

UNIVERSIDADE DE UBERABA

CLEIBIANE EVANGELISTA FRANCO BORGES

ASPECTOS CLÍNICOS-LABORATORIAIS E ESTUDO DE CRITÉRIOS UTILIZADOS  
PARA DIAGNÓSTICO EM CÃES COM SUSPEITA DE ERLIQUIOSE E/OU  
ANAPLASMOSE CANINA

UBERABA, MG

2019



CLEIBIANE EVANGELISTA FRANCO BORGES

ASPECTOS CLÍNICOS-LABORATORIAIS E ESTUDO DE CRITÉRIOS UTILIZADOS  
PARA DIAGNÓSTICO EM CÃES COM SUSPEITA DE ERLIQUIOSE E/OU  
ANAPLASMOSE CANINA

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para  
obtenção do título de Mestre em Sanidade e Produção  
Animal nos Trópicos da Universidade de Uberaba.

Orientador: Prof. Dr. Eustáquio Resende Bittar.

UBERABA, MG  
2019

Catálogo elaborado pelo Setor de Referência da Biblioteca Central UNIUBE

- B645a Borges, Cleibiane Evangelista Franco.  
Aspectos clínicos-laboratoriais e estudo de critérios utilizados para diagnóstico em cães com suspeita de erliquiose e/ou anaplasmosse canina / Cleibiane Evangelista Franco Borges. – Uberaba, 2019.  
95 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade de Uberaba. Programa de Mestrado em Medicina Veterinária, concentração: Sanidade e Produção Animal nos Trópicos do Programa de Pós-Graduação.  
Orientador: Prof. Dr. Eustáquio Resende Bittar.
1. Cães. 2. Cães - Anaplasmosse. 3. Carrapatos como transmissores de doenças. I. Bittar, Eustáquio Resende. II. Universidade de Uberaba. Programa de Mestrado em Medicina Veterinária. III. Título.
- CDD 636.7

CLEIBIANE EVANGELISTA FRANCO BORGES

ASPECTOS CLÍNICOS-LABORATORIAIS E ESTUDO DE CRITÉRIOS UTILIZADOS PARA  
DIAGNÓSTICO EM CÃES COM SUSPEITA DE ERLIQUIOSE E/OU ANAPLASMOSE CANINA.

Dissertação apresentada como parte dos requisitos  
para obtenção do título de Mestre em Sanidade e  
Produção Animal nos Trópicos do Programa de  
Pós-Graduação em Sanidade e Produção Animal  
nos Trópicos da Universidade de Uberaba.

Área de concentração: Sanidade e Produção  
Animal nos Trópicos

Aprovada em: 05/07/2019

BANCA EXAMINADORA:



Prof. Dr. Eustáquio Resende Bittar - Orientador  
Universidade de Uberaba



Prof. Dr. Endrigo Gabellini Leonel Alves  
Universidade de Uberaba



Profª. Drª. Alessandra Aparecida Medeiros-Ronchi  
Universidade Federal de Uberlândia



*“Nada na vida deve ser temido, somente compreendido.”*

*Marie Cure*



## AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus pela oportunidade de viver e por todo o caminho que percorri até agora, e à espiritualidade amiga que me ampara e inspira em toda minha trajetória.

Aos meus pais, Beatriz Evangelista Franco Borges e Clenio Franco Borges, o meu agradecimento é infinito, pois são meus maiores exemplos de honestidade, sabedoria, dignidade e superação. Nenhuma palavra seria suficiente para agradecê-los, pois nunca medei esforços para que eu realize meus sonhos e sempre me ensinam através do exemplo. Obrigada por todo o apoio em minha vida, por cada momento que passamos juntos, pela força incondicional e pelo amigo sempre que preciso, por acreditarem sempre no meu potencial, me ouvindo e transmitindo sábios conselhos quando mais preciso. O meu amor por vocês é imensurável.

