

Coinfecção por *Anaplasma platys* e *Ehrlichia canis* em cães diagnosticada pela PCR

Co-infection by *Anaplasma platys* and *Ehrlichia canis* in dogs diagnosed by PCR

**Valéria Régia Franco Sousa¹, Teresa Cristina Bergamo do Bomfim²,
Arleana do Bom Parto Ferreira de Almeida¹, Luciano Antunes Barros¹,
Kátia Gouveia Sales³, Christiano Henrique da Silva Justino³ & Luciana Dalcin⁴**

RESUMO

O *Anaplasma platys* é o agente de uma doença branda conhecida como trombocitopenia cíclica canina, que cursa frequentemente com trombocitopenia e parasitemia das plaquetas, a cada quatorze dias. Alguns recentes relatos têm descrito uma doença severa principalmente associada à infecção por *Ehrlichia canis*. Este relato descreve os principais achados clínicos, hematológicos e bioquímicos da coinfecção por *A. platys* e *E. canis* diagnosticada através da PCR e *nested* PCR, usando oligonucleotídeos específicos. Os cães apresentavam sinais inespecíficos, sem distúrbios hemostáticos como trombocitopenia, considerado principal achado da infecção por *A. platys* e comum na *E. canis*. Anemia foi observada nos dois casos, e em nenhum houve alteração nos níveis séricos de ureia, creatinina, alanino aminotransferase e fosfatase alcalina. Em um cão, observou-se hiperglobulinemia, decorrente da resposta imune, concordando com a literatura que cita exacerbação clínica associada a este tipo de coinfecção.

Descritores: cães, *Anaplasma platys*, *Ehrlichia canis*, PCR.

ABSTRACT

The *Anaplasma platys* is an agent of a mild canine thrombocytopenia cyclical disease, which often develops with thrombocytopenia and parasitemia of platelets, every fourteen days. Some recent reports have described a severe disease mainly associated with *Ehrlichia canis* infection. This report describes the main clinical, biochemical and hematological of co-infection with *A. platys* and *E. canis* diagnosed by PCR and *nested* PCR, using specific primers. The dogs had non-specific signs, haemostatics without disruption as thrombocytopenia considered main finding of infection by *A. platys* and common in *E. canis*. Anemia was observed in both cases, and there was no change in serum levels of urea, creatinine, alanine aminotransferase, and alkaline phosphatase. In a dog was observed hyperglobulinemia, resulting from the immune response, agreeing with the literature that reports clinical exacerbation in this type of co-infection.

Keywords: dogs, *Anaplasma platys*, *Ehrlichia canis*, PCR.

INTRODUÇÃO

Anaplasma platys, anteriormente *Ehrlichia platys*, é uma bactéria que infecta apenas plaqueta de cães induzindo a trombocitopenia cíclica, possuindo como provável vetor o carrapato *Rhipicephalus sanguineus* [8,11]. A trombocitopenia cíclica canina é considerada uma doença benigna, apresentando como sinais clínicos febre, depressão e anorexia, além de trombocitopenia cíclica, discreta anemia normocítica normocrômica arregenerativa, leucopenia, hipoalbuminemia e hiperglobulinemia [2,10].

Como os sinais associados com a trombocitopenia cíclica canina não são específicos, o diagnóstico necessita de exames complementares. A parasitemia cíclica do agente torna a observação de mórulas difícil levando a resultados falso negativos. A reação em cadeia de polimerase é útil na detecção de *A. platys* no estágio inicial da infecção assim como na fase crônica da doença [2].

O propósito deste relato é descrever dois casos de coinfecção por *Anaplasma platys* e *Ehrlichia canis* em cães através da observação de mórulas no esfregaço sanguíneo e amplificação do DNA pela PCR, destacando os principais achados clínicos, hematológicos e bioquímicos.

