

INCLUSÕES PLAQUETÁRIAS SEMELHANTES A *Anaplasma platys* (*Ehrlichia platys*) EM GATO

VAMILTON ALVARES SANTARÉM¹, CECÍLIA BRAGA LAPOSY², MARCONI RODRIGUES DE
FARIAS³

¹Professor de Enfermidades Parasitárias da Universidade do Oeste Paulista – Presidente Prudente;

²Professora de patologia Clínica Veterinária da Universidade do Oeste Paulista – Presidente Prudente;

³Professor de Clínica Veterinária da Pontifícia Universidade Católica de Curitiba - Paraná

*Hospital Veterinário da Universidade do Oeste Paulista. Rodovia Raposo Tavares, Km 572 – B. Limoeiro – Campus II.
19.067-175 Presidente Prudente - São Paulo. E-mail: vamilton@vet.unoeste.br

RESUMO

O presente trabalho descreve o caso de um felino, fêmea, de aproximadamente oito meses, com histórico de traumatismo. Ao exame hematológico, verificou-se anemia normocítica normocrômica e inclusões em plaquetas semelhantes a mórulas de *Anaplasma platys* (*Ehrlichia platys*), sendo o primeiro relato da rickettsia em felinos.

Palavras-chave: *Ehrlichia platys*; felino; gato; rickettsia; hematologia

Anaplasma platys (*Ehrlichia platys*)-LIKE INCLUSION BODIES IN PLATELETS OF A CAT

ABSTRACT

This article describes a case of a feline, female, approximately eight months of age which had multiple fractures. On hematologic examination were observed normochromic normocytic anemia, and were verified inclusions like-*Anaplasma platys* (*Ehrlichia platys*) in platelets. This is the first observation of the rickettsia in cat.

Keywords: *Ehrlichia platys*; feline; cat; rickettsia; hematology.

INTRODUÇÃO

Na última década, a ehrlichiose tem sido identificada como causa de morbidade e mortalidade em animais e no homem, representando uma importante zoonose, em decorrência da maior exposição humana a locais onde a presença de carrapatos se faz presente (Dumler & Bakken, 1995; Walker & Dumler, 1996) e em regiões onde a

ehrlichiose canina é enzoótica (Eng & Giles, 1989).

A ehrlichiose canina pode ser ocasionada pela *Ehrlichia canis* e pela *Ehrlichia platys*. O primeiro agente infecta células mononucleares do sangue e está distribuído mundialmente devido a presença quase que cosmopolita de seu vetor, o carrapato *Rhipicephalus sanguineus*. A *E. platys*, por sua vez, infecta apenas plaquetas

e geralmente não ocasiona grandes problemas nos animais. Recentemente, o agente foi observado em plaquetas de humanos (Arraga, 1999).

A trombocitopenia cíclica infecciosa canina (ICCT) foi primeiramente descrita em 1978, nos Estados Unidos (Harvey *et al.*, 1978) e sua etiologia foi atribuída a um microrganismo que infectava seletivamente as plaquetas. Os autores confirmaram, através de microscopia eletrônica, que as inclusões plaquetárias tratavam-se de vácuolos contendo organismos do tipo rickettsia, denominando o agente de *Ehrlichia platys*. Com o advento da biologia molecular, este organismo foi reclassificado como *Anaplasma platys* (Dumler *et al.*, 2001).

Anaplasma platys pertence à ordem Rickettsiales, família Rickettsiaceae e é um cocobacilo Gram-negativo obrigatório que apresenta três estágios de desenvolvimento: corpúsculos elementares, corpúsculos iniciais e mórulas. As mórulas possuem diâmetro de 0,2 a 1,3 μm (Campbell, 1994), podendo conter de um a três vácuolos de membrana simples formados por um a 18 organismos que se dividem por fissão binária. Ao romperem-se, as mórulas liberam os corpúsculos iniciais que infectam outras plaquetas (Roberts & Soave, 1997).

