

**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE MINAS  
GERAIS - CAMPUS BAMBUÍ  
CURSO DE BACHARELADO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

LUCAS FRANCISCO PEREIRA CARVALHO

**RELATO DE CASO:**

Caso de *Anaplasma phagocytophilum* diagnosticada em bezerra na cidade de Bambuí-MG

Bambuí

2023

Lucas Francisco Pereira Carvalho

**RELATO DE CASO:**

Caso de *Anaplasma phagocytophilum* diagnosticada em bezerra na cidade de Bambuí-MG

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) apresentado ao Curso de Bacharelado em Medicina Veterinária do IFMG – *Campus* Bambuí como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Medicina Veterinária.

Orientadora: Profa. Dra. Simone Magela Moreira

Bambuí

2023

Catálogo na Fonte Biblioteca IFMG - Campus Bambuí

C331r Carvalho, Lucas Francisco Pereira.

Relato de caso: caso de *Anaplasma Phagocytophilum* diagnosticada m bezerra na cidade de Bambuí-MG. / Lucas Francisco Pereira Carvalho. – 2023.

38 f.; il.

Orientadora: Simone Magela Moreira.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Minas Gerais – Campus Bambuí, MG, Curso Bacharelado em Medicina Veterinária, 2023.

1. *Anaplasma*. 2. *Phagocytophilum*. 3. Doenças de produção. I. Moreira, Simone Magela. II. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Minas Gerais – Campus Bambuí, MG. III. Título.

CDD 636.208842



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO**  
**SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA**  
**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE MINAS GERAIS**  
**Campus Bambuí Diretoria de Ensino**  
**Departamento de Ciências Agrárias**  
Faz. Varginha - Rodovia Bambuí/Medeiros - Km 05 - Caixa Postal 05 - CEP 38900-000 - Bambuí - MG  
37 3431 4900 - [www.ifmg.edu.br](http://www.ifmg.edu.br)

**ATA DE DEFESA DO TCC**

Aos **08** dias do mês de dezembro do ano de 2023, às **13:00** horas, sob a presidência da Profa. Dra. Simone Magela Moreira o discente do Curso de **Bacharelado em Medicina Veterinária**, R.A nº **0022348** do IFMG – Campus Bambuí, defendeu o Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) intitulado “**Suspeita parasitológica de Anaplasma phagocytophilum em bezerro de Bambuí-MG**” e foi APROVADO com a nota **75,8**, que está condicionada ao cumprimento dos procedimentos pós-defesa do TCC.

Caso seja aprovado, deverá apresentar o trabalho com as devidas modificações em formato pdf, em **29/12/2023** (20 dias corridos após a data da defesa) à Coordenação de TCC. O não cumprimento dos procedimentos pós-defesa de TCC até a data estipulada, implica em atribuição de nota ZERO e consequente REPROVAÇÃO.

Alterações sugeridas pela banca examinadora e outras observações pertinentes à defesa, foram enviados para o aluno e orientadora, para as devidas correções e inclusões na versão final.  
Bambuí, 08 de dezembro de 2023.



Documento assinado eletronicamente por **Simone Magela Moreira, Professora**, em 08/12/2023, às 15:22, conforme Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.



Documento assinado eletronicamente por **Thais Nascimento de Andrade Oliveira Cruz, Professora**, em 08/12/2023, às 20:42, conforme Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.



Documento assinado eletronicamente por **Michelle de Paula Gabardo, Professora**, em 23/02/2024, às 15:22, conforme Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.



A autenticidade do documento pode ser conferida no site <https://sei.ifmg.edu.br/consultadocs> informando o código verificador **1766200** e o código CRC **105D6A51**.

23209.005134/2023-81 1766200v1

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço em primeiro lugar a Deus, e aos meus pais, a educação e por nunca deixarem de me apoiar na profissão que escolhi.

Em segundo lugar, agradeço à minha namorada, familiares, padrinhos, amigos antigos e novos, que foram de suma importância nessa jornada.

E, finalmente, agradeço aos meus professores, em especial, meu primeiro orientador e amigo Marcos Meireles, que me direcionou e inspirou; à minha professora, Ariane Flávia, que não mediu esforços para me ajudar; e à minha professora e orientadora, Simone Magela Moreira, que me orientou, ensinou e muito ajudou para que chegasse até esse momento.

Obrigado a todos! Essa conquista é de todos nós!

## RESUMO

Hemopatógenos do gênero *Anaplasma* têm sido identificados como uma preocupação crescente em bovinos de diversas regiões. Em particular, o *Anaplasma phagocytophilum*, que também pode ser zoonótico, tem despertado interesse, dada sua potencial gravidade e implicações na saúde pública. O presente relato descreve um caso emergencial de uma novilha na região de Bambuí (MG) que apresentou sintomas clínicos sugestivos de hemoparasitoses. Durante um manejo rotineiro do gado na propriedade, foi detectado este animal, de aproximadamente um ano e seis meses, com manifestações clínicas agudas. Uma avaliação veterinária foi realizada imediatamente, seguida de coleta de sangue para hemograma e esfregaço sanguíneo. O hemograma revelou alterações típicas desta afecção, e o esfregaço sanguíneo evidenciou formas compatíveis com *Anaplasma phagocytophilum* no interior de neutrófilos. Diante dos achados e da urgência clínica, a novilha foi prontamente tratada com oxitetraciclina (20 mg/kg, dose única) e diaceturato de diminazeno (3,5 mg/kg, dose única). Dez dias após o tratamento, novos exames hematológicos foram conduzidos, demonstrando uma melhora significativa na anemia e monocitose previamente constatadas, reforçando a eficácia do tratamento aplicado. Com o objetivo de avaliar a circulação do patógeno na propriedade e expandir o entendimento epidemiológico da doença, amostras de sangue de dois equinos que conviviam com a novilha foram coletadas em tubos com EDTA, purificadas através de um kit Wizard® (Promega) e submetidas a PCR Nested, visando a genes específicos. No entanto, os testes resultaram negativos, proporcionando *insights* valiosos sobre a dinâmica da infecção na propriedade, sugerindo que a infecção pode estar isolada, sendo um bom indicativo de que o patógeno ainda não se disseminou amplamente. Ou, ainda, que tenha sido influenciado pela qualidade da amostra ou quantidade de material genético, sem excluir definitivamente a presença do patógeno. Dado exame parasitológico compatível, seguido de fatores geográficos e epidemiológicos, o PCR negativo pode indicar, ainda, que as práticas de manejo e controle de vetores na propriedade estão sendo eficazes, sem ignorar, contudo, a necessidade de se investigar outros patógenos potenciais que possam ter causado a sintomatologia. Em conclusão, este relato destaca a imperatividade de um diagnóstico acelerado em situações emergenciais e a relevância dos exames hematológicos como ferramentas cruciais para decisões terapêuticas, ao passo que investigações adicionais oferecem uma perspectiva abrangente sobre a epidemiologia local da doença.

Palavras-chave: Hemopatógenos; Anaplasmoze Granulocítica, Terapêutica; Epidemiologia; Manejo.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Exame das mucosas ocular e vulvar revelando palidez acentuada .....	24
Figura 2. Esfregaço sanguíneo onde foi constatada a presença de forma compatível com <i>Anaplasma phagocytophilum</i> .....	25
Figura 3. Mecanismo de Ação Tetraciclinas.....	28
Figura 4. Mucosa vulvar no dia da segunda coleta de sangue para hemograma (apresentando discreta melhora, compatível com resultados hematológicos da Tabela nº2).....	29
Figura 5. PCRs negativos realizados com amostras de sangue dos equinos .....	32

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Taxonomia <i>A. phagocytophilum</i> .....	13
Tabela 2. Hemograma nº1 animal infectado.....	26
Tabela 3. Hemograma nº2 animal infectado.....	29
Tabela 4. Hemograma Equino nº1 para investigação de patógeno na propriedade.....	30
Tabela 5. Hemograma Equino nº2 para investigação da presença do patógeno na propriedade.....	31

## **LISTA DE ABREVIATURAS**

A.G. – Anaplasma Granulocítica

EDTA- Ethylenediamine tetraacetic acid

PCR – Reação em Cadeia de Polimerase

RIFI – Reação de Imunofluorescência Indireta

RNA- Ácido Ribonucleico

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>10</b>
1.1 Problema da Pesquisa .....	11
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	<b>11</b>
2.1 Objetivo Geral .....	11
2.2 Objetivos Específicos .....	12
<b>3 REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	<b>12</b>
3.1 Anaplasmoses .....	12
3.2 <i>Anaplasma phagocytophilum</i> .....	13
3.3 Variantes descritas de <i>A. phagocytophilum</i> .....	14
3.4 Vetores e ciclo biológico .....	15
3.4.1 Ciclo biológico do vetor .....	17
3.5 Sinais clínicos em humanos .....	18
3.6 Sinais clínicos em ruminantes domésticos .....	18
3.7 Imunossupressão .....	19
3.8 Diagnóstico .....	20
3.9 Tratamento .....	20
3.10 Prevenção .....	21
<b>4 METODOLOGIA</b> .....	<b>22</b>
4.1 Classificação da pesquisa .....	22
4.2 Local da pesquisa .....	22
4.3 Diagnóstico clínico e laboratorial da suspeita de hemopatógenos .....	22
4.4 Investigação da presença do patógeno na propriedade para entender a disseminação e dinâmica da infecção na área .....	23
4.5 Exame das práticas de manejo e controle de vetores na propriedade para avaliar sua eficácia na prevenção da disseminação de <i>A. phagocytophilum</i> e outros patógenos potenciais	

