

Alterações hematológicas em cães infectados pelo *Hepatozoon canis*

Cleibiane Evangelista Franco BORGES¹;Bráulio de Sousa FIGUEIRÓ²;Cássio Ribeiro GOMIDE³;Tania Maria Pereira ALVARENGA⁴;Francisco Duque de Mesquita NETO⁵;

Haematological alterations in dogs infected with *Hepatozoon canis*

Resumo

A hepatozoonose é uma doença que acomete principalmente os carnívoros domésticos, causada pelo protozoário *Hepatozoon spp* que tem como principal vetor os carrapatos da espécie *Rhipicephalus sanguineus*. No Brasil, o *Hepatozoon canis* já foi diagnosticado em diversos estados e a confirmação da hepatozoonose é feita pela visualização da forma de gamontes do parasito em esfregaço sanguíneo. Alterações hematológicas descritas em cães infectados são: anemia, leucocitose e trombocitopenia. Por serem pouco investigadas, frequentemente a doença é descartada como suspeita clínica, comprometendo o diagnóstico. O presente trabalho teve como objetivo analisar os hemogramas realizados de março a agosto de 2014, no Laboratório de Patologia Clínica da Universidade Federal de Lavras, para pesquisa de gamontes de *Hepatozoon canis* e das alterações hematológicas presentes nos animais positivos. De 399 amostras examinadas, em seis houve a visualização do *Hepatozoon canis* no esfregaço sanguíneo, sendo constatadas as seguintes alterações hematológicas: anemia normocítica normocrômica (n=3); hemácias nucleadas, anisocitose e policromasia de hemácias (n=3); leucocitose (n=5), sendo essa leucocitose neutrofílica em 4 amostras, onde dessas ocorreu desvio a esquerda regenerativo em uma amostra; linfocitose (n=3); linfopenia (n=1); monocitose (n=3); monocitopenia

(n=1); eosinopenia (n=2); eosinofilia (n=2); trombocitose (n=1) e trombocitopenia (n=2). Foram analisadas 20 amostras de um grupo controle de animais não infectados por *Hepatozoon canis*, recebidas no mesmo período, e realizou-se a média dos parâmetros hematológicos encontrados nas mesmas. Os resultados das médias foram: 7,17 x 10⁶/mm³ (hemácias); 47,63% (volume globular); 15,86 g% (hemoglobina); 11.007 /mm³ (leucócitos totais); 7668 /mm³ (neutrófilos segmentados); 215,5 /mm³ (neutrófilos bastonetes); 532 /mm³ (eosinófilos); 2107 /mm³ (linfócitos); 384/mm³ (monócitos) e 354000 (plaquetas). As médias encontradas para o grupo de amostras colhidas dos animais infectados foram: 5,38 x 10⁶/mm³ (hemácias); 37,3% (volume globular); 12,38 g% (hemoglobina); 28200 /mm³ (leucócitos totais); 118983,5 /mm³ (neutrófilos segmentados); 938,25 /mm³ (neutrófilos bastonetes); 1352,5 /mm³ (eosinófilos); 5000 /mm³ (linfócitos); 1137,16/mm³ (monócitos) e 404333 (plaquetas). Os valores observados no grupo controle diferem do grupo de animais infectados, constatando-se uma média menor de valores do eritograma e maior no leucograma dos animais infectados em relação ao grupo controle.

Recebido em 05 de janeiro de 2015 e aprovado em 02 de setembro de 2015

Summary

The hepatozoonosis is a disease that mostly affects domestic carnivores, caused by the protozoan *Hepatozoon spp* that has ticks of the species *Rhipicephalus sanguineus* as the main vector. In Brazil, the *Hepatozoon canis* has already been diagnosed in several states and the confirmation of hepatozoonosis is made through the parasite visualization on blood smears. The hematologic changes described in infected dogs are anemia, leukocytosis and thrombocytopenia. For being little investigated, the disease is often discarded as clinical suspicion, compromising the clinical diagnosis. This study aimed to analyze blood counts performed from March to August 2014, in Clinical Pathology Laboratory of the Federal University of Lavras searching for the presence of *H. canis* gamontes and crossing these results with the haematological alterations presents in the positive animals. Of 399 samples examined, in six were found *Hepatozoon canis* in the blood smear, hematological changes observed in these six animals were: normochromic normocytic anemia (n=3); red blood cells nucleated, anisocytosis and polychromasia of red blood cells (n=3); leukocytosis (n=5 and this neutrophil leukocytosis in 4 of samples, where n=4 of those occurred regenerative left shift by neutrophilia in n=4 of samples with a left shift regenerative