O modo de transmissão de *A. platys* e o seu reservatório natural são desconhecidos, porém suspeita-se que o *Rhipicephalus sanguineus* seja o transmissor do agente (Stiles, 2000), já que muitos animais apresentam a infecção mista por *Ehrlichia canis* e *E. platys* ou a presença de

anticorpos contra as duas rickettsias. Contudo, em uma pesquisa conduzida por Simpson *et al.* (1991) não foi verificada a presença de *E. platys* em intestino ou glândulas salivares de carrapatos que infestaram animais com picos de parasitemia após infecção experimental, o que sugere que a transmissão do microrganismo pode ser efetuada por outro vetor.

A infecção por *A. platys* em cães tem um período de incubação que varia de 8 a 15 dias (Harvey, 1998), que resulta em uma parasitemia intraplaquetária com ciclos subsequentes de trombocitopenia que recorrem a intervalos de 7 a 14 dias (Harvey *et al.*, 1978; French & Harvey, 1983; Baker *et al.*, 1987). A redução do número de plaquetas, que pode chegar freqüentemente a 20.000/ μl ou menos, é resultado da agregação plaquetária (Gaunt *et al.*, 1990) ou diminuição da sobrevivência deste elemento sanguíneo como consequência multiplicação do agente, podendo ser observada poucos dias após a infecção. Caso haja persistência da doença, a remoção das plaquetas pode ocorrer por uma resposta imunomediada (Stiles, 2000).

Embora os animais acometidos pela *A. platys* sejam na sua maioria assintomáticos, as manifestações clínicas de cães experimentalmente infectados variam, sendo mais freqüentemente observadas depressão, anorexia, depressão, letargia, emaciação, linfadenomegalia, palidez de mucosas e febre (Harrus *et al.*, 1997). Mais raramente, podem surgir casos mais severos

com epístaxe (Wilson, 1992) ou uveíte (Glaze et al., 1986).

As diferenças de sinais clínicos podem estar ligadas à raça do animal, às diferenças individuais na resposta imune, à carga infectante, ou ainda à patogenicidade de cepas (Wilson, 1992; Chang et al., 1996). As infecções combinadas por *A. platys* e *E. canis* são muito comuns segundo French e Harvey (1983), podendo contribuir para a patogênese de *A. platys* (Harrus et al., 1997).

No caso de felinos, isso também poderia acontecer se os animais fossem acometidos naturalmente pela *E. risticii*. Os felinos podem ser infectados experimentalmente com *E. risticii* e *E. equi* (Kordick et al., 1995).

Existe uma grande similaridade entre as alterações clínicas, hematológicas e bioquímicas ocasionadas pela infecção por *A. platys* e *E. canis* segundo Harrus et al. (1997). O curso agudo resulta em linfadenomegalia generalizada, hiperplasia linfóide, além de proliferação de macrófagos em linfonodos, fígado e baço. Muitos cães desenvolvem hemorragia moderada ou edema em múltiplos órgãos, incluindo hemorragias intrafoliculares esplênicas (Baker et al., 1987).

Baker et al. (1988), além da trombocitopenia, verificaram achados compatíveis com a síndrome de anemia de inflamação. Os cães infectados experimentalmente apresentaram anemia normocítica normocrômica, hipergamaglobulinemia, leucopenia por neutropenia, eosinopenia e linfopenia,

hipoalbuminemia e hipocalcemia durante a infecção.

O diagnóstico da ICCT pode ser realizado pela observação de mórulas em plaquetas observadas em esfregaços sanguíneos, microscopia eletrônica, imunofluorescência e PCR.

Infelizmente, estudos epidemiológicos não têm sido realizados para verificação da distribuição geográfica da *A. platys* (Bradfield et al., 1996), mas a doença tem sido observada em Taiwan (Chang et al., 1996), Israel (Harrus et al., 1997), Grécia (Kontos et al., apud Chang et al., 1996) e principalmente nos Estados Unidos. Neste país, French & Harvey (1978) e Hoskins et al. (1988) verificaram a exposição canina ao agente em várias localidades ao pesquisarem a presença de anticorpos séricos anti-*A. platys*.

No Brasil, não existem relatos da doença em cães.

O presente artigo relata a observação de corpúsculos elementares e de mórulas em plaquetas semelhantes às descritas por Harvey et al. (1978), através de esfregaços sanguíneos, em um gato infectado naturalmente.

