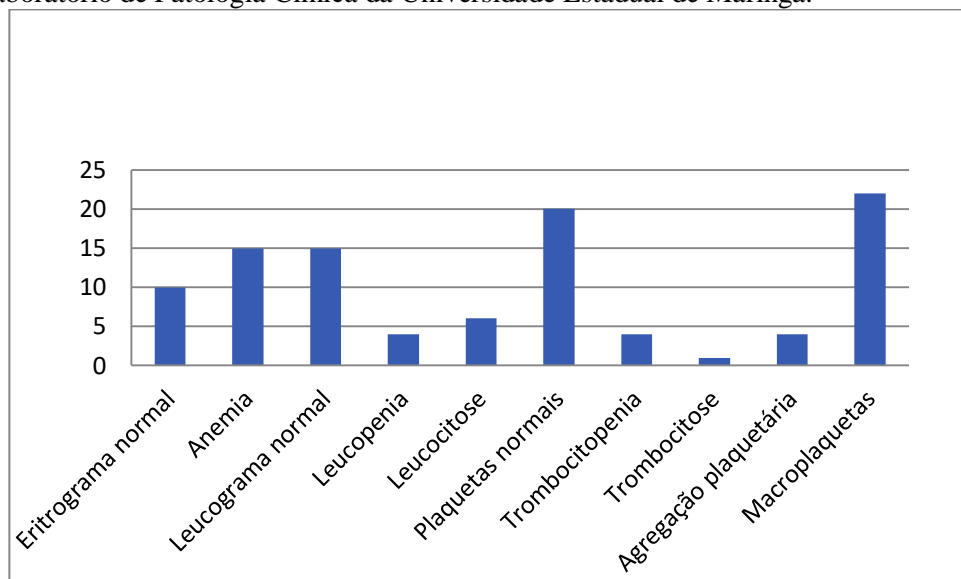
grande quantidade de macroplaquetas durante a avaliação do esfregaço sanguíneo e em apenas 4 (16%) foi relatado a presença de agregados plaquetários. Estes valores estão demonstrados no gráfico 2.

Gráfico 1. Porcentagem das espécies com suspeita de anaplasmose plaquetária avaliadas durante o período de abril a junho de 2019 na Universidade Estadual de Maringá.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Gráfico 2. Achados laboratoriais observados nos 25 animais suspeitos de anaplasmose plaquetária avaliados no laboratório de Patologia Clínica da Universidade Estadual de Maringá.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Segundo GONÇALVES & BOTTEON (2015), a trombocitopenia é o achado laboratorial mais comum associado a esse patógeno, devido à injúria direta que ele causa nas plaquetas ou por causa de processos imunomediados que agravam esse quadro, em alguns casos, também podendo se observar anemia e leucopenia. Os casos mais graves geralmente estão associados com outros hemoparasitas ou com doenças concomitantes, como foi possível observar no presente estudo, em que 48% dos animais avaliados apresentavam co-infecção de *Anaplasma spp.* com *Ehrlichia spp.*, *Babesia spp.* ou *Mycoplasma spp.*, 40% apresentavam outras doenças concomitantes e, 12% eram animais saudáveis sem histórico de afecções anteriores.

O fato de a maioria dos animais avaliados apresentarem enfermidades concomitantes com a presença do *Anaplasma* spp. impossibilita a interpretação das alterações eritróides e leucocitárias encontradas, visto que não se pode afirmar se é o microrganismo que está causando tais desordens ou uma causa secundária. Como foi citado anteriormente por BREITSCHWERDT et al. (1997), este agente não é considerado um importante causador de doença, sendo geralmente um achado acidental nos esfregaços sanguíneos.

Essa bactéria também pode ocasionar uma redução da agregação plaquetária associada com uma trombocitopenia regenerativa (GASPARNI et al., 2008). Como foi observado que apenas 4 animais do estudo apresentaram agregação plaquetária, este fato pode ter sido relacionado com a presença do hemoparasita, visto que esta alteração é muito comum, sendo decorrente de coletas demoradas, estressantes, ou mal armazenamento da amostra. Outro ponto citado por GASPARNI et al. (2008), é a impossibilidade de se observarem as inclusões nos dias em que ocorre a trombocitopenia, porém, durante a avaliação, a inclusão sugestiva do microrganismo foi relatada em 4 animais que se apresentavam trombocitopênicos.

