AVALIAÇÃO DA AMPLITUDE DE DISTRIBUIÇÃO ERITROCITÁRIA EM CÃES COM PIROPLASMOSES: UM ESTUDO PRELIMINAR

Beatriz Teixeira Gomes da Silva¹; Victor Nowosh¹; Maria Regina Ferreira² Nadia Regina Pereira Almosny³ Aline Moreira de Souza³

¹ Médico Veterinário Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Clínica Médica e Reprodução Animal da Universidade Federal Fluminense

² Médica Veterinária Formada pela Universidade Federal Fluminense

³ Professora do Departamento de Patologia e Clínica Veterinária da Universidade Federal Fluminense.

beatriztgs@hotmail.com

Recebido em: 08/09/2015 – Aprovado em: 14/11/2015 – Publicado em: 01/12/2015
DOI: http://dx.doi.org/10.18677/Enciclopedia_Biosfera_2015_092

RESUMO

A piroplasmose é uma doença causada por protozoários intraeritrocitários que compreende os gêneros *Babesia* e *Rangelia*, provocando anemia hemolítica. A amplitude de distribuição eritrocitária medida como coeficiente de variação (RDW-CV), denominada também índice de anisocitose, auxilia no diagnóstico de diversos tipos de anemia em humanos, mas é pouco estudada em animais. A anisocitose, compatível com a liberação de reticulócitos em resposta à hemólise, pode ser evidenciada precocemente pelo aumento deste índice, antes do aumento do Volume Globular Médio (VGM). Este estudo objetiva em analisar de forma preliminar o comportamento RDW-CV no hemograma de cães infectados por piroplasma. Foram analisados os resultados dos hemogramas de 186 cães com hemoparasitas atendidos em um hospital universitário no período de setembro de 2009 a agosto de 2012. Seguindo os procedimentos operacionais padrão, as amostras foram acondicionadas em tubo com EDTA e processadas no Contador Hematológico Automatizado Veterinário Poch 100iV Diff (Sysmex®) dentro de uma hora pós-coleta. Os esfregaços sanguíneos foram corados com corante instantâneo (Panótico Instant Prov®) e analisados em objetiva de imersão. Foram visualizadas durante hematoscopia inclusões de piroplasma nas hemácias de 15 (8,06%) cães do grupo total. Dos animais parasitados por piroplasma, 12 (80%) apresentaram anemia. Foram calculados média (13,53%), desvio-padrão (3,27%) e coeficiente de variação (0,27) dos valores do RDW-CV dos animais parasitados e os resultados foram comparados com os outros parâmetros eritrocitários. Concluiu-se que o RDW-CV aumenta em cães com piroplasmose e que deve ser utilizado para auxílio da interpretação da anemia em cães infectados.

PALAVRAS-CHAVE: Anemia, Automação, Babesia, Hematologia, RDW.

RED CELL DISTRIBUTION WIDTH IN DOGS WITH PIROPLASMOSIS: A PRELIMINARY STUDY

ABSTRACT

Piroplasmosis is a infectious disease caused by red-cell parasitic protozoa of genus *Babesia* and *Rangelia*, leading to haemolytic anemia. Red Cell Distribution Width expressed as Coefficient of Variation (RDW-CV), also known as Anisocytosis Index, is helpful to diagnose several types of anemia in Medicine, but it's understudied in animals. Anisocytosis, which correlates with circulating reticulocytes increase in response to hemolysis, can be detected early by a raise in this index, even before a raise in the Mean Corpuscular Value (MCV). This study aims at preliminarily analyzing the the behavior of RDW-CV in the complete blood count (CBC) parameters of dogs with piroplasmosis. CBC records from 186 hemoparasite-infected dogs treated in a University Hospital from September, 2009 to August, 2012 were reviewed. Following the standard operational procedure for blood sampling and analysis, a blood sample was collected in EDTA tube and analyzed in pocH-100iV Diff Automatic Veterinary Counter (Sysmex®) in an hour post-sampling period. Blood smears were stained in Diff-Quick Stains and observed by optical microscopy at 1000x magnification. Piroplasmid inclusions in red-cells were detected during hematoscopy of 15 (8,06%) dogs from the whole group. 12/15 (80%) infected dogs presented anemia. Mean value (13,53%), standard deviation (3,27%) and coefficient of variation (0,27) were calculated from RDW-CV obtained values, and the results were compared to the other red cell related parameters. This study shows that RDW-CV raises in dogs with piroplasmosis due to regenerative anemia, thus it should be used for interpreting it in infected dogs.