À minha irmã, Cleidenely Evangelista Franco Borges, que não é só minha irmã, mas minha amiga, que também me incentivou nesta caminhada, e é meu exemplo de sabedoria, persistência, sucesso e sinceridade. Obrigada por todos os momentos que passamos e ainda passaremos juntas, pelas palavras certas nas horas que mais precisei. A vida é muito mais feliz e leve por saber que ao olhar para o lado eu tenho você comigo.

Ao meu namorado Henrique Marques Araujo, que já está caminhando comigo há um bom tempo e sempre me apoiou, me ouvindo, acalmando e trazendo ótimos conselhos. Obrigada pela paciência e por todos os momentos felizes, pelo companheirismo e apoio nos momentos em que mais precisei. Sou muito feliz e grata a Deus por ter você comigo.

Ao meu querido e saudoso Scooby, de quem eu jamais vou me esquecer, que me acompanhou desde a infância e me inspirou a seguir essa profissão tão bela, minha eterna gratidão! Você agora faz morada nas minhas lembranças e coração. À Winnie, que traz tanta beleza e alegria à nossa casa, com o seu amor incondicional e tão puro, que nos arranca tantos sorrisos com sua personalidade ímpar.

À minha avó Luzia Divina Borges (*in memoriam*) que foi uma grande amiga, de quem eu jamais me esqueço e que foi um grande exemplo na minha vida. Minha gratidão, amor, e saudades eternas. À minha avó Margarida Marques (*in memoriam*) que eu não tive oportunidade de conhecer, mas que me deixou o maior e mais precioso presente da minha vida: a minha mãe. À minha “vódrasta” Adair Sirley por todo o carinho e presença nos meus



momentos mais importantes. Ao avô João Evangelista Júnior (*in memoriam*), que me arrancava tantos sorrisos, que sempre se mostrou tão orgulhoso das minhas conquistas. Imagino o quanto ficaria feliz com este momento! O meu eterno amor e saudades do senhor vovô. Ao avô Anaur Franco Borges pela paciência nos momentos em que estávamos juntos em sua casa, em que ele queria uma boa conversa, mas eu precisava escrever a dissertação. Com um sorriso dizia: Já formou, para que “reformular”? Mas sempre soube da importância dos meus estudos.

A todos os meus tios e tias, primos e primas, minha gratidão por sempre me apoiarem e comemorarem cada vitória comigo. Às minhas amigas Caroline, Sílvia e Paula pelos conselhos, apoio e por todos os momentos que passamos juntas.

A todos os professores que fizeram parte da minha trajetória até aqui. Agradeço especialmente a professora Dra. Joely Ferreira Figueiredo Bittar, que me inspirou a gostar da área de diagnóstico laboratorial desde que cursei a disciplina na graduação, minha eterna gratidão pelo apoio, compreensão, exemplo e conhecimentos transmitidos. Agradeço ao professor e orientador Dr. Eustáquio Resende Bittar pela paciência, conhecimentos transmitidos e pela confiança.

Agradeço à Universidade de Uberaba pela formação profissional, ao programa de Mestrado em Sanidade e Produção Animal nos Trópicos pela oportunidade de crescimento enriquecedora. A CAPES pela concessão da taxa PROSUP, sem a qual não seria possível cursar o mestrado. A todos os professores e colegas de mestrado. Ao Guilherme e Ana Paula por todo apoio para que este sonho fosse alcançado. Aos alunos de iniciação científica Janayra, Marcus e Letícia e todos os alunos da graduação pela convivência enriquecedora.

Agradeço a toda equipe do Hospital Veterinário de Uberaba. Ao Centro de Pesquisa René Rachou e ao professor Marcio Sobreira Sílvio Araújo e Josiane da Silva Quetz.

Minha eterna gratidão a todos que de alguma maneira contribuíram para realização deste sonho!