## SUMÁRIO

5.1 Suspeita de hemopatógenos, diagnóstico clínico e laboratorial.....	24
5.2 Tratamento .....	27
5.3 Eficácia do tratamento.....	28
5.4 Investigação da presença do patógeno em outros animais da propriedade para entender a disseminação e dinâmica da infecção na área .....	30
5.5 Exame das práticas de manejo e controle de vetores na prevenção da disseminação de <i>A. phagocytophilum</i> e outros patógenos potenciais .....	32
<b>6 CONCLUSÃO.....</b>	<b>34</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>35</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O interesse em estudos sobre bactérias do gênero *Anaplasma*, especialmente as que afetam animais de produção, tem aumentado significativamente. Espécies como *A. marginale*, *A. ovis*, *A. centrale* e *A. phagocytophilum* são particularmente relevantes devido aos prejuízos que causam, incluindo perdas produtivas, abortos e, em casos graves, morte dos animais. Estas bactérias também impactam negativamente o bem-estar animal, acarretando custos adicionais com medicamentos e serviços veterinários. Notavelmente, algumas podem permanecer nos animais por anos sem causar sintomas clínicos, atuando como reservatórios epidemiológicos e fontes de contaminação para vetores artrópodes. Algumas espécies, como *A. phagocytophilum*, são zoonóticas e de grande relevância na Europa, embora ainda pouco estudadas no Brasil (RYMASZEWSKA; GREYDA, 2008; PRADO, 2014).

Anaplasmosose é uma doença causada por bactérias da família Anaplasmataceae, gênero *Anaplasma*, e é uma das principais doenças transmitidas por carrapatos. Provoca perdas econômicas significativas em regiões tropicais e subtropicais e está intimamente ligada à presença de carrapatos vetores. Estas bactérias gram-negativas, intracelulares obrigatórias, alojam-se em eritrócitos e leucócitos e são transmitidas por fômites contaminados, dípteros hematófagos e carrapatos (MARTINS, 2019; RYMASZEWSKA; GREYDA, 2008; ATIF, 2016). *A. marginale* é uma das principais riquetsias que afetam bovinos, causando sintomas como redução da produção, anemia e icterícia (M'GHIRBI *et al.*, 2016). Inclui várias doenças em animais e humanos, diferenciando-se por infectar leucócitos polimorfonucleares e ser capaz de causar anaplasmosose granulocítica humana, uma zoonose (PRADO *et al.*, 2017; RYMASZEWSKA; GREYDA, 2008; ANDERSON *et al.*, 2017).

Os hemopatógenos do gênero *Anaplasma* mantêm-se na natureza através de ciclos entre hospedeiros vertebrados e invertebrados, sendo *Ixodes ricinus* o carrapato mais associado à sua transmissão (SALVAGNI *et al.*, 2010; PRADO, 2014; PRADO *et al.*, 2017). No Brasil, a Anaplasmosose granulocítica é considerada uma doença emergente, com lacunas significativas em conhecimento sobre a enfermidade, sua transmissão, variantes, epidemiologia, fisiopatologia e prevalência (SALVAGNI *et al.*, 2010; PRADO, 2014).

Assim, é fundamental a necessidade de pesquisas contínuas e abordagens integradas para o manejo eficaz da Anaplasmosose. Um entendimento mais profundo da epidemiologia, transmissão e patogênese destas bactérias é vital para o desenvolvimento de estratégias de prevenção e controle mais eficientes. Isso inclui aprimoramento nos métodos de diagnóstico, tratamentos eficazes e medidas para controlar os vetores transmissores. A conscientização e a

educação dos produtores e profissionais da saúde sobre práticas de manejo adequadas e vigilância epidemiológica são essenciais para mitigar os impactos econômicos e de saúde associados a esta doença. Portanto, uma colaboração multidisciplinar entre veterinários, cientistas, profissionais de saúde pública e agricultores é indispensável para combater a anaplasmoze, protegendo a saúde animal e, por extensão, a saúde humana em áreas afetadas.

## 1.1 Problema da Pesquisa

Como o *Anaplasma phagocytophilum*, um patógeno potencialmente zoonótico, afeta bovinos em termos clínicos e hematológicos, e qual é a dinâmica de sua infecção em uma propriedade rural em Bambuí, Minas Gerais?

Esta pergunta aborda vários aspectos críticos:

- **Aspectos clínicos:** como os bovinos, especificamente uma novilha, são afetados pela infecção? Quais são os sinais e sintomas clínicos observados?
- **Diagnóstico laboratorial:** como o *A. phagocytophilum* é identificado e confirmado nos bovinos afetados? Quais são as alterações hematológicas associadas a essa infecção?
- **Tratamento e resposta:** qual é a eficácia do tratamento administrado, e como a novilha responde a ele?
- **Epidemiologia local e dinâmica da infecção:** como o patógeno está presente e se dissemina na propriedade? Existe risco de disseminação para outros animais, como os equinos mencionados?
- **Efetividade das práticas de manejo:** as práticas de manejo e controle de vetores na propriedade são suficientes para prevenir a disseminação do patógeno?

A resposta a essa pergunta de pesquisa auxilia no entendimento da doença em um contexto específico, mas pode fornecer informações valiosas para o seu manejo em outras propriedades com condições semelhantes.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo Geral

Investigar a incidência e o manejo de uma suspeita de infecção por *Anaplasma phagocytophilum* em uma novilha na região de Bambuí, Minas Gerais, avaliando as implicações clínicas, terapêuticas e epidemiológicas da doença em bovinos.

A presente pesquisa corresponde a um estudo de caso, pois centra-se na análise detalhada de um caso individual, explorando suas peculiaridades, tratamento e implicações clínicas e epidemiológicas.

## 2.2 Objetivos Específicos

- Descrever um diagnóstico detalhado do caso apresentado, incluindo avaliação clínica, hemograma e esfregaço sanguíneo, para identificar características típicas de infecção por *Anaplasma phagocytophilum*;
- Implementar um regime de tratamento adequado para a novilha infectada e monitorar a eficácia através de exames hematológicos subsequentes;
- Investigar a presença do patógeno na propriedade onde a novilha foi encontrada, incluindo a realização de testes em outros animais (como equinos) para entender a disseminação e dinâmica da infecção na área;
- Examinar as práticas atuais de manejo e controle de vetores na propriedade para avaliar sua eficácia na prevenção da disseminação de *A. phagocytophilum* e outros patógenos potenciais;
- Expandir o entendimento sobre a epidemiologia de *A. phagocytophilum* em bovinos e seu potencial zoonótico, contribuindo para a literatura científica e para as estratégias relacionadas.

## 3 REFERENCIAL TEÓRICO

### 3.1 Anaplasmosse

A anaplasmosse é uma doença infecciosa, porém não contagiosa (AUBRY; GEALE, 2011), que acomete desde canídeos e mamíferos silvestres até humanos, ruminantes, aves e equídeos, sendo transmitida por carrapatos, fômites contaminados (seringas, agulhas ou transfusão sanguínea), dípteros hematófagos e por transfusão sanguínea. De forma geral, provoca sintomatologia relacionada a perdas produtivas, em caso de animais de produção, tosse, abortos, anemia, trombocitopenia, leucopenia, febre, edema de membros, entre outros sintomas (PRADO, 2014; SALVAGNI *et al.*, 2010).

É considerada mundialmente uma das doenças transmitidas por carrapatos mais importantes, sendo, muitas vezes, subestimada em áreas endêmicas quanto à sua importância econômica e epidemiológica, sendo sua ocorrência mais comum em climas tropical e subtropical (M'GHIRBI *et al.*,2016).

### 3.2 *Anaplasma phagocytophilum*

Compreende a junção de três espécies de bactérias granulocíticas em um único complexo, *Ehrlichia phagocytophila*, *Ehrlichia equi* e o agente da Erliquiose Granulocítica Humana, sendo agrupadas graças à sua semelhança biológica e antigênica, possuindo, também, a predileção por sangue periférico em comum. Porém, são levadas em consideração, principalmente, análises do RNA ribossômico 16S e no gene groESL, além da presença de um vetor principal comum entre as três espécies, o carrapato (DUMLER *et al.*, 2001; PRADO, 2014).

Tabela 1. Taxonomia *A. phagocytophilum*

GÊNERO	<i>Anaplasma</i>
CLASSE	Alphaproteobacteria
FAMÍLIA	<i>Anaplasmataceae</i>
ORDEM	<i>Rickettsiales</i>
ESPÉCIE	<i>Anaplasma phagocytophilum</i>

Entretanto, a taxonomia correta de *A. phagocytophilum* permanece incerta, visto que somente um genoma dele foi utilizado na comparação. Dessa forma, futuramente, com numerosas análises filogenéticas e numerosos genomas do agente, além de outras sequências genômicas de *Anaplasmataceae*, será possível classificar de forma assertiva o *A. phagocytophilum* (DUGAT *et al.*,2015).

É uma bactéria Gram-negativa, geralmente pleomórfica, cocoide e elipsoidal, que se reproduz por fissão binária, uniforme ou não, dentro de vacúolos ligados à membrana citoplasmática. Podem ser únicos ou múltiplos, chamados de inclusões ou mórulas, medindo entre 1,5 a 2,5 µm, podendo chegar até a 6µm (PRADO, 2014, p. 18).