in n=1; lymphocytosis (n=3); lymphopenia (n=1); monocytosis (n=3); monocytopenia (n=1); eosinopenia (n=2); eosinophilia (n=2 thrombocytosis (and thrombocytopenia (n=2). As a control group it was analyzed the haematological results of 20 animals not infected with *Hepatozoon canis*, received in the same period, and the average of haematological parameters found in them were: 7.17x10⁶/mm³ (RBCs); 47.63% (packed cell volume); 15.86g% (hemoglobin); 11,007/mm³ (total leukocytes); 7668/mm³ (segmented neutrophils); 215.5/mm³ (band neutrophils); 532/mm³ (eosinophils); 2107/mm³ (lymphocytes); 384/mm³ (monocytes) and 354000 (platelets). The averages for sample group of infected animals were: 5.38x10⁶/mm³ (RBCs); 37.3% (packed cell volume); 12.38g % (hemoglobin); 28,200/mm³ (Total leukocytes); 118,983.5/mm³ (segmented neutrophils); 938.25/mm³ (band neutrophils); 1352.5/mm³ (eosinophils); 5000/mm³ (lymphocytes); 1137.16/mm³ (monocytes) and 404333 (platelets). The values observed in the control group were different from the ones observed in the infected animals, demonstrating a lower average values of red blood cell count and higher in white blood cell count of infected animals in the control group.



Palavras-chave

Hepatozoon canis.
Cães. Alterações hematológicas.

Keywords

Hepatozoon canis.
Dog. Hematological alterations.

As hemoparasitoses têm ocorrência comum tanto na rotina clínica de pequenos, quanto de grandes animais. São doenças causadas por protozoários que vivem dentro das células sanguíneas dos animais infectados (FIGUEIREDO, 2011; TORRES; FIGUEIREDO; FAUSTINO, 2004).

A Hepatozoonose é uma hemoparasitose transmitida por carrapatos causada pelo protozoário *Hepatozoon spp*. (O'DWYER; MASSARD; PEREIRA, 2001) que acomete principalmente os carnívoros domésticos (ALENCAR *et al.*, 1997). O gênero *Hepatozoon* compreende protozoários pertencentes ao filo Apicomplexa, família Hepatozoiiidae (WENION, 1926).

No Brasil, *Hepatozoon canis* já foi diagnosticado nos estados do Rio de Janeiro, São Paulo, Rio Grande do Sul, Espírito Santo e Minas Gerais (FORLANO *et al.*, 2005).

As espécies do gênero *Hepatozoon* infectam vários vertebrados incluindo anfíbios, répteis, pássaros, marsupiais e mamíferos, hospedeiros intermediários. Os invertebrados, pulgas, carrapatos e insetos são os hospedeiros definitivos (PEREIRA, 2007).

A distribuição da doença está diretamente ligada aos hospedeiros definitivos, logo, ela ocorre em regiões de clima tropical, subtropical e temperado e, na maior parte dos casos, é registrada nos meses mais quentes do ano, quando há maior infestação de carrapatos. A hepatozoonose também é diagnosticada durante os meses mais frios, quando a transmissão do parasita está desfavorecida pelo vetor, mas há a persistência crônica da doença em alguns animais (PEREIRA, 2007).

1 Médica-Veterinária Residente em Patologia Clínica, UFLA / Departamento de Medicina Veterinária, cleibiane@posgrad.ufla.br

2 Graduando 9º período, UFLA/ Departamento de Medicina Veterinária, brauliofigueiro@gmail.com

3 Farmacêutico Bioquímico e Técnico em Laboratório, UFLA/ Departamento de Medicina Veterinária, cassiogomide@dmv.ufla.br

4 Médica-Veterinária e Mestranda, UFLA/ Departamento de Medicina Veterinária, taniampavet@yahoo.com.br

5 Médico-Veterinário, Professor Doutor, UFLA/ Departamento de Medicina Veterinária, fdm@dmv.ufla.br

A infecção ocorre quando o cão ingere o carrapato (*Rhipicephalus sanguineus*) com os oocistos maduros na sua hemocele. Após a ingestão, os esporozoítos liberados dos oocistos, penetram na parede intestinal e são transportados pelo sangue para o baço, fígado, linfonodos, medula óssea, pulmões e músculos. Nesses locais, eles se multiplicam, formando dois tipos de esquizontes, um contendo macromerozoítos, e outro, micromerozoítos (ALMOSNY, 2002).