## RESUMO

A erliquiose e anaplasose canina constituem um desafio na clínica de pequenos animais, por possuírem sinais inespecíficos e alterações hematológicas variáveis com as fases das doenças. A associação de sinais clínicos com fatores de risco para sua ocorrência é essencial para determinar a suspeita clínica e os métodos diagnósticos a serem utilizados. O presente estudo objetivou descrever os aspectos clínico, epidemiológico, parasitológico e sorológico de 98 cães com suspeita de erliquiose e /ou anaplasose, atendidos no Hospital Veterinário de Uberaba e analisar quais critérios levaram o clínico à suspeita. Foram divididos dois grupos: CS (com sinais compatíveis) e SS (sem sinais compatíveis), onde 56,12% (55/98) faziam parte do CS e 43,87% (43/98) do SS. A maior parte dos animais dos dois grupos era fêmeas, de 1 a 5 anos, de raça definida. Foram analisados os fatores de risco para as doenças. Os hemogramas foram realizados para detecção de alterações compatíveis (anemia, leucopenia e trombocitopenia). Realizou-se esfregaço sanguíneo de ponta de orelha para pesquisa parasitológica e teste sorológico Alere Erliquiose Ac Test Kit<sup>®</sup>. Na pesquisa parasitológica 4,65% (2/43) e 7,27% (4/55) foram positivos no grupo SS e CS, respectivamente. Na sorologia, 76,74% (33/43) e 38,18% (21/55) foram positivos no grupo SS e CS, respectivamente. A partir resultados parasitológico e sorológico, criaram-se quatro categorias: C1 (parasitológico positivo e sorológico positivo); C2 (parasitológico positivo e sorológico negativo); C3 (parasitológico negativo e sorológico positivo) e C4 (parasitológico negativo e sorológico negativo). Houve diferença significativa quanto a presença de carrapatos, e no grupo CS e na C3 quanto a epistaxe e esplenomegalia. Ainda foi avaliada a realização ou não de tratamento com doxiciclina nas categorias em relação aos grupos CS e SS. Concluiu-se, que para um diagnóstico preciso, é necessário que o médico veterinário obtenha o histórico do animal e realize um exame clínico detalhado, considerando as particularidades de cada paciente, selecionando criteriosamente os testes diagnósticos, para definir o prognóstico e plano terapêutico a ser instituído.

**Palavras-chave:** *A. platys*, *E. canis*, alterações



## ABSTRACT

Canine ehrlichiosis and anaplasmosis are challenging in the small animal clinical practice since they have nonspecific signs and have hematological changes that are variable according to the disease stages. The association of clinical signs with risk factors for its occurrence are essential to determine the clinical suspicion and the diagnostic methods to be used. The present study aimed to describe the clinical, epidemiological, parasitological and serological aspects of 98 dogs with suspected ehrlichiosis and/or anaplasmosis attended at the Veterinary Hospital of Uberaba and to analyze which criterions led the clinician to the disease suspicion. Two groups were divided: CS (with compatible signs) and SS (without compatible signs), where 56,12% (55/98) belonged to CS and 43,87% (43/98) belonged to SS. Most of the animals of the two groups were females, 1 to 5 years old, defined breed. Risk factors for the diseases were analyzed. Blood counts were performed to detect compatible abnormalities (anemia, leukopenia and thrombocytopenia). Ear tip blood smear to detect parasitological blood infection, and Alere Erliquiose AC Test Kit<sup>®</sup> serological test were performed. The parasitological blood analyses revealed 4,65% (2/43) and 7,27% (4/55) positive blood infection in group SS and CS, respectively. The serological analyses revealed 76,74% (33/43) and 38,18% (21/55) positive blood infection in group SS and CS, respectively. According to parasitological and serological results, four categories were created: C1 (positive parasitological and positive serological analyses); C2 (positive parasitological and negative serological analyses); C3 (negative parasitological and positive serological analyses) and C4 (negative parasitological and negative serological analyses). The analyses showed significant statistic differences in group CS and C3 for epistaxis and splenomegaly. The performance or nonperformance of doxycycline treatment also has been analyzed in the categories in relation to the SS and CS groups. In conclusion, it is needed that the veterinary doctor obtains the animals' medical history and perform detailed clinical examinations considering the particularities of each patient and selecting carefully the complementary analyses to achieve an accurate diagnosis and to define the prognosis and therapeutic plan to be established.