RELATO DE CASO

No Setor de Clínica Médica do HOVET da UFMT, foram atendidos dois cães, residentes na área urbana de Cuiabá, adultos, sendo uma fêmea e um macho. O primeiro cão foi atendido apresentando febre, esplenomegalia e osteomielite secundária a fratura exposta da tíbia e fíbula esquerda, e o segundo com queixa de vômito, perda de peso e com tumor venéreo transmissível canino. Após o exame clínico, foram obtidas amostras sanguíneas para avaliação hematológica, bioquímica sérica visando à avaliação hepática, renal, bem como mensuração das proteínas plasmáticas [7], e para amplificação de DNA pela PCR, assim como foram confeccionados esfregaços sanguíneos para a pesquisa de formas evolutivas de *A. platys* e *Ehrlichia canis*.

A extração de DNA foi realizada com o Mini Kit QIAmp DNA Blood (Qiagen®), conforme instruções do fabricante, enquanto na PCR utilizou-se primers PLATYS -F (5'- aag tcg aac gga ttt ttg tc - 3') e PLATYS -R" (5'- ctt taa ctt acc gaa cc - 3'), para *A. platys* [4] e ECC (5'- aga acg aac gct ggc ggc aag cc - 3') e ECB

(5'- cgt att acc gcg gct gct ggc - 3'), para *E. canis* [9]. Uma segunda etapa de amplificação (*nested* PCR) para o *A. platys*, foi realizada com as mesmas condições da reação de PCR. Os produtos amplificados foram submetidos à eletroforese em Gel de Agarose e visualizados em transluminador.

DISCUSSÃO

Os cães com infecção por *Anaplasma platys* eram adultos, um de raça pura, macho e outro mestiço, fêmea, sendo que apenas o primeiro apresentava infestação por carrapatos, *Rhipicephalus sanguineus*. Apesar de não comprovado cientificamente, tal fato sugere esta via de transmissão, para um dos cães, todavia novos estudos devem ser delineados para se analisar a cadeia de transmissão assim como os fatores de risco, já que relatos sugerem maior incidência em cães jovens e de raça pura [3,5].

Nos dois casos, foram identificados sinais clínicos inespecíficos como apatia, febre, linfadenopatia e perda de peso. Relatos descrevem os referidos sinais como os principais, além de palidez de membranas mucosas e secreção nasal mucopurulenta. Nenhum distúrbio de hemostasia primária foi observado, da mesma forma que não se observou redução na contagem plaquetária, como é descrito na infecção aguda por tal agente [3].

Os cães exibiram anemia normocítica hipocrômica, sugerindo infecção crônica. Em um dos cães com infecção por *A. platys*, foi visualizado macroplaquetas, condizente com outros estudos [1,3]. No entanto, a preponderância de plaquetas grandes com granulações esparsas sugere aumento da produção e liberação de plaquetas na circulação, sendo achadas ocasionalmente em animais normais [6]. A contagem global de leucócitos encontrava-se diminuída, bem como as proteínas séricas totais, tanto albumina como globulina em um dos cães com infecção associada a *A. platys*, enquanto, no outro, verificou-se hiperglobulinemia, hipoalbuminemia, resultados estes que corroboram com a literatura [1]. Nenhum dos cães apresentou alteração nos níveis séricos de ureia, creatinina, alanino aminotransferase e fosfatase alcalina.

O diagnóstico inicial de trombocitopenia cíclica canina foi através da observação de mórulas em plaquetas no esfregaço sanguíneo, técnica rápida e de baixo custo, no entanto pouco sensível. Após a *nested* PCR, além de confirmar a presença de *A. platys* (Figura 1) em cães da região de Cuiabá, Mato Grosso, demonstrou-se coinfecção

com *Ehrlichia canis*, um achado descrito em áreas endêmicas para ehrlichiose, com gravidade clínica

mais severa, podendo ter influenciado tanto os achados clínicos como hematológicos e bioquímicos [2,3].