A presença de macroplaquetas ou megaplaquetas indica regeneração plaquetária, uma atividade trombopoética ativa, secundária a uma possível destruição ou por causa de consumo plaquetário (MYLONAKIS et al., 2008). Devido a isto, a presença de macroplaquetas, tanto nos animais trombocitopênicos, quanto nos animais com trombograma normal, pode estar relacionada com uma regeneração plaquetária, devido à destruição causada pelo parasita *Anaplasma* spp.

Neste estudo, também foram avaliados os índices plaquetários dos animais presentes, como volume plaquetário médio (VPM) e amplitude de variação das plaquetas ou PDW (*Platelet Distribution Width*), a fim de observar se a presença do microrganismo nas plaquetas causa alguma alteração nesses parâmetros. Para comparação de resultados, foram utilizados os valores de referência propostos por MEZARROBA et al., (2018), que estão descritos na tabela abaixo.

Tabela 1. Valores de referência, por espécie, para trombograma canino e felino, propostos para a microrregião de Curitiba, Santa Catarina.

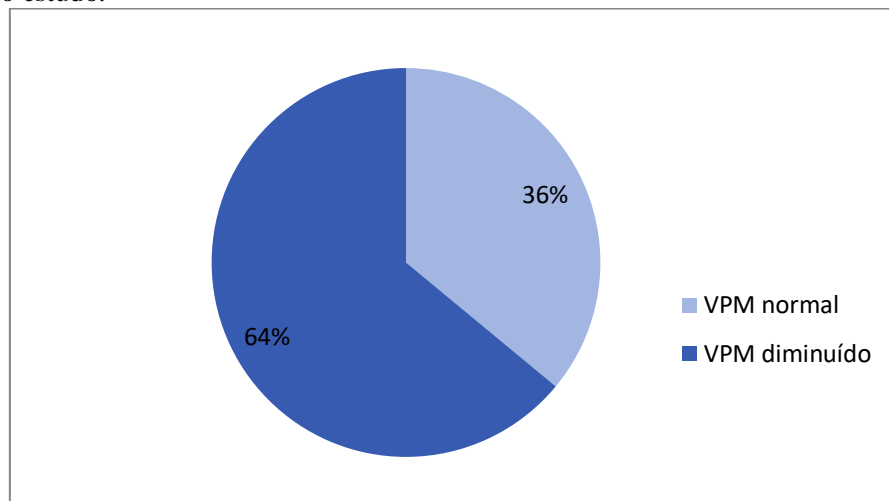
Espécie	VPM (fl)	PDW (%)
Canino	7,44-10,71	15,32-16,82
Felino	8,07-11,74	15,21-17,32

Fonte: Adaptado de MEZARROBA et al., 2018.

Dos animais avaliados, 16 (64%) apresentaram valores de VPM (volume plaquetário médio) abaixo do valor de referência estipulado e 9 animais (36%) apresentaram valores

normais (Gráfico 3). Segundo GENTRY et al. (2008), este índice está relacionado com o grau de diferenciação e maturação do megacariócito, um aumento no VPM, em condições em que há aumento da produção plaquetária, é mediado por várias citocinas (interleucinas 6, 11 e trombopoetina) que afetam a diferenciação megacariocítica e resultam em uma maior produção de plaquetas grandes. Este achado é favorável em pacientes trombocitopênicos, pois ele indica trombopoiese ativa, ocasionando uma regeneração plaquetária. Entretanto, mesmo os animais do estudo apresentando macroplaquetas na circulação, em nenhum deles observou-se aumento deste índice, o que pode indicar que estes pacientes não estavam apresentando regeneração plaquetária ou, que pode ter ocorrido alguma interferência na amostra que levou a falsos resultados deste parâmetro como tempo decorrente até a análise da amostra, tipo de anticoagulante, presença de agregação plaquetária e temperatura de estocagem do material.

Gráfico 3. Porcentagem dos animais suspeitos de anaplasmoze plaquetária, avaliados durante abril a junho de 2019 na Universidade Estadual de Maringá que apresentaram valores de VPM diminuídos e normais durante o estudo.