Forlano *et al.* (2005) relataram que o carrapato da espécie *Amblyomma ovale* também foi considerado como potencial vetor na transmissão da hepatozoonose, uma vez que, em condições experimentais, um filhote de cão que ingeriu um macerado desse carrapato desenvolveu a infecção e, apresentou gamontes no sangue circulante.

Os carrapatos infectam-se ao ingerirem sangue de cães contendo gamontes no interior de neutrófilos ou monócitos (ALMOSNY, 2002).

Quanto ao diagnóstico clínico, os sintomas são inespecíficos. Baneth e Weigler (1997) relataram que a suspeita da doença pode ser aventada quando os animais apresentam febre, anorexia, perda de peso, palidez de mucosas, corrimento ocular, fraqueza nos membros posteriores. Porém, esses sintomas são inespecíficos e podem ocorrer em outras patologias. Sendo assim, o hemograma é de grande valor para a confirmação do diagnóstico (EIRAS *et al.*, 2007; LAPPIN, 2004).

As alterações laboratoriais frequentemente observadas em cães infectados pelo *Hepatozoon* spp são leucocitose moderada, anemia e trombocitopenia, contudo, a leucocitose não é neutrofílica (ELIAS; HOMANS, 1988). Em Israel, cães infectados apresentaram anemia, leucocitose e trombocitopenia (BANETH *et al.*, 1996).

O diagnóstico de *H. canis* baseia-se, rotineiramente, na visualização de gamontes nos neutrófilos e monócitos (CALVERT, 1995) em esfregaços sanguíneos efetuados com amostras de sangue periférico (BANETH; WEIGLER, 1997) (Figura 1).

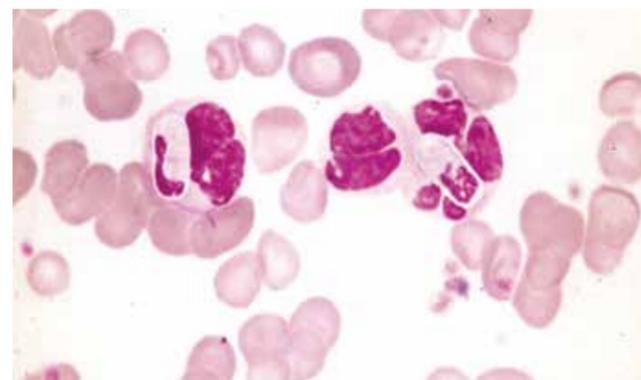


Figura 1 - *Hepatozoon canis*
Fonte: Reagan *et al.* (2011).

Com relação à contagem total de leucócitos, podem ser encontrados valores dentro da normalidade em cães com baixa parasitemia e leucocitose quando há alta parasitemia (MASSARD, 2001).

No Brasil, os relatos de *Hepatozoon canis* são esporádicos, principalmente como achados casuais em exames de laboratório (PEREIRA, 2007).

Objetivo

O objetivo do presente trabalho foi avaliar as possíveis alterações encontradas nos hemogramas de cães em que foi confirmada a presença de *Hepatozoon canis* em esfregaços sanguíneos.

Material e Métodos

Foram analisados hemogramas de cães, recebidos e processados no Laboratório de Patologia Clínica do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Lavras, no período de março a agosto de 2014, em que foi confirmada a presença de *Hepatozoon canis*, em esfregaços sanguíneos. Realizou-se a média dos parâmetros hematológicos de um grupo controle de 20 amostras de cães não infectados pelo *Hepatozoon canis*, recebidas no mesmo período.

A contagem de hemácias foi realizada manualmente com as técnicas de Ferreira Neto (1977). As determinações do volume globular, hemoglobina, contagem total de leucócitos e plaquetas foram realizadas em equipamento automatizado IDEXX VetAutoread, com o método de análise do creme leucocitário. Foi realizada a leitura de esfregaço sanguíneo, para pesquisa de gamontes de *Hepatozoon canis*. Para interpretação do hemograma, foi utilizada a tabela de variações médias dos valores sanguíneos em animais domésticos, (FERREIRA NETO, 1977).