Por se tratar de bactérias granulocíticas, alojam-se no interior de neutrófilos, principalmente, conseguindo driblar o mecanismo de reconhecimento bastante sensível dos neutrófilos (principais células da defesa inata do organismo), se replicando em compartimentos ligados à membrana celular denominados mórula (RIKIHISA *et al.*, 2010).

A *.phagocytophilum* induz sua entrada na célula infectada (neutrófilos), utilizando endocitose mediada pela cavéola, sendo endocitados e isolados em compartimentos ligados à membrana citoplasmática, protegendo-se, portanto, dos marcadores tardios de endossoma ou lisossoma e do NADPH oxidase. Tudo isso sem acionar atividade microbicida da membrana, conseguindo “enganar” a resposta imune inata do organismo, além de não de possuir lipopolissacarídeo e peptidoglicano, que também ativariam tal resposta imune (RIKIHISA *et al.*, 2009).

Já no que diz respeito à fase em que já está no interior dos neutrófilos, para se replicar no interior dessas células um tanto sensíveis a antígenos, *A. phagocytophilum* inicia uma transdução de sinais bidirecionais em seu interior, utilizando o sistema tipo IV (T4S). Essa sinalização suprime respostas imunes dos neutrófilos (inibe a ativação da NADPH oxidase, fusão lisossômica com inclusões bacterianas, autofagia e sinalização de IFN- $\gamma$ ), além de aumentar a sobrevivência de neutrófilos na corrente sanguínea, a fim de se reproduzir em seu interior, visto que *A. phagocytophilum* possui um ciclo mais lento que a sobrevivência normal de neutrófilos na corrente sanguínea (cerca de doze horas) (RIKIHISA *et al.*, 2010; RIKIHISA *et al.*, 2009; PRADO, 2014).

No que se refere ao sistema T4S, existem duas linhagens ancestrais distintas, a *A. phagocytophilum* utiliza o sistema ou linhagem virB/virD, também conhecida como T4aS, que é responsável pela liberação de macromoléculas, denominadas também de substrato, ou moléculas efetoras. Estas, por sua vez, irão modular funções das células eucarióticas para seu benefício, possibilitando a proliferação da bactéria dentro dos neutrófilos, o que, naturalmente, não seria possível (RIKIHISA *et al.*, 2010).

Sua epidemiologia permanece difícil de ser completamente explicitada, em função de ciclos muito variados, em diferentes localizações, visto que envolvem uma série de vetores e espécies de hospedeiros, além do que sua transmissão se difere muito entre a Europa e os EUA, por exemplo, criando, assim, mais um empecilho para completa compreensão de sua epidemiologia (DUGAT *et al.*, 2015). Porém, sabe-se que, nos Estados Unidos, os principais reservatórios do *A. phagocytophilum* são os roedores selvagens (RIKIHISA *et al.*, 2010).

*A. phagocytophilum* é o agente causador da “Tick-borne fever”, febre transmitida por carrapatos (TBF), sendo uma doença que gera grande impacto econômico em animais de produção na Europa, além de ser causadora da anaplasmoose granulocítica humana, zoonose emergente na Ásia, Europa e Estados Unidos (DUGAT *et al.*, 2015).

### 3.3 Variantes descritas de *A. phagocytophilum*

Apesar de se tratar de uma só bactéria, há uma série de variantes descritas; entretanto, até então, não foram tão estudadas em relação ao ciclo biológico e epidemiologia. Nos EUA, as variantes distinguidas por meio das análises com base no RNA 16S foram Ap-V1 e Ap-ha (há outras, porém, pouco descritas quanto ao ciclo biológico e epidemiologia) (DUGAT *et al.*, 2015).

Ap-V1 e Ap-ha podem estar presentes no mesmo local, geograficamente falando, e ainda serem transmitidas pelos mesmos vetores. No entanto, diferem-se no ponto em que nem sempre poderão infectar os mesmos hospedeiros, visto que, enquanto Ap-ha é patogênico para seres humanos, equinos e canídeos, o Ap-V1 nunca foi associado a infecção em humanos. Outro ponto que difere as variantes é a capacidade de multiplicação, pois Ap-ha pode se multiplicar tanto em células do vetor *Ixodes* quanto em células humanas; já Ap-V1 somente se multiplica em células do vetor *Ixodes* (DUGAT *et al.*, 2015).

### 3.4 Vetores

Carrapatos são ectoparasitas, obrigatoriamente hematófagos, pertencentes ao filo *Arthropoda* e classe *Arachnida*, subdivididos em várias famílias, sendo elas, respectivamente, *Ixodidae*, *Argasidae* e *Nuttalliellidae*. Sua relevância, além de estar relacionada ao agente causador de prejuízos diretos por meio do parasitismo, está também associada à transmissão de agentes infecciosos (bactérias, protozoários, vírus e nematoides). Parasitam desde humanos até aves, ruminantes, canídeos, dentre outros, possuindo não só importância para animais de produção como também para a área de saúde única (ANDREOTTI *et al.*, 2022).

Existem mais de 940 espécies de carrapatos em todo o mundo já relatadas, sendo o Brasil detentor de 10% dessas espécies (ANDREOTTI *et al.*, 2022). Dentre as 940, 650 são classificadas como pertencentes à família *Ixodidae*, e, destas, 240 espécies são pertencentes ao gênero *Ixodes* (PRADO, 2014).

A anaplasmoze granulocítica, por sua vez, não é uma infecção contagiosa. Seu vetor *A. phagocytophilum* somente pode ser transmitido através de vetores, sendo os principais os do gênero *Ixodes*, na Europa; o *I. ricinus*, nos EUA; o *I. scapularis*, *I. pacificus* e *I. spinipalpis*, na Rússia; e Ásia Oriental, *I. persulcatus* (DUGAT *et al.*, 2015). No Brasil, não se sabe ao certo quais os responsáveis pela transmissão desse hemopatógeno; contudo, em MARTINS (2019), *I. ricinus* é descrito como uma espécie de carrapato que infesta animais silvestres no país.

Dentre as espécies responsáveis pela vetorização de *A. phagocytophilum*, todas são obrigatoriamente heteroxênicas, isto é, se alimentam de hospedeiros diferentes em cada fase de seu ciclo biológico, e não são vetores espécies-específicos, infestando diferentes espécies (PRADO,2014).

Todavia, existe a suspeita de que há mais espécies além das pertencentes ao gênero *Ixodes* envolvidas na transmissão da anaplasmoose granulocítica. Em estudo realizado na Espanha, verificou-se a presença do agente da anaplasmoose granulocítica em vetores das espécies *Hyalomma m. marginatum*, *Rhipicephalus bursa* e *Dermacentor marginatum*. Tal achado comprova a suspeita de haver transmissão de *A. phagocytophilum* através de outros carrapatos pertencentes à família *Ixodidae*, porém não o gênero *Ixodes* (o mais relacionado à doença em todo o mundo) (PRADO, 2014 *apud* DE LA FUENTE *et al.*, 2004). Já no Brasil, há somente oito espécies do gênero *Ixodes*, nenhuma delas pertencente a *I. ricinus*; dessa forma, não se sabe qual o principal vetor relacionado à transmissão do complexo *A. phagocytophilum* (PRADO, 2014).

Em estudo realizado por Santos *et al.* (2013), *A. phagocytophilum* foi detectado em carrapatos coletados de cães positivos para a anaplasmoose granulocítica. Dentre os achados, foi detectado o agente em uma fêmea de *A. cajennense* e em cinco carrapatos *R. sanguineus*.

Os vetores de *A. phagocytophilum*, no Brasil, não são conhecidos. Porém, em estudo realizado em cervídeos (importantes hospedeiros de *A. phagocytophilum*), foram detectadas as seguintes espécies de carrapato: *Amblyomma cajennense*, *Rhipicephalus microplus* e *Dermacentor nitens*, sugerindo que sua transmissão se dê através deles (SILVEIRA *et al.*, 2012).

Por meio de um relato de detecção de uma espécie de *Anaplasma* sp. filogeneticamente relacionada a *A. phagocytophilum*, no Paraná, em uma ave da espécie *Penelope obscura*, é possível associar a transmissão do *A. phagocytophilum* aos carrapatos que comumente infestam essa espécie, no caso, o *Amblyomma longirostre*, que já foi encontrado na espécie *P. obscura*, em outras aves e animais silvestres, além da detecção relatada de *Rickettsia* na espécie de carrapato *A. longirostre* (MONGRUEL *et al.*, 2017).

Em estudo realizado na Baixada Maranhense, no Brasil, foram coletadas amostras de sangue e carrapatos de equinos criados na região, sendo os carrapatos das espécies: *Dermacentor nitens*, *Amblyomma cajennense sensu lato* e *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Elas foram submetidas ao teste de reação de polimerase em cadeia, e todas se revelaram negativas para *A. phagocytophilum* (NOGUEIRA, 2017).

No que diz respeito à família *Ixodidae*, pertencente à ordem *Ixodida* (ordem de carrapatos que possui o peritremea após o terceiro ou quarto par de patas), todos os integrantes dessa família possuem escudo dorsal evidentemente queratinizado, sendo que, nos machos, ocupa todo o corpo, e, nas fêmeas, larvas e ninfas, cerca de apenas um terço (MARTINS, 2019).