cães infectados.

KEYWORDS: Anaemia, Automation, Babesia, Hematology, RDW

INTRODUÇÃO

A piroplasmose é uma doença causada por protozários dos gêneros *Babesia* e *Rangelia*, que são transmitidos por carrapatos (*Rhipicephalus sanguineus*) e que provocam anemia hemolítica em cães (BOOZER & MACINTIRE, 2003). A babesiose canina é endêmica em todo território nacional, e por isso, possui grande importância na Medicina Veterinária (DANTAS-TORRES & FIGUEREDO, 2006). As espécies patogênicas para os cães são: *Babesia canis* e *B. gibsoni*. Esses protozoários causam uma doença grave, com anemia hemolítica, icterícia, vasculite, trombocitopenia, hepatite, glomerulonefrite e linfadenopatia reativa (THRALL, 2007).

A rangeliase é uma doença pouco relatada, e sua distribuição geográfica está concentrada no sul do Brasil. A *Rangelia vitalli* é um protozoário que provoca distúrbio hemolítico extravascular, a transmissão ocorre pelos carrapatos *Amblyomma aureolatum* e *Rhipicephalus sanguineus*. Esse protozoário se localiza no interior de vacúolos parasitóforos no citoplasma de células endoteliais, mas também pode ser encontrado livre na circulação sanguínea (MARCHAN et al., 2009).

Em 2012, LEMOS et al. realizaram um estudo na região de Teresópolis no Rio de Janeiro, onde detectaram sete amostras positivas para *Babesia* sp. pela PCR. Os produtos amplificados dessas amostras positivas foram digeridos por enzimas de restrição para realização da diferenciação das espécies de *Babesia* e apenas uma amostra foi identificada como *Babesia vogeli*, as outras seis foram então sequenciadas e se confirmou ser uma espécie geneticamente idêntica a *R.*

vitalii apresentando grande homologia (99-100%), este estudo confirmou a presença de *Rangelia* infectando cães nesta região.

As principais alterações hematológicas observadas em animais parasitados são anemia, trombocitopenia e monocitose (SALEM & FARAG, 2014). Em relação aos parâmetros eritrócitários, os mais frequentemente encontrados são anisocitose, poiquilocitose e policromasia (ZYGNER et al., 2007).

A amplitude de distribuição eritrocitária (RDW) é fornecida por aparelhos de contagem automática de células durante a realização do hemograma e indica a presença de anisocitose eritrocitária. Esta ferramenta vem sendo utilizada na Medicina Humana como ferramenta complementar no diagnóstico de alguns tipos de anemias (ALMEIDA, et al., 2006). Entretanto, pouco tem sido estudado sobre a presença de elevação dos índices de RDW antes da alteração do volume globular médio (VGM) que por representar uma média dos tamanhos das hemácias pode estar normal mesmo com a anisocitose presente e o RDW elevado (MONTEIRO, 2010).

O objetivo deste estudo foi realizar a análise preliminar do comportamento do Amplitude de Distribuição dos Eritrócitos medido como Coeficiente de Variação (RDW-CV) no hemograma de cães infectados por piroplasma.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizado levantamento dos dados de exames positivos para hemoparasitas realizados em cães atendidos no Hospital Universitário Professor Firmino Mársico Filho da Universidade Federal Fluminense (HUVET-UFF) no período de setembro de 2009 a agosto de 2012.