Resultados e Discussão

No período de março a agosto de 2014, foram recebidas 399 amostras sanguíneas de cães para realização de hemogramas. Em seis esfregaços sanguíneos foram encontrados os gamontes de *Hepatozoon canis*. As amostras positivas foram recebidas entre os meses de abril e julho, das quais uma em abril, três em maio e duas em julho. Os animais eram todos sem raça definida, provenientes da cidade de Lavras - Minas Gerais, com idade de três a oito anos, sendo quatro fêmeas e dois machos.

Foram examinadas 20 amostras de um grupo controle de animais não infectados por *Hepatozoon canis*, recebidas no mesmo período, e realizou-se a média dos parâmetros hematológicos encontrados nas mesmas. As médias encontradas foram: $7,17 \times 10^6/\text{mm}^3$ (hemácias); 47,63% (volume globular); 15,86 g% (hemoglobina); $11.007/\text{mm}^3$ (leucócitos totais); $7668/\text{mm}^3$ (neutrófilos segmentados); $215,5/\text{mm}^3$ (neutrófilos

bastonetes); $532/\text{mm}^3$ (eosinófilos); $2107/\text{mm}^3$ (linfócitos); $384/\text{mm}^3$ (monócitos) e 354000 (plaquetas). As médias encontradas para o grupo de amostras dos animais infectados foram: $5,38 \times 10^6/\text{mm}^3$ (hemácias); 37,3% (volume globular); 12,38 g% (hemoglobina); $28200/\text{mm}^3$ (leucócitos totais); $118983,5/\text{mm}^3$ (neutrófilos segmentados); $938,25/\text{mm}^3$ (neutrófilos bastonetes); $1352,5/\text{mm}^3$ (eosinófilos); $5000/\text{mm}^3$ (linfócitos); $1137,16/\text{mm}^3$ (monócitos) e 404333 (plaquetas). Os valores observados no grupo controle diferem dos encontrados no grupo de animais infectados, demonstrando a existência numa média menor de valores do eritograma e maior no leucograma dos animais infectados em relação ao grupo controle.

Neste trabalho, a maior parte dos casos detectados ocorreu durante os meses mais frios do ano. Baneth e Weigler (1997), em Israel, trabalharam com 100 cães portadores de hepatozoonose canina, constatando que 77% dos casos da doença ocorreram nos meses mais quentes do ano Pereira (2007) no estado do Rio de Janeiro, Brasil também diagnosticou o parasito durante os meses mais frios do ano, quando a transmissão pelo vetor está desfavorecida, e observou que tal fato pode ter ocorrido devido a persistência crônica da doença em alguns animais.

No presente trabalho, dos seis esfregaços positivos para *H. canis*, quatro foram provenientes de cães que apresentavam suspeita clínica de Leishmaniose, Babesiose ou Erliquiose, um suspeito de Tumor Venéreo Transmissível e uma reavaliação pós-piometra. As manifestações clínicas da Babesiose, Erliquiose e Leishmaniose são semelhantes às encontradas na Hepatozoonose. Condições que enfraquecem o sistema imune aumentam a susceptibilidade para a infecção por *Hepatozoon canis* ou permitem que infecções já existentes se reativem Baneth (2006) observou que a patogenia da infecção de cães por *Hepatozoon canis* é influenciada pela presença de imunodeficiência; sistemas imunes imaturos, como no caso de filhotes; defeitos congênitos e infecções concomitantes por outros agentes.

No Brasil, Gondim *et al.* (1998) destacaram que os sintomas observados, em cães infectados pelo *Hepatozoon canis*, foram: anorexia, palidez de mucosas, perda de peso, diarreia, dor muscular, vômito, febre, poliúria e polidipsia. Os achados laboratoriais mais encontrados foram: anemia, leucocitose neutrofílica, linfopenia e monocitose e todos os animais possuíam infecções concomitantes, assim, não foi possível determinar se as alterações se deviam à infecção por *Hepatozoon canis*, a outros agentes ou a ambos.

A trombocitopenia pode estar presente em aproximadamente um terço dos animais infectados por *H. canis* e, algumas vezes, está associada à presença de co-infecção por *Ehrlichia* spp. (BANETH, 2006).