**Key-words:** *A. platys*, *E. canis*, changes



## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1:** Mórula de *Ehrlichia canis* encontrada através de pesquisa parasitológica em monócito de cão infectado ..... **16**
- Figura 2:** Mórula de *Anaplasma platys* encontrada através de pesquisa parasitológica em plaqueta de cão infectado..... **17**
- Figura 3:** Punção de gota de sangue de ouvido externo de cão para obtenção de amostra (A) para confecção de esfregaço (B) para pesquisa parasitológica ..... **25**
- Figura 4:** Resultados negativo (A) e positivo (B) do teste imunoensaio cromatográfico para pesquisa de anticorpos IgM e IgG anti *Ehrlichia canis* ..... **26**
- Figura 5:** Frequência de sinais clínicos apresentados pelos cães CS (com sinais compatíveis) e SS (sem sinais compatíveis) atendidos no Hospital Veterinário de Uberaba com suspeita clínica de erliquiose e/ou anaplasmose. Teste Fisher com nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ ) ..... **27**
- Figura 6:** Perfis eritrocitários (A), leucocitários (B) e plaquetários (C) dos animais CS (com sinais compatíveis e SS (sem sinais compatíveis com suspeita de erliquiose e/ou anaplasmose canina atendidos no Hospital Veterinário de Uberaba. Teste de Fisher com nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ ) ..... **29**
- Figura 7:** Perfil parasitológico em relação a pesquisa de mórulas de *E. canis* e *A. platys* (A) e sorológico de IgG e IgM anti-*E. canis* de cães CS (com sinais compatíveis) e SS (sem sinais compatíveis) com suspeita de erliquiose e/ou anaplasmose canina atendidos no Hospital Veterinário de Uberaba. Teste de Fisher com nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ ) ..... **30**
- Figura 8:** Perfis eritrocitário (A), leucocitário (B) e plaquetário (C) apresentados pelas categorias C1, C2, C3, e C4 em relação aos animais CS (com sinais compatíveis) e SS (sem sinais compatíveis) com suspeita de erliquiose e/ou anaplasmose canina atendidos no Hospital Veterinário de Uberaba. Teste de Fisher com nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ ) ..... **32**



**Figura 9:** Realização ou não de tratamento para as enfermidades (Doxiciclina) das categorias C1, C2, C3 e C4 em relação aos animais CS (com sinais compatíveis) e SS (sem sinais compatíveis) com suspeita de erliquiose e/ou anaplasnose canina atendidos no Hospital Veterinário de Uberaba .....**33**



## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> Caracterização epidemiológica dos grupos sem sinais clínicos compatíveis (Grupo SS) e com sinais clínicos compatíveis (Grupo CS) em relação a sexo, faixa etária e raça de cães atendidos no Hospital Veterinário de Uberaba com suspeita de erliquiose e/ou anaplasmoses	<b>28</b>
<b>Tabela 2</b> Fatores de risco para ocorrência de hemoparasitoses considerados nos prontuários de cães com suspeita clínica de erliquiose e/ou anaplasmoses canina atendidos no Hospital Veterinário de Uberaba .....	<b>28</b>
<b>Tabela 3</b> Prevalência C1, C2, C3, C4 no Grupo SS e Grupo CS .....	<b>30</b>
<b>Tabela 4</b> Alterações clínicas compatíveis com as enfermidades encontradas nas categorias C1, C2, C3 e C4 em relação aos grupos CS e SS .....	<b>31</b>



## LISTA DE ABREVIATURAS

*E.canis Ehrlichia canis*

*A.platys Anaplasma platys*

<b>PCR</b>	Reação de Polimerase em Cadeia
<b>DNA</b>	Ácido Desoxirribonucleico
<b>RIFI</b>	Reação de Imunofluorescência Indireta
<b>ELISA</b>	Ensaio Imunoenzimático
<b>HVU</b>	Hospital Veterinário de Uberaba
<b>EDTA</b>	Ácido etilenodiaminotetracético di-sódico
<b>IgG</b>	Imunoglobulina G
<b>IgM</b>	Imunoglobulina M
<b>Grupo SS</b>	Grupo sem sinais compatíveis
<b>Grupo CS</b>	Grupo com sinais compatíveis
<b>C1(P+S+)</b>	Categoria 1 (parasitológico positivo e sorológico positivo)
<b>C2 (P+S-)</b>	Categoria 2 (parasitológico positivo e sorológico negativo)
<b>C3 (P-S+)</b>	Categoria 3 (parasitológico negativo e sorológico positivo)
<b>C4 (P-S-)</b>	Categoria 4 (parasitológico negativo e sorológico negativo)