### 3.4.1 Ciclo biológico do vetor

O ciclo biológico da família *Ixodidae* inicia após a cópula do macho e da fêmea, onde a fêmea cai no solo, depositando numerosas e grandes quantidades de ovos (sendo estes termodependentes) e, em seguida, morrem, enquanto os machos podem permanecer no hospedeiro por até 120 dias. Após a eclosão dos ovos, dá-se origem às larvas, que passam por um período denominado fase de adaptação, por cerca de 5 a 6 dias, aguardando passagem de hospedeiro. Após se alimentarem no hospedeiro, os artrópodes pertencentes à família *Ixodidae* passam para a fase de ninfa e se tornam adultos, dando início a um novo ciclo, que varia (MARTINS, 2019).

Dentro da classe família *Ixodidae*, há três tipos de ciclos biológicos:

- a. Monóxeno: diz respeito aos carrapatos que possuem somente um hospedeiro, compreendendo as espécies *Rhipicephalus Boophilus microplus* e *Anocentor*; passam pelos períodos ou fases de seu ciclo biológico (larvas, ninfas e adultos), todas no hospedeiro. As fêmeas caem do hospedeiro no vigésimo primeiro dia, realizando a oviposição; em seguida, as larvas retornam ao hospedeiro;
- b. Dioxeno (não há carrapatos no Brasil com esse ciclo): possuem dois hospedeiros em seu ciclo. As fases de larva e ninfa ocorrem no mesmo hospedeiro; já a fase adulta, em outro. Fêmeas ingurgitadas caem no solo para oviposição, e, logo após a eclosão dos ovos, as larvas sobem em outro hospedeiro;
- c. Trioxeno: há três hospedeiros, um para cada fase de vida do carrapato, sendo exemplos desse tipo de ciclo biológico os artrópodes dos seguintes gêneros: *Amblyomma*, *Ixodes* e *Rhipicephalus*, havendo períodos para mudas fora de hospedeiros.

Carrapatos do gênero *Ixodes*, como já descrito, possuem ciclo com três fases (trioxeno), exigindo, em cada estágio, uma refeição (sendo hematófagos, se alimentam de sangue), exceto os machos, que não se alimentam antes de passar para a fase seguinte. A infecção por *A. phagocytophilum* ocorre de duas formas principais distintas, durante a alimentação em hospedeiro infectado, ou de forma transestadial, isso é, de uma fase para a outra. Há, também,

relato de transmissão pouco comum através de coalimentação, sem necessidade de haver hospedeiro infectado (DUGAT *et al.*, 2015).

Dessa forma, o carrapato pode se infectar em todas as fases de vida, com exceção da fase de ovos, pois a fêmea adulta não transmite o hemopatógeno para os ovos. Desse modo, a transmissão só é realizada por ninfas e fêmeas adultas durante o repasto sanguíneo, momento em que trocam de hospedeiro (DUGAT *et al.*, 2015).

### **3.5 Sinais Clínicos em humanos**

Casos de AGH (Anaplasmoze Granulocítica Humana) têm sido descritos em quase todo o mundo (Ásia, América do Norte, Europa). Entretanto, de forma geral, os casos mais graves foram relatados nos Estados Unidos, onde, além de ocorrerem de forma mais frequente que nos demais locais, foram registrados, em 2012, 2.389 casos pelo Centro de Controle de Doenças (ADAMS *et al.*, 2014).

Os sintomas da anaplasmoze granulocítica em humanos são diversos e inespecíficos, podendo se assemelhar aos sintomas de uma gripe (febre, dor de cabeça, mialgia e mal-estar), além de sintomas neurológicos já relatados por ISMAIL *et al.*, 2010. Essa gama de sintomas é associada a anemia, trombocitopenia e leucopenia, sendo, em alguns casos, fatais para humanos. Porém, em 60% das ocorrências, os sintomas se manifestam como moderados (DUGAT *et al.*, 2015).

Existem relatos recentes que contrariam os sintomas comumente descritos, nos quais foram constatadas disfunção múltipla de órgãos, afecções gastrointestinais, complicações hemorrágicas, edema facial e confusão mental (DUGAT *et al.*, 2015).

### **3.6 Sinais Clínicos em ruminantes domésticos**

Até o presente momento, só há relatos de AG (Anaplasma granulocítica) em bovinos no continente Europeu, apesar de indícios de ocorrência em outras partes do globo. Os sinais clínicos mais comuns em ruminantes domésticos incluem: febre acima de 41°, anorexias, abortos, podendo levar os animais a óbito, queda de produção de leite (em animais leiteiros), edema de membro e desconforto respiratório (DUGAT *et al.*, 2015). Há, também, o problema principal da AG em ruminantes, que inclui a imunossupressão resultante de sua infecção no organismo, comum tanto em bovinos como em caprinos e ovinos, podendo acarretar septicemia secundária à AG (DUGAT *et al.*, 2015).

Em animais de fazenda, a doença causada por *A. phagocytophilum* pode passar despercebida, visto que, muitas vezes (na maioria), se apresenta como doença subclínica. Entretanto, quando o animal manifesta sintomas, estes incluem: queda na produção, febre, anorexia, abortos e anemia, podendo levar a óbito em casos mais graves (RYMASZEWSKA e GREY, 2008).

O principal problema relacionado à anaplasmose granulocítica e principal causa de prejuízos em criações de ruminantes domésticos estão ligados à imunossupressão, tanto que os primeiros pesquisadores a abordarem o tema repararam sinais clínicos característicos de infecções secundárias, como tosse e queda de produção de leite associadas a outras afecções, como Listeriose e Pasteurelose (WOLDEHIWET, 2006).

Como diferenciais em ruminantes, podemos incluir o complexo tristeza parasitária bovina, em especial, *Anaplasma marginale*, pertencente ao mesmo gênero que *Anaplasma phagocytophilum*, apresentando sintomatologia similar, além de possuir métodos para diagnóstico semelhantes (VIDOTTO *et al.*, 2001).

### 3.7 Imunossupressão

O real motivo da imunossupressão causada pelo *A. phagocytophilum* permanece não elucidado por completo. No entanto, sabe-se que tem a ver com a imunossupressão nos neutrófilos, que tem sua capacidade fagocitária e bactericida afetada pela bactéria. Acredita-se que a bactéria inibe a fusão dos grânulos com os vacúolos citoplasmáticos, além de inibir outras sinalizações relacionadas com o burst oxidativo dos neutrófilos, além de retardar a apoptose dos neutrófilos (WOLDEHIWET, 2010).

A bactéria inibe a fusão dos grânulos com os vacúolos citoplasmáticos e também outras sinalizações relacionadas com o burst oxidativo dos neutrófilos. Além disso, retarda a apoptose dos neutrófilos (WOLDEHIWET, 2010).

A anemia e a trombocitopenia são justificadas pela destruição imunomediada, fagocitose por macrófagos e diminuição da produção na medula óssea (PRADO, 2014).

Um dos mecanismos utilizados pelo *A. phagocytophilum* para inibição completa ou parcial da apoptose neutrófilos é a inibição do burst oxidativo dos neutrófilos, regulando negativamente gp91phox e rac2, importantes componentes da NADPH oxidase. A respeito da fixação do organismo na célula, acredita-se que utiliza as mesmas células ligantes de superfície que as selectinas (WOLDEHIWET, 2010).

Por meio dos estudos realizados, fica claro que a bactéria em questão possui uma série de mecanismos para imunossupressão e colonização dos neutrófilos, podendo haver, ainda, variações de mecanismos dentre as diferentes variantes dessa bactéria. Há, também, estudos relatando que a imunossupressão não se restringe aos leucócitos, mas se dá em nível sérico, havendo inibição na migração de linfócitos durante o período de infecção no organismo (WOLDEHIWET, 2010).

### 3.8 Diagnóstico

O diagnóstico de AG é realizado por meio de sinais clínicos, inicialmente detectados na clínica, e através de método diagnóstico direto, que inclui a realização de esfregaço sanguíneo, onde serão observadas inclusões em granulócitos, principalmente nos neutrófilos (PRADO,2014). Como método de confirmação da doença, poderão ser também utilizados para o diagnóstico métodos sorológicos como o ELISA, reação de imunofluorescência indireta (RIFI) e o teste de reação em cadeia polimerase (PCR) (PRADO,2014).

### 3.9 Tratamento

O grupo de antimicrobianos recomendado e mais utilizado para o tratamento são as tetraciclina, em animais, e, em humanos, é indicado o uso de doxiciclina, isso em função de seu potencial de tratar células contaminadas com organismos intracelulares. No tratamento de equinos contaminados com a AG, é recomendada a aplicação de oxitetraciclina, na dosagem de 7 mg/kg, por via intravenosa (com a veia jugular cateterizada), uma vez ao dia, por pelo menos sete dias de tratamento (PRADO, 2014).

Em bovinos, não há relatos específicos do tratamento para AG, entretanto, por se tratar de uma bactéria pertencente à mesma família de *Anaplasma marginale*, o tratamento indicado em vacas leiteiras não se difere do citado na literatura para o tratamento para AG, utilizando-se um antimicrobiano também do grupo das tetraciclina, sendo o emprego da oxitetraciclina na dosagem de 20 mg/kg seguro e eficaz para o tratamento de anaplasmoze, no geral. Há, também, o relato do uso da quinolona de quarta geração, a enrofloxacina, que apresentou ainda maior eficácia que a oxitetraciclina (ALBERTON *et al.*,2015).