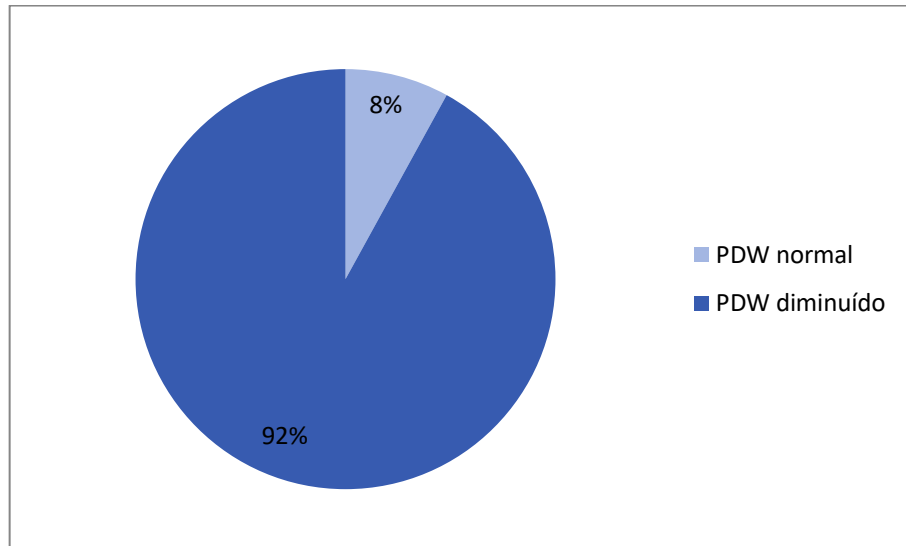
Fonte: Elaborado pelo autor.

Sobre a amplitude de variação plaquetária (PDW ou *Platelet Distribution Width*), 23 (92%) animais apresentaram os valores abaixo dos limites de referência enquanto que apenas 2 (8%) animais se apresentaram dentro dos valores normais (Gráfico 4). Este parâmetro é uma avaliação da anisocitose plaquetária, calculada a partir de volumes plaquetários individuais.

Segundo COMAR & SILVA, 2009, um PDW aumentado indica plaquetas com variados tamanhos e, um valor abaixo do índice de referência sugere uma população homogênea das plaquetas. Mesmo com a presença de macroplaquetas, os animais apresentaram homogeneidade nos tamanhos plaquetários. Na avaliação das hemácias, a anisocitose é um possível marcador de regeneração, o que também serve para as plaquetas. A partir da interpretação dos resultados obtidos os animais não estavam apresentando

regeneração plaquetária, tanto os trombocitopênicos quanto os que apresentavam as plaquetas normais.

Gráfico 4. Porcentagem dos animais suspeitos de anaplasiose plaquetária, avaliados durante abril a junho de 2019 na Universidade Estadual de Maringá que apresentaram valores de PDW diminuídos e normais durante o estudo.



Fonte: Elaborado pelo autor.

A avaliação desses parâmetros pode ser muito útil para interpretação de possível ativação plaquetária em resposta a uma trombocitopenia ou a uma injúria direta nas plaquetas, como por exemplo, de acordo com Russel (2010), na medicina humana, pode-se observar o aumento de PDW em pacientes com trombocitopenia imunomediada quando comparado a pacientes com trombocitopenia consequente de uma aplasia de medula. Devido a isto, esse índice pode ser útil para diferenciar trombocitopenias hiperdestrutivas de hipoprodutivas.

Entretanto, a literatura ainda é escassa e não existe uma padronização da plaquetometria em cães e gatos na Medicina Veterinária, devido ao fato de estes parâmetros virem sendo estudados recentemente. É necessário que haja mais estudos para poder avaliar com maior segurança estes índices, para que sejam aplicados na rotina clínica. Martinho (2012) também ressalta que os valores de VPM e PDW variam de acordo com diferentes analisadores, sendo necessário que cada laboratório estabeleça seus próprios valores de referência para uma avaliação mais fidedigna.