*R. sanguineus Rhipicephalus sanguineus*



## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	14
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	16
2.1 PARASITO <i>Ehrlichia canis</i> .....	16
2.2 PARASITO <i>Anaplasma platys</i> .....	16
2.3 AS DOENÇAS: ERLIQUIOSE MONOCÍTICA E ANAPLASMOSE CANINA.....	17
2.4 DIAGNÓSTICO .....	19
2.4.1 Teste Parasitológico .....	20
2.4.2 Testes Sorológicos .....	21
2.5 TRATAMENTO .....	22
<b>3 OBJETIVOS</b> .....	23
3.1 OBJETIVO GERAL .....	23
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	23
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	24
4.1 LOCAL DE REALIZAÇÃO DO EXPERIMENTO .....	24
4.2 ANIMAIS EXPERIMENTAIS.....	24
4.2.1 OBTENÇÃO DE DADOS EPIDEMIOLÓGICOS E CLÍNICOS .....	24
4.2.2 AVALIAÇÃO HEMATOLÓGICA.....	24
4.2.3 AVALIAÇÃO PARASITOLÓGICA .....	25
4.2.4 IMUNOENSAIO CROMATOGRÁFICO .....	25
4.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	26
<b>5 RESULTADOS</b> .....	27
<b>6 DISCUSSÃO</b> .....	34
<b>7 CONCLUSÕES</b> .....	41
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	42
ANEXO A – OFÍCIO DE APROVAÇÃO COMITÊ DE ÉTICA E EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (UNIUBE).....	48



## 1 INTRODUÇÃO

As hemoparasitoses têm se tornado um grande desafio para o médico veterinário de pequenos animais (MAZZOTI et al.,2018), e a erliquiose monocítica e anaplasmosse canina apresentam elevada casuística em clínicas de animais de companhia e hospitais veterinários (DUMLER et al., 2001). No Brasil,a prevalência destas enfermidades, varia de 4,8% a 70,0 %, dependendo da região estudada (DAGNONE et al., 2003, AGUIAR et al., 2007; SANTOS et al., 2009). Estima-se que na região Sudeste do país, juntamente as regiões Nordeste, Sul e Centro-oeste, a erliquiose seja diagnosticada em 20 a 30% dos cães atendidos (COSTA, 2015).

A erliquiose monocítica canina e a trombocitopenia cíclica canina são doenças causadas por bactérias gram-negativas intracelulares obrigatórias, da ordem Rickettsiales e família Anaplasmataceae, cujos agentes etiológicos são *Ehrlichia canis* e *Anaplasma platys* respectivamente, transmitidos pelo carrapato *Rhipicephalus sanguineus*(DUMLER et al., 2001;MAVROMATIS et al., 2005; ESPINDOLA et al., 2016;).

As alterações clínicas e hematológicas das duas infecções são inespecíficas, o que torna o diagnóstico complexo e desafiador, sendo que na erliquiose há variação no quadro apresentado de acordo com as fases da doença (aguda, subclínica ou crônica) (TILLEY, 2003; ISOLA et al., 2012; MAZZOTI et al.,2018). Muitas vezes, ao observar que o paciente apresenta apenas um sinal característico da doença, o clínico suspeita da enfermidade, não considerando outros aspectos associados às doenças e/ou as particularidades de cada cão atendido. Alguns fatores predis põem a ocorrência das doenças, como por exemplo, a presença de carrapatos, que são os vetores transmissores da doença (AZEVEDO et al., 2011), e muitas vezes, mesmo que o animal apresente outras condições clínicas, são considerados importantes pelo veterinário para suspeita clínica.