A utilização da oxitetraciclina poderá contar com um aumento na dosagem e nos dias de uso, dependendo da infecção, se é persistente ou não. No caso de infecções persistentes,

poderá ser utilizada a oxitetraciclina na dosagem de 22 a 30 mg/kg, de forma intravenosa, por cinco dias (ALBERTON *et al.*,2015).

Quanto ao cloridrato de imidocarb, sua utilização na dose de 3,0 mg/kg, em duas doses, aplicadas de forma intramuscular, foi também capaz de eliminar a infecção, sendo relatada uma eficácia de 53,5% (ALBERTON *et al.*,2015, *apud* ADAMS; CORRIER, 1980). Em estudo realizado por ALBERTON *et al.*,2015, *apud* AL SAAD,2017, o cloridrato de imidocarb, utilizado em posologia de 3,5 mg/kg, em duas aplicações, com intervalo de 48 horas, demonstrou mais eficácia que o tratamento com oxitetraciclina, na dosagem de 20 mg/kg, também com duas aplicações intervaladas por 48 horas.

A enrofloxacina, uma das terapias também aceitas para anaplasnose, demonstrou tanta eficácia quanto o tratamento padrão, que utiliza a oxitetraciclina. A aplicação de 7,5 mg/kg em dose única revelou significativa queda na rickettsemia após realização do tratamento, demonstrando ser mais eficaz em fase inicial do tratamento, quando comparada aos demais protocolos terapêuticos, nos primeiros cinco dias de tratamento (oxitetraciclina e cloridrato de imidocarb), sendo que o princípio ativo apresentou-se mais eficaz segundo ALBERTON *et al.*,2015.

Apesar de haver as opções de uso de enrofloxacina ou o cloridrato de imidocarb de forma isolada, substituindo o tratamento de preleção para anaplasnose em bovinos (oxitetraciclina), todos se revelaram eficazes e seguros para combater a doença, mesmo a enrofloxacina, demonstrando ser mais eficazes no início do tratamento. Ao final do estudo realizado por Alberton *et al.*,2015, foi citada a possibilidade da utilização da enrofloxacina associada com a oxitetraciclina e/ou cloridrato de imidocarb no início do tratamento, e, em seguida, manter a efetividade deste por período mais prolongado.

### 3.10 Prevenção

Sendo o principal vetor responsável pela transmissão da *A. phagocytophilum*, o carrapato, as formas de prevenção e controle da doença envolvem o combate e a profilaxia dos carrapatos. No Brasil, as espécies de carrapatos mais comuns são *Amblyomma cajennense* e *Rhipicephalus Boophilus microplus*, não havendo comprovação de que são os responsáveis pelos agentes da A.G., porém há hipóteses convincentes de que são, de fato, importantes para a transmissão (PRADO, 2014).

## **4 METODOLOGIA**

### **4.1 Classificação da pesquisa**

A presente pesquisa corresponde a um estudo de caso, pois centra-se na análise detalhada de um caso individual, explorando suas peculiaridades, tratamento e implicações clínicas e epidemiológicas. Pode ser, ainda, classificada como exploratória e descritiva, uma vez que explora um fenômeno pouco conhecido na região (presença de *Anaplasma phagocytophilum*) e descreve as características do caso.

### **4.2 Local da pesquisa**

O presente relato foi detectado em uma propriedade rural na cidade de Bambuí, no centro-oeste do estado de Minas Gerais, Brasil. O município está situado a 725 metros acima do mar, com as seguintes coordenadas geográficas: Latitude: 20° 1' 17" Sul, Longitude: 45° 57' 39" Oeste, bioma cerrado e clima subtropical úmido.

### **4.3 Diagnóstico clínico e laboratorial da suspeita de hemopatógenos**

Para o diagnóstico clínico, foram realizados, em conjunto, o exame físico completo do animal, aferindo-se temperatura, hidratação (turgor cutâneo) e estado mental, e exame de coloração das mucosas e tempo de preenchimento capilar (TPC).

Para diagnóstico laboratorial, foi coletado sangue do animal (veia jugular), armazenado em tubo com EDTA, sob refrigeração, até o momento da realização de esfregaço sanguíneo (exame de preleção para detecção de hemopatógenos), em conjunto com hemograma, os quais foram realizados após um período de aproximadamente 24 horas da coleta, não interferindo no diagnóstico.

O esfregaço sanguíneo foi realizado conforme apresentado em WOLDEHIWET, 2006, sendo corado com Panotico ® e visualizado em microscopia óptica, sob aumento de 100X, sob imersão.

Após dez dias, foi coletada novamente amostra de sangue central (veia jugular), armazenada em tubo com EDTA, encaminhada para novo hemograma (visando aferir eficácia

do tratamento em conjunto com melhora do quadro hematológico do animal), não realizando um novo esfregaço sanguíneo.

#### **4.4 Investigação da presença do patógeno na propriedade para entender a disseminação e dinâmica da infecção na área**

Com o objetivo de avaliar a circulação do patógeno na propriedade e expandir o entendimento epidemiológico da doença, amostras de sangue venoso (não havendo necessidade de ser sangue periférico, como na tristeza parasitária, visto que essa bactéria não possui adesinas) de dois equinos que conviviam com a novilha foram coletadas em tubos com EDTA, purificadas através de um kit Wizard® (Promega) e submetidas a PCR Nested, visando a genes específicos. O processo foi efetuado somente nos equinos, por serem as espécies mais acometidas e relatadas no Brasil, até então, e por terem maior probabilidade de desenvolver a doença de forma crônica, podendo ser hospedeiros assintomáticos.

Após a coleta, o material foi enviado, sob refrigeração, para o laboratório de Protozooses da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), para diagnóstico molecular.

#### **4.5 Exame das práticas de manejo e controle de vetores na propriedade para avaliar sua eficácia na prevenção da disseminação de *A. phagocytophilum* e outros patógenos potenciais.**

Com base no acompanhamento da rotina da propriedade, descobriu-se que o controle de vetores é realizado de forma bimestral, sendo feita a variação de princípios ativos para evitar resistência. Atualmente, utiliza-se o fluazuron.

### **5 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

O presente estudo de caso foi efetuado em uma propriedade leiteira que produz, em média, de 300 a 400 litros de leite ao mês, possuindo cerca de 98 bovinos (lactantes, lactentes e recria), com um sistema de ordenha com bezerro ao pé (onde ele realiza a mamada antes e após a ordenha), criados num modelo tipo bezerreiro coletivo, onde, inicialmente, são mantidos dentro do curral e, em seguida, soltos no pasto (após duas semanas de vida, aproximadamente). Há, também, paralelamente à atividade leiteira, a criação de aves caipiras e porcos, para consumo e comercialização do excedente.

O animal em questão é fruto de IATF, com grau sanguíneo  $\frac{7}{8}$  girolando, nasceu na propriedade e foi criado no mesmo regime dos demais. Estava em regime de pastejo, onde convivia com os demais animais do bezerreiro, e com dois equinos. A suspeita se deu durante um manejo de rotina, onde o animal se apresentava caquético, pelos eriçados e mucosas pálidas (ponto principal).

### 5.1 Suspeita de hemopatógenos, o diagnóstico clínico e laboratorial

A suspeita de parasitismo por hemopatógenos surgiu durante manejo de rotina na propriedade.

Ao exame clínico, o animal apresentava-se com mucosas ocular e vulvar hipocoradas (Figura 1), diarreia, temperatura de 39,9°C, frequência cardíaca de 86 bpm, tempo de preenchimento capilar (TPC) maior que 3 segundos e turgor cutâneo também superior a 3 segundos.

Figura 1. Exame das mucosas ocular e vulvar revelando palidez acentuada e hemorragia petequiral



Fonte: elaborado pelo autor (2023).

No contexto das hemoparasitoses, durante a fase inicial da infecção, os principais alvos são as hemácias, monócitos, eosinófilos e neutrófilos, sendo que, durante o pico (auge da bacteremia), até 90% das células poderão estar infectadas, e a gravidade de infecção e o estado febril irão depender da espécie e variante envolvida e da susceptibilidade do hospedeiro (WOLDEHIWET, 2010).

A taquicardia, no caso, é considerada sinusal, ocorrendo em função de causas secundárias, como a anemia envolvida no quadro clínico (WOLDEHIWET, 2010).

A febre é um mecanismo evolutivo do organismo para o combate a infecções, onde há aumento de temperatura, havendo indícios de que esse aumento de temperatura potencialize a ação dos leucócitos. A febre se inicia com a produção de pequenos polipeptídios (pirógenos), estimulados por presença de toxinas ou bactérias no organismo animal. Eles são produzidos por diversas células, entre as quais estão os macrófagos. Dentre os pirógenos, podemos citar interleucina 1, fator de necrose tumoral, interleucina 6, e o interferon, que, ao serem liberados no organismo, se ligam a uma parte do hipotálamo (órgão vascular da lâmina). Os pirógenos chegam no local, atuando sob as células endoteliais, que liberam prostaglandina E2, responsável pela elevação do ponto de ajuste, isto é aumenta a produção e a retenção de calor (tremores, vasoconstrição periférica e piloereção) até que a temperatura corporal atinja o esperado (KLEIN, 2014).

No caso do parasitismo por *A. phagocytophilum*, observa-se febre por até quinze dias, de acordo com o hospedeiro e a variante, assim como a temperatura, podendo ultrapassar 41,8°C (WOLDEHIWET,2010).