As amostras de sangue em tubos com anticoagulante ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) foram coletadas nos ambulatórios do HUVET-UFF e encaminhadas ao Laboratório de Patologia Clínica Veterinária, onde foram processadas em até uma hora após a coleta. Os critérios de inclusão para este estudo eram ser canino, atendido no HUVET-UFF, com presença de piroplasmídeos parasitando as hemácias detectado em esfregaço sanguíneo (Figura 1), confirmando o diagnóstico de piroplasmose. Foram excluídos animais com infecção concomitante por outros hemoparasitos.

FIGURA 1 Fotomicrografia de um esfregaço sanguíneo apresentando inclusões nos eritrócitos características de piroplasmídeos (seta). Aumento de 1000x. Coloração Instantânea. **Fonte:** Arquivos do Departamento de Patologia e Clínica Veterinária da Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ. 2015.

No processamento das amostras foi utilizado o Contador Hematológico Automatizado Veterinário Sysmex®–modelo Poch 100 iV. Esfregaços sanguíneos foram confeccionados e corados em corante instantâneo (Panóptico Instant Prov®) para análise microscópica em aumento de 1000X, para realização das contagens diferencial de leucócitos, análise da hematoscopia e pesquisa de hemoparasitos.

A partir dos valores obtidos, observaram-se os resultados dos valores de RDW-CV e Volume Globular Média (VGM), para determinar alteração nos índices de anisocitose dos animais com piroplasmose.

RESULTADOS

Um total de 15/186 (8,06%) das amostras apresentaram diagnóstico positivo para piroplasmose durante a hematoscopia e ausência de outros hemoparasitos. Destes animais positivos, 12 (80,0%) apresentaram anemia. O valor médio de VG encontrado foi de 28,92%, com desvio-padrão de 13,11%, e coeficiente de variação de 0,45. Os animais foram então separados em grupos de acordo com os critérios determinados por HAROLD (2010), em pacientes não anêmicos (VG > 37%), com anemia discreta (30 – 37%), anemia moderada (20 – 29%), anemia grave (13 – 19%) e anemia muito grave (<13%).

Utilizando os valores de referência propostos, observa-se nos resultados encontrados demonstrados na Tabela 1 que os valores de RDW-CV se apresentam acima do considerado normal para a espécie em sete animais parasitados.

TABELA 1 Distribuição de frequência de pacientes caninos parasitados por piroplasmídeos de acordo com o seu volume globular (VG), segundo os critérios de classificação de HAROLD et al. (2010). Hospital Universitário de Medicina Veterinária Professor Firmino Mársico Filho da Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ. 2009-2012.

Classificação	Referência do VG	Fa ¹	Fr ² (%)	Faa ³	Fra ⁴ (%)
Não anêmicos	> 37%	3	20,0	3	20,0
Anemia discreta	36,9 - 30%	6	40,0	9	60,0
Anemia moderada	29,9 - 20,0%	2	13,3	11	73,3
Anemia grave	19,9 - 13,0%	3	20,0	14	93,3
Anemia muito grave	< 13,0%	1	6,7	15	100,0
Total	-	15	100,0	-	-

¹ Frequência absoluta

² Frequência relativa

³ Frequência absoluta acumulada

⁴ Frequência relativa acumulada

O valor médio encontrado de VGM dos animais incluídos foi de 66,92 fL, com desvio-padrão de 3,92 fL e coeficiente de variação de 0,06. Todos os animais encontravam-se dentro dos valores de normalidade. Já, o valor médio encontrado para o RDW-CV foi de 13,53%, com desvio-padrão de 3,57% e coeficiente de variação de 0,27. Quando analisados individualmente observa-se que 7/15 (46,7%) apresentaram o RDW-CV acima dos valores considerados normais para a espécie.

Os resultados estão demonstrados na Tabela 2.