5. CONCLUSÃO

A partir deste estudo, pode-se concluir que o microrganismo *Anaplasma platys* geralmente é um achado acidental no esfregaço sanguíneo dos animais e que não é um potencial causador de doenças além da trombocitopenia cíclica e que os casos mais graves estão associados a outras hemoparasitoses ou outras doenças sistêmicas. Porém, baseado na avaliação dos índices plaquetários constatou-se que os animais que apresentaram a inclusão

sugestiva do microrganismo em suas plaquetas não apresentam regeneração plaquetária. Entretanto, como a maioria dos pacientes apresentaram uma afecção secundária e que os valores de VPM e PDW podem alterar de acordo com a região analisada e com cada avaliador hematológico, esses resultados podem não ser fidedignos com a realidade do paciente.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGUIAR, D.M. **Erliquioses**. In: JERICÓ, M. M.; ANDRADE NETO, J. P.; KOGIKA, M. M. Tratado de medicina interna de cães e gatos. [S.l: s.n.], p. 2329-2349, 2015.
- BREITSCHWERDT, E.B.; HEGARTY, B. C.; HANCOCK, S.I. **Doxycycline hyclate treatment of experimental canine ehrlichiosis followed by challenge inoculation with two Ehrlichia canis strains**. American Society for Microbiology, v.42, n.2, p.362-368, 1997.
- BROWN, G.K.; MARTIN, A.R.; DUNSTAN, R.H. **Molecular detection of Anaplasma platys in lice collected from dogs in Australia**. Australian Veterinary Journal. v. 83 p. 101-102. 2005.
- COMAR, S.R.; SILVA, P.H. **Determinação laboratorial e aplicação clínica dos parâmetros de volume plaquetário**. Revista Brasileira de Análises Clínicas, v.41, n.4, p. 257-265. 2009.
- DAWSON, J. E.; ANDERSON, B. E.; FISBEIN, D. B.; SANCHEZ, J. L.; GOLDSMITH, C. S.; WILSON, K. H.; DUNTLEY, C. W. **Isolation and Characterization of an Ehrlichia sp. from a patient diagnosed with human Ehrlichiosis**. Journal of Clinical Microbiology, v. 29, n. 12, p. 2741-2745, 1991.
- DIAZ GONZÁLEZ, F.H.; SILVA S.C. **Patologia Clínica Veterinária: Texto Introdotório**. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2008. 347 p.
- DUMLER, J. S.; BARBET, A. F.; BEKKER, C. P.; DASCH, G. A.; PALMER, G. H.; RAY, S. C.; RIKIHISA, Y.; RURANGIRWA, F. R. **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 'HGE agent' as subjective synonyms of Ehrlichia phagocytophila**. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, v. 51, p. 2145-2165, 2001.
- FERREIRA, G.S.; CARLOS, G.; MASSON, I.H.; GALVÃO, A.L.B.; LÉGA, E.; MENESES, A.M.C.; SOUZA, A.M.A. **Determinação de novos parâmetros do hemograma em cães saudáveis da região norte do brasil**. Arch Vet Sci, v.16, n. 2, p.35-40, 2011.
- FERREIRA, R. F.; CERQUEIRA, A. M. F.; PEREIRA, A. M.; VELHO, P. B.; AZEVEDO, R.; RODRIGUES, I. L.; ALMOSNY, N. R. P. **Avaliação da ocorrência de reação cruzada em cães PCR positivos para Anaplasma platys testados em ELISA comercial para detecção de anticorpos de Anaplasma phagocytophilum**. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, v. 17, n.1, p. 5-8, 2008.
- GASPARNI, M.R.; COELHO, A. L. M.; JOJIMA, F. S.; VIDOTTO, M. C.; VIDOTTO, O. **Ocorrência de Ehrlichia canis e Anaplasma platys em cães de uma população hospitalar em Londrina, Paraná**. In: Program & Resumos do XV Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária, II Seminário de Parasitologia Veterinária dos países do Mercosul. XV Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária. Curitiba, v. 15, 2008.

GENTRY, P.; BURGESS, H.; WOOD, D. **Hemostasis**. In: KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 6^oed. Elsevier Inc: EUA. p. 287-330. 2008.

GONÇALVES, S.; BOTTEON, K.D.; **Hemoparasitoses em Cães e Gatos: Do diagnóstico à prevenção**. Agener União Saúde Animal, Boletim Pet, v.02, p.24, 2015.

HARVEY, J.W; SIMPSON, C.F.; GASKIN, J.M. **Cyclic thrombocytopenia induced by a Rickettsia like agent in dogs**. *Journal Infectious Disease*, v. 137, n. 2, p. 182-188, 1978.