Após diagnóstico clínico de anemia, associado a um quadro febril, foi coletado sangue central em tubo com EDTA, mantido resfriado até o momento do esfregaço sanguíneo e hemograma. O esfregaço sanguíneo foi realizado e constatou-se a presença de forma compatível com *A. phagocytophilum*, havendo uma inclusão intracitoplasmática em neutrófilo (Figura 2).

Figura 2. Esfregaço sanguíneo onde foi constatada a presença de forma compatível com *Anaplasma phagocytophilum*



Fonte: elaborado pelo autor (2023)

A visualização de formas compatíveis com inclusões intracitoplasmáticas em leucócitos, principalmente os neutrófilos, define o diagnóstico (padrão ouro) para anaplasose granulocítica, apesar da baixa sensibilidade. Porém, a especificidade correspondente (WOLDEHIWET,2006) ao exame parasitológico direto, mesmo na ausência de outros exames laboratoriais, associado aos achados clínicos, permitiu definir o diagnóstico de A.G.

No hemograma, foram detectadas alterações hematológicas também compatíveis com A.G. (Tabela 1).

Tabela 2. Hemograma nº1 animal infectado

<b>HEMOGRAMA COMPLETO – VET BOVINO</b>		
<b>Material: Sangue Método: Sistema automatizado – Fluxometria e Impedância</b>		
<b>Eritrograma</b>		<b>Valores de referência</b>
Hemácias	4,29 milhões/mm <sup>3</sup>	5.000.000 a 8.000.000/mm <sup>3</sup>
Hemoglobina	5,9 g/dL	8 a 14 g/dL
Hematócrito	18,5 %	26 a 42%
VCM	43,2 fL	37 a 54 fL
HCM	13,7 pg	-
CHCM	31,8 g/dL	26 a 36 g/dL
<b>Leucograma</b>		<b>Valores de referência</b>
Leucócitos – Global	10.800/mm <sup>3</sup>	4.100 a 12.000 mm <sup>3</sup>
Basófilos	0% - 0/mm <sup>3</sup>	Raros
Eosinófilos	1% - 51/mm <sup>3</sup>	100 a 1.500/mm <sup>3</sup>
Mielócitos	0% - 0/mm <sup>3</sup>	-
Metamielócitos	0% - 0/mm <sup>3</sup>	-
Bastonetes	9% - 459/mm <sup>3</sup>	0 a 190/mm <sup>3</sup>
Segmentados	49% - 2.499/mm <sup>3</sup>	1.500 a 5.000/mm <sup>3</sup>
Linfócitos	36% - 1.836/mm <sup>3</sup>	3.000 a 7.500/mm <sup>3</sup>
Monócitos	5% - 255/mm <sup>3</sup>	100 a 1500/mm <sup>3</sup>
Plaquetas	124.000 /mm <sup>3</sup>	175.000 a 620.000/mm <sup>3</sup>
<b>Observações:</b>		
<b>Leucócitos aparentemente normais.</b>		
<b>Contagem de plaquetas confirmadas pelo esfregaço sanguíneo. Agrupamentos não são contados na automação.</b>		
<b>Hematócrito repetido e confirmado em dois métodos distintos (Automatizado e centrifugado – Microhematócrito).</b>		

Um dos principais efeitos da infecção por *Anaplasma phagocytophilum* diz respeito aos achados hematológicos bem específicos. As alterações hematológicas são de grande auxílio no diagnóstico, sendo um dos principais efeitos da infecção de variantes de A.G. a leucopenia grave, devido à linfocitopenia, neutropenia e trombocitopenia (WOLDEHIWET, 2010).

O paciente em análise apresentava-se com anemia imunomediada, trombocitopenia e linfopenia. A anemia é um achado frequente nas anaplasmoses bovinas, que também ocorre acompanhada de uma redução do hematócrito, volume corpuscular médio e na hemoglobina (WOLDEHIWET, 2010).

A anemia, nesses casos, assim como alterações que a acompanham, ocorrem em função da maior destruição de eritrócitos pelo sistema monocítico fagocitário, apesar de não se saber

ao certo o mecanismo específico que leva à ocorrência de uma maior hemocaterese em animais infectados com a *A. phagocytophilum* (PRADO, 2014).

Não se tem certeza sobre o real o mecanismo para diminuição do número de plaquetas; entretanto, existe um consenso que seja por meio da destruição imunomediada, fagocitose por macrófagos e diminuição da produção na medula óssea (PRADO,2014).

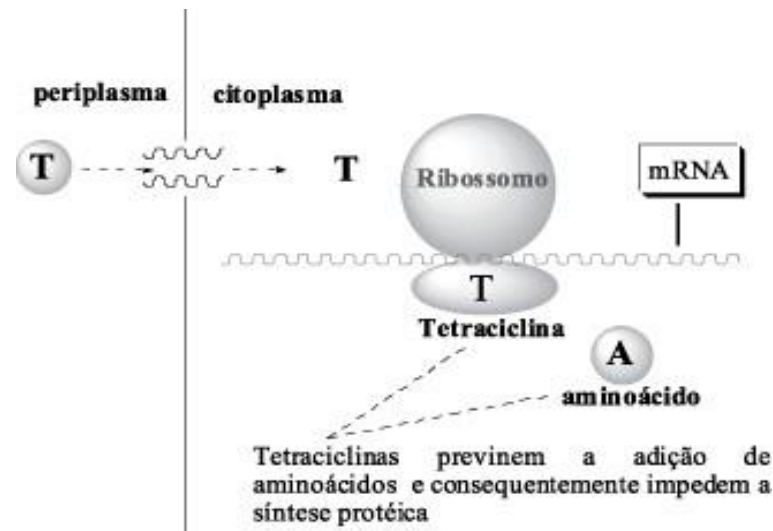
A queda significativa dos neutrófilos circulantes, tendo seu pico em aproximadamente seis dias após o início de manifestação de sinais clínicos, geralmente coincide com períodos de infecções secundárias que se dão devido à imunossupressão. Já a linfocitopenia (redução dos subgrupos T e B) ocorre de forma mais precoce (cerca de 5 dias antes), com aumento na população de um subgrupo de células T (CD8+), muito provavelmente em função de uma reação imunológica (WOLDEHIWET, 2010).

## 5.2 Tratamento

Conforme descrito em Alberton *et al.*,2015, o tratamento de escolha à anaplasrose envolve o uso de tetraciclina, associadas ou não com cloridrato de imidocarb, ou enrofloxacino.

As tetraciclina se ligam a um sítio na subunidade 30S do ribossomo bacteriano, impedindo, assim, a ligação do aminoacil-t-RNA no sítio A do ribossomo (Figura 4), a adição de aminoácidos e, conseqüentemente, impedindo a síntese proteica das bactérias (PEREIRA MAIA *et al.*,2010). São consideradas de eleição no tratamento de anaplasrose, pela ação rápida e considerável efeito residual, visto que o agente é sensível a esse princípio ativo, contrapondo sua resistência a outros antimicrobianos, como penicilinas, estreptomicinas e sulfonamidas (GOTZE *et al.*,2008).

Figura 3. Mecanismo de Ação Tetraciclinas



Fonte: Pereira Maia *et al.* (2010).

No caso analisado, foi utilizada oxitetraciclina 20 mg/kg intramuscular, dose única, associada ao diacetato de diminazeno 3,5 mg/kg, intramuscular também, em dose única, para o caso de haver uma parasitemia de babesiose secundária à imunossupressão.

A escolha se baseou no fato de ser comprovadamente eficaz no tratamento de anaplasmose em bovinos. A oxitetraciclina, um antimicrobiano pertencente à classe das tetraciclinas, quando usada experimentalmente (GOTZE *et al.*, 2008) no tratamento de animais leiteiros infectados por *A. marginale*, foi eficaz na recuperação clínica destes. Em estudos realizados *in vitro* (cultura de células HL-60), as oxitetraciclinas se mostraram também eficientes na inibição de *A. phagocytophilum* (WOLDEHIWET, 2010). Além disso, em caprinos e ovinos experimentalmente infectados, a bactéria se mostrou resistente a penicilinas, cloranfenicol, estreptomicina e ampicilina.

### 5.3 Eficácia do tratamento

Após aproximadamente 10 dias da realização da primeira coleta, recolheu-se outra amostra de sangue da veia jugular, em tubo com EDTA, que, após analisada, constatou leve melhora no quadro anêmico, ou seja, no hematócrito e na hemoglobina, além de melhora na Tabela 2 e na monocitose (Figura 5). Além disso, houve melhora da diarreia, TPC menor que 2 segundos e as mucosas apresentaram discreta melhora de coloração.