Para um diagnóstico presuntivo, o ideal é que o médico veterinário associe as alterações observadas clinicamente e hematologicamente, e para diagnóstico definitivo, torna-se necessário a utilização de testes como: parasitológico, que permite a visualização das mórulas dos parasitos; sorológico, que detecta os títulos de anticorpos anti-*E. canis* e anti-*A. platys*; ou PCR, através da detecção de DNA dos agentes. Todos os testes auxiliam no diagnóstico das enfermidades, mas possuem algumas limitações, como: reação cruzada, resultados falsos positivos ou falsos negativos (TRAPP et al., 2006; MACHADO et al., 2010; SOUSA et al., 2010; COSTA, 2015).



Assim, o objetivo deste trabalho foi descrever os perfis clínicos, epidemiológicos, hematológicos, parasitológicos e sorológicos de cães atendidos no Hospital Veterinário de Uberaba com suspeita de erliquiose e/ou anaplasmose, bem como realizar uma análise dos dados gerados durante o atendimento dos animais, com o intuito de observar a prevalência das doenças através dos testes realizados e definir os critérios que levaram os médicos veterinários à suspeita clínica.

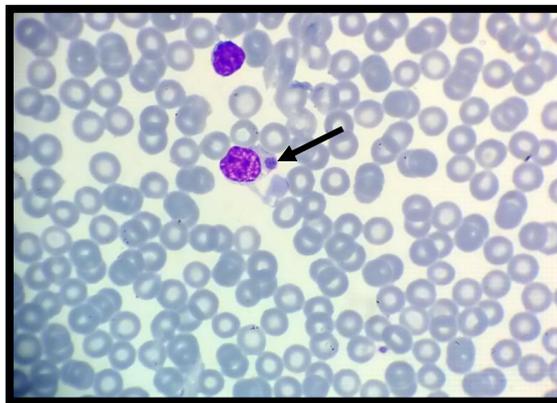


## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 PARASITO *Ehrlichia canis*

O parasito *E.canis* foi descrito pela primeira vez por Donatien e Lestoquard (1935), na Argélia, que o denominaram como *Rickettsia canis*. Foi renomeado como *Ehrlichia canis* em 1945 (FONSECA, 2012). Seu primeiro relato no Brasil ocorreu em Belo Horizonte, Minas Gerais (COSTA et al., 1973).

São bactérias gram-negativas, intracelulares obrigatórias, que parasitam as células hematopoiéticas, principalmente monócitos e macrófagos, e ocasionalmente os neutrófilos, e que são transmitidas através da saliva infectada do carrapato *Rhipicephalus sanguineus*, durante repasto sanguíneo (DUMLER et al., 2001; DANTAS TORRES, 2008). Apresenta-se de três formas: corpúsculos elementares, corpúsculos iniciais e mórulas (Fig. 1). Os corpúsculos elementares são estruturas amorfas de vários tamanhos, que podem ser visualizadas nos vacúolos do citoplasma dos monócitos. Os corpúsculos iniciais são compostos de vários grânulos. Esses dois tipos de corpúsculos devem ser diferenciados de granulações azurófilas, que são comuns no citoplasma das células sanguíneas mononucleares dos cães hípidos. As mórulas são colônias arredondadas e podem ser observadas a partir do décimo terceiro dia após a inoculação do agente (ALMOSNY et al., 2002).



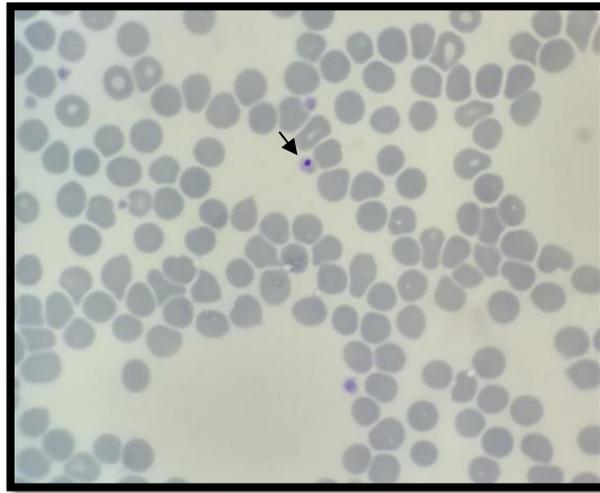
**Figura 1:** Mórula de *Ehrlichia canis* encontrada através de pesquisa parasitológica em monócito de cão infectado. (Fonte: Arquivo Pessoal)