A figura 2 reúne todas as alterações encontradas nos seis hemogramas analisados, dos quais três

apresentaram anemia normocítica normocrômica. As anormalidades laboratoriais classicamente observadas na hepatozoonose incluem anemia normocítica normocrômica (INOKUMA *et al.*, 2002; PALUDO *et al.*, 2003).

No presente trabalho nos três animais em que não foi observada anemia, os valores obtidos encontravam-se próximos ao limite inferior e havia sinais de regeneração, hemácias nucleadas, anisocitose de hemácias e policromasia. Anemia discreta ou valores próximos ao limite inferior foram observados em Brasília, Brasil em cães naturalmente infectados pelo *H. canis*. (PALUDO *et al.*, 2003).

Em cinco animais foi observada a leucocitose, das quais três neutrofílicas concordando com Baneth (2006). Um desses cinco animais apresentou desvio a esquerda regenerativo.

O número de linfócitos foi bem divergente entre os animais positivos, um apresentou linfopenia, como observado também por Gavazza, Bizetti e Papini (2003); dois apresentavam-se dentro do valor de referência e três apresentaram linfocitose. Embora a linfocitose não seja um achado comum na Hepatozoonose, três dos e dezesseis animais (18,75%) com *Hepatozoon canis* descritos por Gavazza, Bizetti e Papini (2003), apresentaram linfocitose.

No presente trabalho, em três animais foi detectada monocitose, em um monicitopenia, e dois estavam dentro dos valores de referência.

A eosinopenia (n=2), eosinofilia (n=2) e valores normais de eosinófilos (n=2) foram encontrados em proporções iguais, cada uma das condições em dois animais Gavazza, Bizetti e Papini (2003), relataram que a eosinofilia foi a alteração hematológica mais comum, em 14 de um total de 16 cães com *Hepatozoon canis* por eles examinados.

Na contagem de plaquetas, três animais apresentavam-se dentro dos valores normais de referência, um apresentou trombocitose, e dois trombocitopenia. Inokuma *et al.* (2002) referiram que trombocitopenia é um achado hematológico em cães infectados com *Hepatozoon canis*.

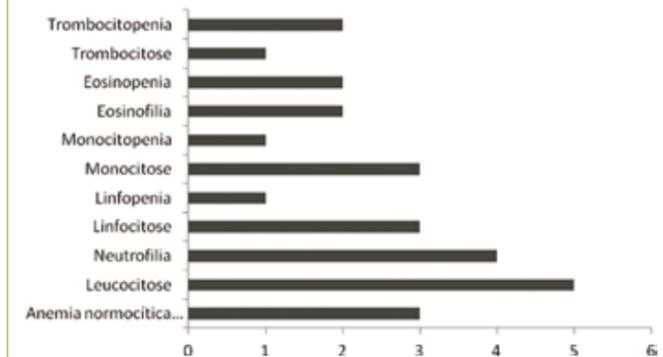


Figura 2 - Alterações encontradas nos hemogramas de seis cães infectados por *Hepatozoon canis*

Conclusão

A despeito do *Hepatozoon canis* ser um achado casual em esfregaços sanguíneos, é necessário que os médicos veterinários tomem conhecimento do ciclo de vida do parasita, da sua forma de transmissão, bem como da sua distribuição geográfica, achados clínicos e achados laboratoriais da doença, uma vez que este protozoário está presente no Brasil. 🌐