Tabela 3. Hemograma nº2 animal infectado

<b>HEMOGRAMA COMPLETO – VET BOVINO</b>		
<b>Material: Sangue Método: Sistema automatizado – Fluxometria e Impedância</b>		
<b>Eritrograma</b>		<b>Valores de referência</b>
Hemácias	5,28 milhões/mm <sup>3</sup>	5.000.000 a 8.000.000/mm <sup>3</sup>
Hemoglobina	7,30 g/dL	8 a 14 g/dL
Hematócrito	22,90 %	26 a 42%
VCM	43,37 fL	37 a 54 fL
HCM	13,83 pg	-
CHCM	31,88 g/dL	26 a 36 g/dL
<b>Leucograma</b>		<b>Valores de referência</b>
Leucócitos – Global	5.100/mm <sup>3</sup>	4.100 a 12.000 mm <sup>3</sup>
Basófilos	0% - 0/mm <sup>3</sup>	Raros
Eosinófilos	5% - 255/mm <sup>3</sup>	100 a 1.500/mm <sup>3</sup>
Mielócitos	0% - 0/mm <sup>3</sup>	-
Metamielócitos	0% - 0/mm <sup>3</sup>	-
Bastonetes	6% - 306/mm <sup>3</sup>	0 a 190/mm <sup>3</sup>
Segmentados	64% - 3264/mm <sup>3</sup>	1.500 a 5.000/mm <sup>3</sup>
Linfócitos	22% - 1122/mm <sup>3</sup>	3.000 a 7.500/mm <sup>3</sup>
Monócitos	3% - 153 mm <sup>3</sup>	100 a 1500/mm <sup>3</sup>
Plaquetas	120.000 /mm <sup>3</sup>	175.000 a 620.000/mm <sup>3</sup>
<b>Observações:</b>		
<b>Interna hipocromia e anisocitose.</b>		
<b>Leucócitos aparentemente normais.</b>		
<b>Contagem de plaquetas confirmadas pelo esfregaço sanguíneo. Agrupamentos não são contados na automação.</b>		
<b>Hematócrito repetido e confirmado em dois métodos distintos (Automatizado e centrifugado – Microhematócrito).</b>		

Tais achados foram condizentes com uma melhora do estado físico e mental do animal, que demonstrou melhora discreta na coloração da mucosa vaginal (Figura 6).

Figura 4. Mucosa vulvar no dia da segunda coleta de sangue para hemograma (apresentando discreta melhora, compatível com resultados hematológicos da tabela nº2)



Fonte: elaborado pelo autor (2023).

#### 5.4 Investigação da presença do patógeno em outros animais da propriedade para entender a disseminação e dinâmica da infecção na área

Visto que há inúmeros relatos de *A. phagocytophilum* em equinos no Brasil, a fim de entender a dinâmica de infecção na área estudada, foi realizada a coleta de sangue em tubos com EDTA em equinos que conviviam em mesmo pasto com a novilha infectada, pois, no Brasil, há inúmeros relatos da doença em equinos; dessa forma, poderiam ser possíveis hospedeiros para o agente.

Após coleta, as amostras foram encaminhadas sob refrigeração para hemograma realizado por laboratório na cidade de Bambuí e para o laboratório da Universidade Federal de Minas Gerais, onde se efetuou Reação de Cadeia Polimerase (PCR), a fim de detectar possível infecção crônica nos equinos, justificando, portanto, a infecção da novilha, dando um parecer mais detalhado a respeito da dinâmica de infecção do hemopatógeno na propriedade.

Tabela 4. Hemograma Equino nº1 para investigação de patógeno na propriedade.

<b>HEMOGRAMA COMPLETO – VET EQUINO</b>		
<b>Material: Sangue Método: Sistema automatizado – Fluxometria e Impedância</b>		
<b>Eritrograma</b>		<b>Valores de referência</b>
Hemácias	7,04 milhões/mm <sup>3</sup>	6.500.000 a 12.500.000/mm <sup>3</sup>
Hemoglobina	13 g/dL	11 a 19 g/dL
Hematócrito	40,60 %	32 a 52%
VCM	57,67 fL	34 a 58 fL
HCM	18,47 pg	-
CHCM	32,02 g/dL	31 a 37 g/dL
<b>Leucograma</b>		<b>Valores de referência</b>
Leucócitos – Global	6.9000/mm <sup>3</sup>	5.500 a 12.500 mm <sup>3</sup>
Basófilos	0% - 0/mm <sup>3</sup>	Raros
Eosinófilos	10% - 690/mm <sup>3</sup>	0 a 925/mm <sup>3</sup>
Mielócitos	0% - 0/mm <sup>3</sup>	-
Metamielócitos	0% - 0/mm <sup>3</sup>	-
Bastonetes	4% - 276/mm <sup>3</sup>	0 a 100/mm <sup>3</sup>
Segmentados	58% - 4002/mm <sup>3</sup>	2.700 a 6.700/mm <sup>3</sup>
Linfócitos	26% - 1794/mm <sup>3</sup>	1.500 a 5.500/mm <sup>3</sup>
Monócitos	2% - 138/mm <sup>3</sup>	0 a 800/mm <sup>3</sup>
Plaquetas	110.000 /mm <sup>3</sup>	100.000 a 600.000/mm <sup>3</sup>
<b>Observações:</b>		
<b>Hemácias normocíticas e homocrômicas</b>		
<b>Leucócitos aparentemente normais</b>		
<b>Eosinofilia confirmada pelo esfregaço sanguíneo</b>		
<b>Hematócrito repetido e confirmado com dois métodos distintos (Automatizado e centrifugado – Microhematócrito).</b>		

Tabela 5. Hemograma Equino nº2 para investigação da presença do patógeno na propriedade

<b>HEMOGRAMA COMPLETO – VET EQUINO</b>		
<b>Material: Sangue Método: Sistema automatizado – Fluxometria e Impedância</b>		
<b>Eritrograma</b>		<b>Valores de referência</b>
Hemácias	5,52 milhões/mm <sup>3</sup>	6.500.000 a 12.500.000/mm <sup>3</sup>
Hemoglobina	9,20 g/dL	11 a 19 g/dL
Hematócrito	28,40 %	32 a 52%
VCM	51,45 fL	34 a 58 fL
HCM	16,67 pg	-
CHCM	32,39 g/dL	31 a 37 g/dL
<b>Leucograma</b>		<b>Valores de referência</b>
Leucócitos – Global	5,300/mm <sup>3</sup>	5.500 a 12.500 mm <sup>3</sup>
Basófilos	0% - 0/mm <sup>3</sup>	Raros
Eosinófilos	8% - 424/mm <sup>3</sup>	0 a 925/mm <sup>3</sup>
Mielócitos	0% - 0/mm <sup>3</sup>	-
Metamielócitos	0% - 0/mm <sup>3</sup>	-
Bastonetes	4% - 212/mm <sup>3</sup>	0 a 100/mm <sup>3</sup>
Segmentados	60% - 3180/mm <sup>3</sup>	2.700 a 6.700/mm <sup>3</sup>
Linfócitos	26% - 1378/mm <sup>3</sup>	1.500 a 5.500/mm <sup>3</sup>
Monócitos	2% - 106/mm <sup>3</sup>	0 a 800/mm <sup>3</sup>
Plaquetas	150.000 /mm <sup>3</sup>	100.000 a 600.000/mm <sup>3</sup>
<b>Observações:</b>		
<b>Intensa hipocromia e anisocitose</b>		
<b>Leucócitos aparentemente normais</b>		
<b>Hematócrito repetido e confirmado com dois métodos distintos (Automatizado e centrifugado – Microhematócrito).</b>		

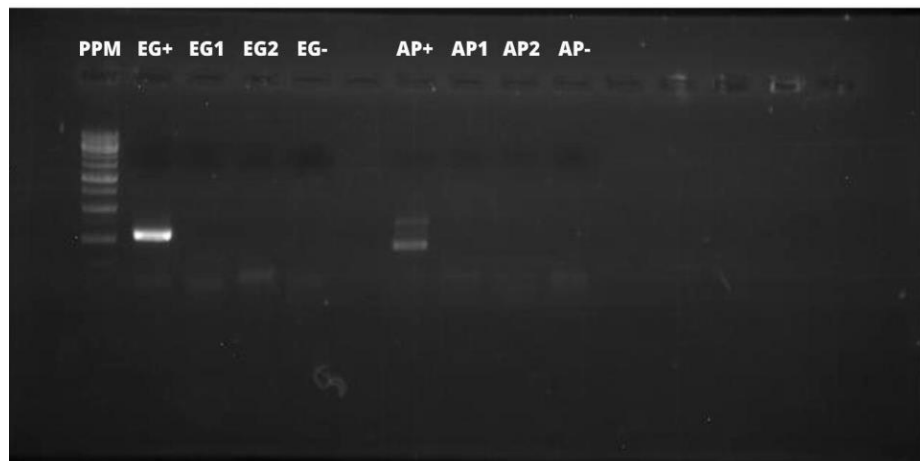
A PCR foi utilizada seguindo DE LA FUENTE *et al.*, 2005, que consideram o método diagnóstico adequado para o agente. Reação em cadeia da polimerase (PCR) sintetiza artificialmente, através de reações enzimáticas, sequências de Ácido Desoxirribonucleico (DNA) utilizando oligonucleotídeos, os primers, empregando-se como amostras principais sangue e cepa leucocitária (PRADO, 2014). O DNA foi extraído de amostras de sangue, coletadas em tubos com EDTA, dos equinos, aqui nomeados de cavalo 1 e cavalo 2. Foram purificadas por meio de um kit Wizard® (Promega), de acordo com o recomendado pelo fabricante; em seguida, as amostras foram submetidas ao PCR, visando a genes específicos (msp4 e 16 rRNA), seguindo o descrito em SILVEIRA (2015).

O PCR revelou que os equinos eram negativos para *A. phagocytophilum* (Figura 1) e, em conjunto com hemogramas, pode-se dizer que esses animais não se associam ao ciclo de transmissão do patógeno para a novilha, na propriedade. Ele foi selecionado, visto que apresenta

alta sensibilidade na detecção desse patógeno, sendo, em conjunto com o esfregaço sanguíneo, métodos padrão ouro para detecção de *A. phagocytophilum* (PRADO, 2014).