RELATO DE CASO

Um felino, fêmea, sem definição racial, com aproximadamente oito meses de idade, foi atendido no Hospital Veterinário da Universidade do Oeste Paulista, Presidente Prudente, São Paulo, Brasil, após ser atropelada por um automóvel. O animal apresentava fraturas múltiplas na região

pélvica e incoordenação motora, principalmente dos membros posteriores. O proprietário relatou que anteriormente ao acidente, o felino apresentava anorexia, depressão e emaciação progressiva.

Ao exame clínico constatou-se hipotermia (36,7°C), palidez de mucosas, hemorragia periodontal e hematomas na região tóraco-lombar, como principais alterações. Realizou-se todos os procedimentos de emergência clínica, mas o quadro agravou-se rapidamente e o animal progrediu para o óbito em poucas horas após o atendimento. Infelizmente, o proprietário não autorizou a necropsia do felino.

RESULTADOS

O resultado do hemograma, obtido pela análise de amostra de 2,0 ml de sangue obtido por punção venojugular e acondicionado em vidro contendo EDTA como anticoagulante, está descrito no Quadro 1. Os principais achados foram: anemia normocítica normocrômica, linfopenia e leucocitose por neutrofilia com desvio à esquerda. A contagem de plaquetas foi estimada em esfregaço de sangue, de acordo com os critérios descritos por Jain (1993). À microscopia ótica, foram observadas, em esfregaço sangüíneo corado pelo método rápido (Panótico rápido), inclusões em forma de mórula ou de corpúsculos isolados, em 7% das plaquetas observadas.

Quadro 1 – Hemograma e contagem plaquetária de gato (*Felis catus domestica*) com inclusões tipo *Anaplasma platys* (*Ehrlichia platys*) em plaquetas

	Valores Obtidos	Valores Normais (Jain, 1993)
Eritrócitos ($10^6 \mu\text{l}^{-1}$)	4,2	5,0-10,0
Hemoglobina (g dl^{-1})	6,6	8,0-15,0
Hematócrito (%)	22,0	24,0-45,0
Volume corpuscular médio (fl)	52,3	39,0-55,0
Hemoglobina corpuscular média (pg)	15,7	12,5-17,5
Concentração de hemoglobina corpuscular média (%)	30,0	30,0-36,0
Leucócitos (μl)	46.900	5.500-19.500
Neutrófilos segmentados (μl)	42.210	2.500-12.500
Neutrófilos bastonetes (μl)	3.283	0-300
Linfócitos (μl)	1.407	1.500-7.000
Monócitos (μl)	0	0-850
Eosinófilos (μl)	0	0-1.500
Plaquetas (μl)	200.000	300.000-500.000
Proteína plasmática total (g dl^{-1})	7,0	6,0-8,0
Fibrinogênio (mg dl^{-1})	200	50-300

DISCUSSÃO

Inclusões tipo-*Ehrlichia* têm sido observadas em monócitos e linfócitos de gatos (Breitschwerdt, 1995). Nesses animais, até o momento não havia registro de *Anaplasma platys*. Em caninos, este agente geralmente ocasiona alterações clínicas que são facilmente confundidas com outras enfermidades. Linfadenomegalia e moderada a severa trombocitopenia, que ocorrem aproximadamente de duas a três semanas, são os principais achados da doença (Chang et al., 1997). Já para Harrus et al. (1997), as alterações mais observadas são depressão,

anorexia, depressão, letargia, emaciação, linfadenomegalia, palidez de mucosas e febre. Apesar disso, a doença pode ser fatal em casos de acidente ou durante cirurgia (Matthew et al., 1997). Embora muitos destes achados tenham sido verificados no animal apresentado neste relato, não se pode associá-los à anaplasmose, sendo possível que o agente tenha comprometido a resposta orgânica do animal.

A. platys aparece como simples, ou menos freqüentemente, com múltiplas inclusões dentro de plaquetas (Breitschwerdt, 1995). Em esfregaços de sangue do animal apresentado neste relato, a maioria das inclusões encontrava-se sob a forma de mórula (Figura 1).