TABELA 2 Valores de Volume Globular (VG), Volume Globular Médio (VGM) e Amplitude de Distribuição dos Eritrócitos medido como Coeficiente de Variação (RDW-CV) de pacientes caninos parasitados por piroplasmídeos distribuídos em ordem crescente de acordo com o VG. Os valores acima da linha pontilhada apresentam anemia. Os valores em negrito apresentam aumento do RDW-CV. Hospital Universitário de Medicina Veterinária Professor Firmino Mársico Filho da Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ. 2009-2012.

Amostra	VG (%)	VGM (fL)	RDW-CV (%)
1	5,5	75,3	22,6
2	11,7	70,5	17,4
3	12,9	64,2	13,5
4	17,4	72,2	19,1
5	22,8	69,5	13
6	27,6	66,2	11,8
7	30,3	65,3	14,5
8	30,8	63	12,1
9	32,3	60,8	12,4
10	33,1	63,7	10,4
11	35,2	67,8	11,3
12	36	70	12,5
13	37,7	66,7	12,2
14	47	64,6	9,4
15	53,5	64	10,7
Média	28,92	66,92	13,53
Desvio-padrão	13,11	3,92	3,57
Referências	37 – 55	60 - 77	8,9 - 12,4

Os dados de VG e RDW-CV encontrados foram utilizados para a construção de um gráfico de dispersão de dados com uma linha de tendência. O coeficiente de correlação linear observado foi de -0,81, correspondendo uma correlação negativa forte entre VG e RDW-CV.

O gráfico de dispersão de dados obtidos pode ser observado na Figura 3.

FIGURA 3 Gráfico de dispersão de dados demonstrando a variação da Amplitude de Distribuição dos Eritrócitos medido como Coeficiente de Variação (RDW-CV) de acordo com o Volume Globular (VG) de pacientes caninos parasitados por piroplasmídeos. A linha pontilhada verde demarca o limite superior de normalidade para o RDW-CV. A linha pontilhada vermelha demarca o limite inferior de normalidade para o VG. Hospital Universitário de Medicina Veterinária Professor Firmino Mársico Filho da Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ. 2009-2012.

DISCUSSÃO

Os índices de anisocitose apresentam uma grande variabilidade de resultados nos diferentes equipamentos automatizados, isso constitui uma limitação para sua utilização. Devido a isso, é necessário que cada laboratório possua seu próprio valor de referência (HODGES & CHRISTOPHER, 2011). Desta forma, foram utilizados neste estudo os valores de referência propostos por SOUZA et al. (2012) de 10,74% ($\pm 1,53\%$), pois a metodologia utilizada foi semelhante à deste trabalho.

Comparando o RDW-CV com o VGM, observa-se que o RDW-CV é um parâmetro mais sensível para a detecção da anisocitose que é esperada na anemia hemolítica de origem infecciosa provocada por piroplasmas, uma vez que dos 15 animais infectados, houve aumento do RDW-CV em 7/15 (46,7%) dos casos, enquanto não foi observada alteração do VGM em nenhum dos casos. Considerando-se apenas os 12 casos com anemia, observa-se alteração em 58,3% dos casos. Isso corrobora com os achados de GONÇALVES et al. (2014), que sugere o RDW-CV como um bom parâmetro para avaliar a variação de tamanho em relação ao VGM, embora este deva ser utilizado para a avaliação completa.

O estudo de GONÇALVES et al. (2014) revelou um aumento significativo dos valores de RDW-CV somente em cães com anemia moderada (20-29%) e grave (13-19%) sugerindo que as anemias discretas induzem pouca ou nenhuma resposta medular, haja vista que a ausência de reticulocitose nas anemias discretas não leva à variação no tamanho das hemácias e assim o valor de RDW-CV se mantém dentro da normalidade. O presente estudo, entretanto, encontrou dois pacientes

apresentando anemia discreta (30-37%), contrastando com os seus resultados. Nesta análise, dos sete animais anêmicos com alteração de RDW-CV, cinco apresentaram anemia muito grave, grave ou moderada, porém apresentava anemia discreta.