No PCR demonstrado a seguir, PPM representa o DNA de corpos de *A. phagocytophilum* (antígeno); EG+, controle positivo; EG-, controle negativo; enquanto, se os animais fossem positivos, teriam sinais de positivo em EG1 e EG2.

Figura 5. PCRs negativos realizados com amostras de sangue dos equinos



Fonte: elaborado pelo autor (2023)

### 5.5 Exame das práticas de manejo e controle de vetores na prevenção da disseminação de *A. phagocytophilum* e outros patógenos potenciais.

Na propriedade estudada, todos os bovinos, desde bezerros, até os animais já produzindo leite, são manejados contra endo e ectoparasitas de forma bimestral, ou seja, de dois em dois meses. Dessa forma, o principal vetor da A.G. é controlado a partir desse manejo bimestral, que, de fato, permite que haja um nível mínimo de vetores na fazenda, sendo, também, importantes para gerar imunidade nos animais (VESPASIANO, 2016).

Atualmente, na propriedade, são utilizados para realização do manejo vermícida e carrapaticida, fluazuron.

Fluazuron é um princípio químico presente no acaricida Contratack® injetável, na concentração de 8%. Age inibindo a síntese de quitina dos carrapatos durante o ingurgitamento; dessa forma, as teleóginas (fase de vida dos carrapatos) apresentam queda considerável na postura, morte de carrapatos imaturos e inviabilização de ovos, sendo, portanto, considerado eficaz no controle do carrapato. Dessa forma, apresenta-se como um método de controle eficaz e aceito não só para o carrapato, mas para as possíveis doenças que ele pode vetorizar (ROCHA, 2016; COUTO FILHO, 2017).

É importante destacar que um controle de parasitas eficiente visa manter um limiar de infestação e erradicação destes, podendo gerar uma falha de imunidade na qual animais sem contato com o parasita não desenvolverão imunidade para tal.

## 6 CONCLUSÃO

O presente estudo descreveu uma suspeita de caso isolado de *Anaplasma phagocytophilum* em uma propriedade em Bambuí-MG, descrevendo alterações hematológicas compatíveis com a doença e com exame parasitológico direto associado à clínica do animal, ambos também condizentes com demais relatos e literatura. A presença de um caso isolado demonstra a possibilidade de existência de mais casos em bovinos e outros animais na região, representando, portanto, um risco econômico às propriedades, além de risco à saúde única. O estudo propicia, ainda, margem para novas pesquisas nesse segmento, a fim de melhor elucidar a dinâmica de infecção da doença na região, gerando mais informações a respeito dela.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, D. *et al.* Morbidity Mortality Weekly Report Summary of Notifiable Diseases. **Center for Disease Control and Prevention**. 2014.
- ALBERTON, L. R. *et al.* "Eficácia do dipropionato de imidocarb, da enrofloxacina e do cloridrato de oxitetraciclina no tratamento de bovinos naturalmente infectados por *Anaplasma marginale*." **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 67, p. 1056-1062, 2015.
- ANDERSSON, M. O. *et al.* Co-infection with *Babesia divergens* and *Anaplasma phagocytophilum* in cattle (*Bos taurus*), Sweden. **Ticks and tick-borne diseases**, v. 8, n. 6, p. 933-935, 2017.
- ANDREOTTI, R.; GARCIA, M. V.; PAIVA, F. **Ticks of importance to One Health and animal production in Brazil**. 2022.
- ATIF, F. A. Alpha proteobacteria of genus *Anaplasma* (Rickettsiales: Anaplasmataceae): Epidemiology and characteristics of *Anaplasma* species related to veterinary and public health importance. **Parasitology**, v. 143, n. 6, p. 659-685, 2016.
- AUBRY, P., GEALE, D. W. A review of bovine anaplasmosis. **Transboundary and emerging diseases**, v. 58, n. 1, p. 1-30, 2011.
- BAKKEN, J. S. *et al.* Clinical and laboratory characteristics of human granulocytic ehrlichiosis. **JAMA**, v.275, P.199-205, 1996.
- COUTO FILHO, M. R.; GONÇALVES, G. R.; MARINO, P. C. Eficácia do controle químico de carrapatos *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* em bovinos leiteiros com uso de fluazuron: relato de caso. **Revista uningá**, v. 53, n. 2, 2017.
- DE LA FUENTE, J. *et al.* Prevalence of tick-borne pathogens in ixodid ticks (Acari: Ixodidae) collected from European wild boar (*Sus scrofa*) and Iberian red deer (*Cervus elaphus hispanicus*) in central Spain. **Eur J Wildl Res**, v.50, p. 187-196, 2004.
- DUGAT, T. *et al.* Opening the black box of *Anaplasma phagocytophilum* diversity: current situation and future perspectives. **Frontiers in cellular and infection microbiology**, v. 5, p. 61, 2015.

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 HGE agent's subjective synonyms of *Ehrlichia phagocytophila*. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, v. 51, n. 6, p. 2145-2165, 2001.**

GOTZE, M.M.; LEANDRO Q. N.; SERGIO S.S. "Efeitos da oxitetraciclina na recomposição do hematócrito de vacas leiteiras durante surto de anaplasmosse bovina." **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 17, 2008.

ISMAIL, N.; BLOCH, K. C.; MCBRIDE, J. W. Human ehrlichiosis and anaplasmosis. **Clin. Lab. Med.**, v.30, p. 261–292, 2010.

KLEIN, B. G. **Cunningham tratado de fisiologia veterinária**. 5º ed. Blacksburg, Virginia: Elsevier, 2014.

MARTINS, I. V. F. **Parasitologia Veterinária**. 2º ed. Vitória, ES. EDUFES, 2019.

M'GHIRBI, Y. *et al.* *Anaplasma marginale* and *A. phagocytophilum* in cattle in Tunisia. **Parasites & vectors**, v. 9, p. 1-8, 2016

MONGRUEL, A. C. B. *et al.* Detection of *Anaplasma sp.* phylogenetically related to *A. phagocytophilum* in a free-living bird in Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 26, p. 505-510, 2017.

NOGUEIRA, R. M. S. *et al.* Molecular and serological detection of *Theileria equi*, *Babesia caballi* and *Anaplasma phagocytophilum* in horses and ticks in Maranhão, **Brazil. Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 37, p. 1416-1422, 2017.

PEREIRA-MAIA, E. C. *et al.* **Tetraciclinas e glicilciclinas: uma visão geral**. 2010

PRADO, L. G. **Avaliação clínica e laboratorial de equídeos sororreagentes para *Anaplasma phagocytophilum* (Rickettsiales: Anaplasmataceae) em Minas Gerais, Brasil**. 2014.

PRADO, L. G. *et al.* Detecção direta e evidência de exposição à *Anaplasma phagocytophilum* em equinos de minas gerais, brasil. **Ars Veterinaria**, v. 33, n. 2, p. 57-63, 2017.

RIKIHISA, Y.; LIN, M.; NIU, H. Type IV secretion in obligatory intracellular bacterium *Anaplasma phagocytophilum*. *Cell Microbiol.*, v.12, p.1213-1221, 2010.

RIKIHISA, Y. *et al.* Type IV secretion system of *Anaplasma phagocytophilum* and *Ehrlichia chaffeensis*. *Annals of the New York Academy of Sciences*, v. 1166, n. 1, p. 106-111, 2009.

ROCHA, C. N. C. *et al.* **Eficácia da associação de abamectina com fluazuron no controle de *Rhipicephalus microplus*, *Dermatobia hominis* e nematóides gastrintestinais em bovinos.** 2016

RYMASZEWSKA, A.; GREYDA, S. Bacteria of the genus *Anaplasma*—characteristics of *Anaplasma* and their vectors: a review. *Vet Med*, v. 53, n. 11, p. 573-584, 2008.

SALVAGNI, C. A. *et al.* Serologic evidence of equine granulocytic anaplasmosis in horses from central West Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 19, p. 135-140, 2010;

SANTOS, H. A. *et al.* **Molecular epidemiology of the emerging zoonosis agent *Anaplasma phagocytophilum* (Foggie, 1949) in dogs and ixodid ticks in Brazil.** *Parasites & vectors*, v. 6, n. 1, p. 1-10, 2013

SILVEIRA, J. A. G. *et al.* The first clinical and laboratory evidence of co-infection by *Anaplasma phagocytophilum* and *Ehrlichia canis* in a Brazilian dog. *Ticks and tick-borne diseases*, v. 6, n. 3, p. 242-245, 2015.

SILVEIRA, J. A. G.; RABELO, E. M. L.; RIBEIRO, M. F. B. Molecular detection of tick-borne pathogens of the family Anaplasmataceae in Brazilian brown brocket deer (*Mazama gouazoubira*, Fischer, 1814) and marsh deer (*Blastocerus dichotomus*, Illiger, 1815). *Transboundary and emerging diseases*, v. 59, n. 4, p. 353-360, 2012.

VESPASIANO, L. C. **Dinâmica da tristeza parasitária bovina em um sistema intensivo de produção de leite em Minas Gerais.** 2016.

VIDOTTO, O., MARANA, E. R., **Diagnóstico em anaplasmose bovina.** *Ciência Rural*, v. 31, p. 361-368, 2001.

WOLDEHIWET, Z. *Anaplasma phagocytophilum* in ruminants in Europe. *Annals of the New York Academy of Sciences*, v. 1078, n. 1, p. 446-460, 2006.

WOLDEHIWET, Z. The natural history of *Anaplasma phagocytophilum*. *Veterinary parasitology*, v. 167, n. 2-4, p. 108-122, 2010.