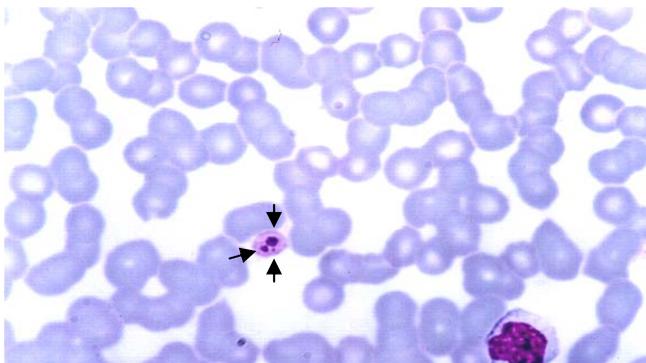


Figura 1 - Plaqueta de um gato (*Felis catus domestica*) apresentando mórulas (A) e corpúsculos iniciais (B) semelhante a *Ehrlichia platys*, em esfregaço sangüíneo corado pelo Panótico rápido (1000X)

Anemia normocítica normocrômica e trombocitopenia registradas neste caso foram também observadas nos estudos de infecção experimental por *A. platys* em cães (Baker et al., 1988; Gaunt et al., 1990) e de infecção natural por *Ehrlichia monocítica* em gatos (Buoro et al., 1989; Kordick et al., 1995). Estes achados podem refletir um processo

de anemia arregenerativa ao traumatismo e a hemorragias internas, que possivelmente levaram o animal ao choque hipovolêmico e à morte. Embora a contagem de plaquetas tenha sido menor que os valores normais de referência, não é possível afirmar que a trombocitopenia estava associada à presença da rickettsia. Com isso, faz-se necessária a realização de estudos que comprovem a infecção de felinos por *A. platys* e que possibilitem a compreensão de sua patogenia nesta espécie animal.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARRAGA, A.C.; PALMAR, M.; PARRA, O.; SALAS, P. Fine structural characterisation of a rickettsia-like organism in human platelets from patients with symptoms of ehrlichiosis. *J. Med. Microbiol.*, v. 48, p. 991-997, 1999. <http://dx.doi.org/10.1099/00222615-48-11-991>
- BAKER, D.C.; SIMPSON, S.D.; CORSTVET, R.E. Acute *Ehrlichia platys* infection in the dog. *Vet. Pathol.*, v. 24, p. 449-453, 1987.
- BAKER, D.C.; GAUNT, S.D.; BABIN, S.S. Anemia of inflammation in dogs infected with *Ehrlichia platys*. *Am. J. Vet. Res.*, v. 49, p. 1014-1016, 1988.
- BRADFIELD, J.F.; VORE, S.J.; PRYOR, Jr., W.H. *Ehrlichia platys* infection in dogs. *Lab. An. Sci.*, v. 46, p. 565-568, 1996.
- BREITSCHWERDT, E.D. The Rickettsioses. In: **Textbook of Veterinary Internal Medicine**, Ed. S. J. Ettinger & E. C. Feldman.

4.ed, pp. 376-383. Philadelphia : W. B. Saunders, 1995.

BUORO, I.B.J.; ATWELL, R.B.; KIPTON, J.C.; IHIGA, M.A. Feline anaemia associated with *Ehrlichia*-like bodies in three domestic short-haired cats. *Vet. Rec.*, v. 125, p. 434-436, 1989.
<http://dx.doi.org/10.1136/vr.125.17.434>

CAMPBELL, R.S.F. Pathogenesis and pathology of the complex rickettsial. *Vet. Bull.*, v. 64, p. 1-24, 1994.

CHANG, A.C.; CHANG, W.; LIN, C.; PAN, M.; LEE, S. Canine infectious cyclic thrombocytopenia found in Taiwan. *J. Vet. Med. Sci.*, v. 58, p. 473-476, 1996.
<http://dx.doi.org/10.1292/jvms.58.473>

CHANG, W.; SU, W.; PAN, M. Two-step PCR in the evaluation of antibiotic treatment for *Ehrlichia platys* infection. *J. Vet. Med. Sci.*, v. 59, p. 849-851, 1997.
<http://dx.doi.org/10.1292/jvms.59.849>

DUMLER, J.S.; BAKKEN, J.S. Ehrlichial diseases of humans: emerging tick-borne infections. *Clin. Infec. Dis.*, v. 20, p. 1102-1110, 1995.
<http://dx.doi.org/10.1093/clinids/20.5.1102>

DUMLER, J.S.; BARBET, A.F.; BEKKER, C.P.J.; 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 phagocytophyla*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, v. 51, p. 2145-2165, 2001.