INOKUMA, H.; OHNO, K.; ONISHI, T.; RAOULT, D.; BROUQUI, P. **Detection of ehrlichial infection by PCR in dogs from Yamaguchi and Okinawa Prefectures, Japan**. *The Journal of Veterinary Medical Science*, v. 63, p. 815-817, 2001.

MARTINHO, M.S.C. **Hematologia em laboratório clínico: coleção 156 perguntas e respostas**. São Paulo: SARVIER, 2012.

MEZAROBA, M. E.; THOMÉ, J.; PERES, L.R.R.; RODRIGUES, G.; VEIGA, A.P.M.; **Novos valores de referência veterinários para volume plaquetário médio (MVP), amplitude de distribuição plaquetária (PDW) e plaquetócrito (PCT) na microrregião de Curitiba**. *RBAC*, 2018, 50.2: 171-3.

MONTEIRO, L. **Valores de referência dos índices plaquetários e construção de algoritmo para liberação do plaquetograma**. *RBAC*, 2017, 49.3: 263-7.

MYLONAKIS, M.E.; LEONTIDES, L.; FARMAKI, R.; KOSTOULAS, P.; KOUTINAS, A.F.; CHRISTOPHER, M. **Effect of anticoagulant and storage conditions on platelet size and clumping in a healthy dogs**. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, v.20, p.774-779, 2008.

RUSSEL, K.E. **Platelet kinetics and laboratory evaluation of thrombocytopenia**. In: Weiss DJ, Wardrop K. *Schalm's Veterinary Hematology*. 6^oed. Blackwell Publishing Company; Iowa. P. 576-585. 2010.

SANTOS, F.; COPPEDE, J. S.; PEREIRA, A. L.; OLIVEIRA, L. P.; ROBERTO, P. G.; BENEDETTI, R. B.; ZUCOLOTO, L. B.; LUCAS, F.; SOBREIRA, L.; MARINS, M. **Molecular evaluation of the incidence of Ehrlichia canis, Anaplasma platys and Babesia spp. in dogs from Ribeirão Preto, Brazil**. *The Veterinary Journal*, London, v. 179, n. 1, p. 145-148, 2009.

SHAW, S.E.; BINNS, S.H.; BIRTLES, R.J.; DAY, M.J.; SMITHSON, R.; KENNY, M.J. **Molecular evidence of tick-transmitted infections in dogs and cats in the United Kingdom**. *Vet. Rec.* 157(21):645-648, 2005.

SILVA, L.F.N. **Plaquetas reticuladas na avaliação da trombopoiese medular em cães** [dissertação]. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, da Universidade Estadual Paulista, UNESP, 2009.

SOUSA, V.R.F. **Avaliação clínica, morfológica, hematológica, bioquímica e biomolecular e cães naturalmente infectados por Ehrlichia canis e Anaplasma platys.** Tese de Doutorado, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. 2006, 58p.

SOUZA, A. I.; DAGNONE, A. S.; MACHADO, R. Z. **Infecção por Anaplasma platys em cães de Campo Grande – MS.** Brazilian Journal of Veterinary Parasitology, São Paulo, v. 13, p. 352, 2004.

STUBBS C.J., HOLLAND C.J. & REIF J.S. 2000. **Feline ehrlichiosis.** Comp. Cont. Educ. Pract. Vet. 22:307-317.

THRALL, M. **Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária 1.** ed. Roca: São Paulo, p. 181, 2007.

TRAPP, S. M.; DAGNONE, A. S.; VIDOTTO, O.; FREIRE, R. L.; AMUDE, A. M.; MORAIS, H.S.A. **Seroepidemiology of canine babesiosis and ehrlichiosis in a hospital population.** Veterinary Parasitology, Amsterdam, v. 140, p. 223-230, 2006.

VINASACO, J.; LI, O.; ALVARADO, A.; DIAZ, D.; HOYOS, L.; TABACHI, L.; SIRIGIREDDY, K.; FERGUSON, C.; MOROL, M. H. **Molecular Evidence of a New Strain of Ehrlichia canis from South America.** Journal of Clinical Microbiology, Aug. 2007, p. 2716– 2719, v. 45, n. 8.