Referências

- ALMOSNY, N. R. P. **Hemoparasitoses em pequenos animais domésticos e como zoonose**. Rio de Janeiro: L. F. Livros, 2002. 135 p.
- BANETH, G., SHKAP, V., PRESENTEY, B.Z., PIPANO, E. *Hepatozoon canis*: the prevalence of antibodies and gametocytes in dogs in Israel. **Veterinary Research Communication**, v. 20, p. 41-46, 1996.
- BANETH, G., WEIGLER, B. Retrospective case-control study of hepatozoonosis in dogs in Israel. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 11, p. 365-70, 1997.
- BANETH, G. Hepatozoon canis infection. In: GREENE, C. E. **Infectious diseases of the dog and cat, Hepatozoonosis**. Canada: Saunders, 2006. p. 698-711.
- BEAUFILS, J. P., MARTIN-GRANEL, J., JUMELLE, P. H. Hépatozoonose chez le chien et chez le renard: épidémiologie, clinique et traitement. **Pratiques Médicale et Chirurgicale de l'Animal de Compagnie**, v. 33, p. 243-253, 1996.
- CALVERT, C. A. Heartworm Disease. In: MILLER, M. S., TILLEY, L. P. **Manual of canine and feline cardiology**. 2. ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 1995. p. 225-257.
- EIRAS, D. F.; BASABE, J.; SCODELLARO, C. F.; BANACH, D. B.; MATOS, M. L.; KRIMER, A.; BANETH, G. First molecular characterization of canine hepatozoonosis in Argentina: evaluation of asymptomatic Hepatozoon canis infection in dogs from Buenos Aires. **Veterinary Parasitology**, v. 149, p. 275-279, 2007.
- ELIAS, E., HOMANS, P.A. *Hepatozoon canis* infection in dogs: clinical and haematological findings. Treatment. **Journal of Small Animal Practice**, v. 29, p. 55-62, 1988.
- EZEOKOLI, C. D., OGUNKOYA, A. B., ABDULLAHI, R., TEKDEK, L. B., SANNUSI, A., ILEMOBADE, A. A. Clinical and epidemiological studies on canine hepatozoonosis in Zaria, Nigeria. **Journal of Small Animal Practice**, v. 24, p. 445-60, 1983.
- FERREIRA NETO, J. M; VIANA, E. S; MAGALHÃES, L. M. **Patologia clínica veterinária**. Belo Horizonte, Rabelo Brasil, 1977. 279 p.
- FIGUEIREDO, M. R. **Babiose e Eriquiose caninas**. 2011. 39 f. Monografia (Especialização) - Qualittas. Rio de Janeiro, 2011.
- FORLANO, M.; SCOFIELD, A.; ELISEI, C.; FERNANDES, K. R.; EWING, S. A.; MASSARD, C. L. Diagnosis of Hepatozoon spp. in Amblyomma ovale and its experimental transmission in domestic dogs in Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 134, p. 1-7, 2005.
- GAVAZZA, A.; BIZETTI, M.; PAPINI, R. Observations on dogs found naturally infected with Hepatozoon canis in Italy. **Revue de Médecine Vétérinaire**, v. 154, p. 565-571, 2003.
- GONDIN, L. F.; KOHAYAGAWA, A.; ALENCAR, N. X.; BIONDO, A. W.; TAKAHIRA, R. K.; FRANCO, S. R. Canine hepatozoonosis in Brazil: description of eight naturally occurring cases. **Veterinary Parasitology**, v. 74, n. 2-4, p. 319-23, 1998.
- INOKUMA, H.; OKUDA, M.; OHNO, K.; SHIMODA, K.; ONISHI, T. Analysis of the 18S rRNA gene sequence of a *Hepatozoon* detected in two Japanese dogs. **Veterinary Parasitology**, v. 106, p. 265-271, 2002.
- LAPPIN, M. R. Infecções protozoárias e mistas. In: ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. **Tratado de medicina interna veterinária: doenças do cão e do gato**. 5. ed. São Paulo: Guanabara Koogan, v. 1, p. 430-440, 2004.
- O'DWYER, L. H.; MASSARD, C. L.; PEREIRA, J. C. Hepatozoon canis infection associated with dog thicks of rural areas of Rio de Janeiro state, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 94, p. 143-150, 2001.

PALUDO, G. R.; DELL'PORTO, A.; TRINDADE, A. R. C.; MCMANUSA, C.; FRIENDMAN, H. *Hepatozoon* spp.: report of some cases in dogs in Brasília, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 118, p. 243-248, 2003.

PEREIRA, A. M. **Hepatozoonose canina: aspectos gerais da infecção por Hepatozoon Canis em cães (Canis familiaris) no Brasil e no mundo**. 2007. 43 f. Monografia (Especialização) - Universidade Castelo Branco. Rio de Janeiro, 2007.

TORRES, F. D.; FIGUEIREDO, L. A.; FAUSTINO, M. A. G. Ectoparasitos de cães provenientes de alguns municípios da região metropolitana do Recife, Pernambuco, Brasil. **Revista Brasileira da Parasitologia Veterinária**, v. 13, n. 4, p. 151-154, 2004.

WENYON, C. M. **Protozoology**. 2. ed. New York: Willian Wood and Company, 1926. 784 p.