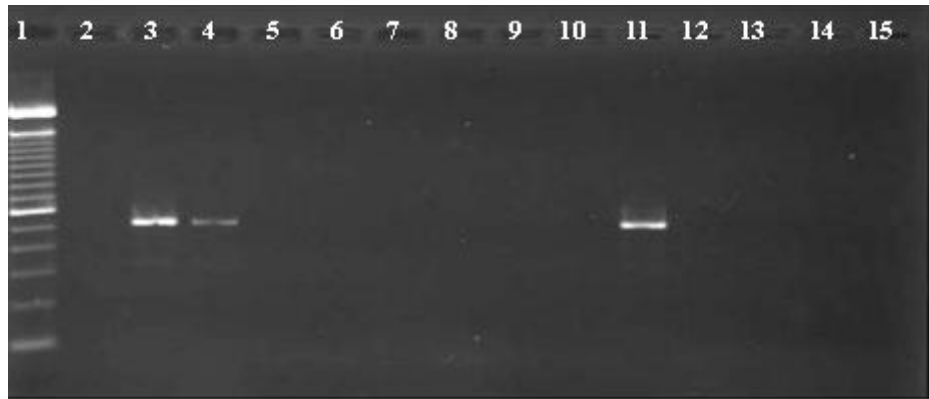


Figura 1. Nested PCR de *Anaplasma platys* com primers Platys-F/Platys-R (produto 504 pb) de cães atendidos no HOVET – UFMT. Linha 1 – marcador de tamanho molecular (100 pb); linha 3 – controle positivo; linhas 4 a 15 – amostras testadas e linha 2 – controle negativo.

REFERÊNCIAS

- 1 Baker D.C., Gaunt S.D. & Babin S.S. 1988. Anemia of inflammation in dogs infected with *Ehrlichia platys*. *American Journal of Veterinary Research*. 49: 1014-1016.
- 2 Chang W.L. & Pan M.J. 1996. Specific amplification of *Ehrlichia platys* DNA from blood specimen by two-step PCR. *Journal of Clinical Microbiology*. 34: 3142-3146.
- 3 Harrus S., Aroch I., Lavy E. & Bark H. 1997. Clinical manifestations of infectious canine cyclic thrombocytopenia. *Veterinary Record*. 141: 247-250.
- 4 Inokuma H.D., Ohno K., Onishi T, Raoult D. & Brouqui P. 2001. Detection of ehrlichial infection by PCR in dogs from Yamaguchi and Okinawa Prefectures, Japan. *Journal of Veterinary Medicine Science*. 63: 815-817.
- 5 Inokuma H.D., Raoult D. & Brouqui P. 2000. Detection of *Ehrlichia platys* DNA in brown dog ticks (*Rhipicephalus sanguineus*) in Okinawa Island, Japan. *Journal of Clinical Microbiology*. 38: 4219-4221.
- 6 Jain N.C. 1993. *Essentials of Veterinary Hematology*. Philadelphia: Lea & Febiger, 417p.
- 7 Kaneko J.J., Harvey J.W. & Bruss M.L. 1997. *Clinical biochemistry of domestic animals*. 5th edn. San Diego: Academic Press, 932p.
- 8 Mcdade J.E. 1990. Ehrlichiosis – a disease of animals and humans. *The Journal of Infectious Disease*. 161: 609-617.
- 9 Murphy G.L., Ewing S.A., Whitworth L.C., Fox J.C. & Kocan A.A. 1998. Molecular and serologic survey of *Ehrlichia canis*, *Ehrlichia chaffeensis*, and *E. ewingii* in dogs and ticks from Oklahoma. *Veterinary Parasitology*. 79: 325-339.
- 10 Rikihisa Y. 1991. The tribe *Ehrlichiae* and ehrlichial diseases. *Clinical Microbiology Review*. 4: 286-308.
- 11 Simpson R.M., Gaunt S.D., Hair J.A., Kocan K.M., Henk W.G. & Casey H.W. 1991. Evaluation of *Rhipicephalus sanguineus* as a potential biologic vector of *Ehrlichia platys*. *American Journal of Veterinary Research*. 52: 1537-1541.