<http://dx.doi.org/10.1099/00207713-51-6-2145>

ENG, T.R.; GILES, R. Ehrlichiosis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v. 194, p. 497-500, 1989.

FRENCH, T.W.; HARVEY, J.W. Serologic diagnosis of infectious cyclic thrombocytopenia in dogs using an indirect fluorescent antibody test. *Am. J. Vet. Res.*, v. 44, p. 2407-2411, 1983.

GAUNT, S.D.; BAKER, D.C.; BABIN, S.S. Platelet aggregation studies in dogs with acute *Ehrlichia platys* infection. *Am. J. Vet. Res.*, v. 51, p. 290-293, 1990.

GLAZE, M.B.; GAUNT, S.D.; BABIN, S.S. associated with *Ehrlichia platys* infection in a dog. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v. 189, p. 916-917, 1986.

HARRUS, S.; AROACH, I.; LAVY, E.; BARK, H. Clinical manifestations of infectious canine cyclic thrombocytopenia. *Vet. Rec.*, v. 141, p. 247-250, 1997.
<http://dx.doi.org/10.1136/vr.141.10.247>

HARVEY, J.W. Canine thrombotic ehrlichiosis. In____: **Infectious diseases of**

the dog and cat. GREENE, C.E. 2 ed. Philadelphia: W.B. Saunders. 1998, p. 147-149, 934 pp.
<http://dx.doi.org/10.1093/infdis/137.2.182>

HARVEY, J.W.; SIMPSON, C.F.; GASKIN, J.M. Cyclic thrombocytopenia induced by a rickettsia-like agent in dogs. *J. Infec. Dis.*, v. 137, p. 182-188, 1978.

HOSKINS, J.D.; BREITSCHWERDT, G.B.; GAUNT, S.D.; FRENCH, T.W.; BURGDORFER, W. Antibodies to *Ehrlichia canis*, *Ehrlichia platys*, and spotted fever group rickettsias in Louisiana dogs. *J. Vet. Int. Med.*, v. 2, p. 55-59, 1988.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1939-1676.1988.tb02793.x>

JAIN, N. C. Comparative hematology of common domestic animals. In___: **Essentials of Veterinary Hematology**, ed. N.C. Jain, p. 19-53. Philadelphia: W. B. Saunders, 1993.

KORDICK, D.L., LAPPIN, M.R., BREITSCHWERDT, E.B. Feline Rickettsial Diseases. In:___ **Current Veterinary Therapy Small Animal Practice**, ed. J.D. Bonagura & R.W. Kirk, 12. ed., pp. 287-90. Philadelphia: W. B. Saunders, 1995.

MATHEW, J.S.; EWING, S.A.; MURPHY, G.L.; KOCAN, K.M.; CORSTVET, R.E.; FOX, J.C. Characterization of a new isolate of *Ehrlichia platys* (Order *Rickettsiales*) using electron microscopy and polymerase chain

reaction. *Vet. Parasitol.*, v. 68, p.1-10, 1997.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0304-4017\(96\)01052-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0304-4017(96)01052-7)

ROBERTS, R.B.; SOAVE, R. Emerging pathogens associated with tick-borne infections. *Braz. J. Infec. Dis.*, v. 1, p. 17-26, 1997.

SIMPSON, R.M.; GAUNT, S.D.; HAIR, J.A.;KOCAN, K.M.; HENK, W.G.; CASEY, H.W. Evaluation of *Rhipicephalus sanguineus* as a potential biological vector of *Ehrlichia platys*. *Am. J. Vet. Res.*, v. 52, p. 1537-1541, 1991.

STILES, J. Canine rickettsial infectious. *Vet. Clin. Nort. Am. Sm. An. Prac.*, v. 30, p. 1135-1150, 2000.

WALKER, D.H.; DUMLER, J.S. Emergence of ehrlichiosis as human health problems. *Emerg. Infec. Dis.*, v. 2, p. 18-29, 1996.
<http://dx.doi.org/10.3201/eid0201.960102>

WILSON, J.F. *Ehrlichia platys* in a Michigan dog. *J. Am. An. Hosp. Asscn.*, v. 28, p. 381-383, 1992.