Há de se considerar também que os animais sem anemia e algumas anemias discretas podem estar relacionadas a uma diminuição do volume plasmático sem alteração da massa eritrocitária, desta forma os eritrócitos ficam mais concentrados como nos casos de desidratação, hemoconcentração e hipovolemia (WATSON, 2000).

CONCLUSÃO

O índice de anisocitose aumenta em cães com piroplasmoses, apresentando uma relação inversa com o volume globular. O RDW-CV é mais sensível, sendo mais precoce do que o Volume Globular Medio para detecção da anisocitose na anemia hemolítica e saindo da faixa de normalidade mesmo em anemias discretas.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, S., CARVALHO, P., SALGADO M. Importância clínica do RDW na criança com anemia. **Saúde Infantil**. v. 28, n. 2, p. 7-11, 2006.

BOOZER, A.L.; MACINTIRE, D.K. Canine Babesiosis. **Veterinary Clinics of North America**. v. 33, n. 4, p. 885-904, 2003.

DANTAS-TORRES, F.; FIGUEREDO, L. A. Canine babesiosis: A Brazilian perspective. **Veterinary Parasitology**. v. 141, p. 197-198, 2006.

GONÇALVES D.S., ALMEIDA B.F.M., BOMFIM S.R.M., CIARLINI P.C. Variação da Distribuição do diâmetro Eritrocitário e do Volume Corpuscular Médio em Cães Anêmicos. **Ars Veterinária**. v. 30, n. 2, p. 115-119, 2014.

HAROLD, T. Laboratory and Clinical Diagnosis of Anemia. In: **Schalm's Veterinary Hematology**. 6.ed. Iowa: Blackwell Publishing, cap.24, p.152-161.2010.

HODGES, J.; CHRISTOPHER, M.M. Diagnostic accuracy of using erythrocyte indices and polychromasia to identify regenerative anemia in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**. v. 238, n. 11, p. 1452-1458, 2011.

MARCHAN, P.R.A.C.; OLIVEIRA, S.; PUNTEL, L.; BARINI, A.C.; TOMASI, P.H. Rangeliose em Cocker Spaniel – Relato de caso. Disponível em <http://oftalmovet.net/trabalhos_publicados/RANGELIOSE_EM_COCKER_SPANIEL.pdf> Acessado em 06/09/2015

SALEM, N. H.; FARAG, H.S. Clinical, Hematologic, and Molecular Findings in Naturally Occurring *Babesia canis vogeli* in Egyptian Dogs. **Veterinary Medicine International**. Volume 2014, Article ID 270345, 6 pages

SOUZA, A.M. et al. Valores dos índices de anisocitose (RDW-CV e RDW-SD) em cães: influência da idade e do sexo. **Revista Brasileira de Ciências Veterinárias**. v. 19, n. 2, p. 90-93, 2012.

THRALL, M. A. Anemia Regenerativa. In THRALL, M.A.; CAMPBELL, T.W.; DENICOLA, D.; FETTMAN, M. J.; LASSEN, E. D.; REBAR, A.; WEISER, G. **Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária**. 1ª ed. Roca: São Paulo, 2007. Cap, 8. Pag. 89 - 113.2007.

WATSON, A.D.J. Erythrocytosis and Polycythemia In: FELDMAN, B.F.; ZINKL, J.G.; JAIN, N.C. **Schalm's Veterinary Hematology**. 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000. chap. 38, p. 216-221. 2000.

ZYGNER, W., GÓJSKA, O., RAPACKA, G., JAROS, D. WEDRYCHOWICZ, H. Hematological changes during the course of canine babesiosis caused by large Babesia in domestic dogs in Warsaw (Poland). **Veterinary Parasitology**. v. 145, n. 1-2, p.146-151. 2007.