### 2.2 PARASITO *Anaplasma platys*

Harvey et al. (1978) descreveram um microorganismo similar a *Ehrlichia sp.*, que causava trombocitopenia cíclica induzida, e em uma infecção experimental foram observadas duas a três inclusões em plaquetas, de sete a doze dias após infecção. Anteriormente este



hemoparasita foi denominado *Ehrlichia platys*. Dumler et al. (2001) sugeriram a mudança para a nomenclatura atual: *Anaplasma platys* (Figura 2).



**Figura 2:** Mórula de *Anaplasma platys* encontrada através de pesquisa parasitológica, em plaqueta de cão infectado. (Fonte: Arquivo Pessoal)

Trata-se de uma bactéria gram-negativa que infecta as plaquetas dos cães, sendo visualizada como inclusões basofílicas, arredondadas, ovais ou achatadas, envolvidas por uma membrana dupla, que se reproduz por fissão binária (DAGNONE, 2001; ALMOSNY et al., 2002). Esta bactéria é transmitida pelo carrapato *Rhipicephalus sanguineus* (INOKUMA et al., 2000; GARCIA et al., 2018).

### 2.3 AS DOENÇAS: ERLIQUIOSE MONOCÍTICA E ANAPLASMOSE CANINA

A erliquiose e anaplasmose canina possuem grande importância na clínica de pequenos animais, devido a grande prevalência de tais enfermidades nos cães (DAGNONE et al., 2001; DOS SANTOS et al., 2018; DE HOLANDA et al., 2019;). Os agentes causadores das duas enfermidades se disseminam na corrente sanguínea do hospedeiro podendo lesionar ou alterar a função das células sanguíneas, fazendo com que a anaplasmose e erliquiose canina representem um grande desafio ao clínico de pequenos animais, uma vez que estas doenças expressam sinais clínicos inespecíficos, limitando o diagnóstico preciso, minimizando assim as chances de recuperação do paciente (DE HOLANDA et al., 2019).

Os estudos a respeito da epidemiologia das doenças demonstram que a prevalência das mesmas é alta, dependendo da região e população canina (animais hospitalizados, cães errantes ou de companhia) e também do tipo de diagnóstico utilizado, com variação de 4,8% no extremo sul brasileiro a 70,9% na região centro-oeste (DAGNONE et al., 2003; SANTOS et al., 2009; UENO et al., 2009; COSTA-JUNIOR et al., 2013). A prevalência do vetor



*Rhipicephalus sanguineus*, que é comumente encontrado no Brasil, pode justificar a ocorrência de tais enfermidades em diversas regiões do país. A erliquiose e anaplasmose são consideradas endêmicas em várias regiões (VIEIRA et al.,2011).

No Brasil, têm sido realizados estudos sobre a *Ehrlichia canis* e *Anaplasma platys*, tratando de aspectos como os sinais clínicos observados, a idade, raça e sexo dos cães acometidos, bem como a presença de ectoparasitas, com o objetivo de padronizar os fatores de risco para a infecção (DAGNONE et al., 2003; TRAPP et al., 2006).Costa (1973) relata casos de coinfeção de tais enfermidades. O desenvolvimento das doenças é mais comum nos períodos mais quentes do ano, momento que favorece o desenvolvimento do vetor transmissor. Não há predileção em relação ao sexo ou faixa etária para ocorrência das doenças e trabalhos realizados não demonstraram diferença significativa em relação a estes fatores (LABARTHE et al., 2003; SILVA, 2015; RIBEIRO et al., 2017; MAZZOTTI et al., 2018). Em relação á predisposição racial, alguns autores relatam que na erliquiose monocítica canina, a raça Pastor Alemão é mais sensível. Ainda há relatos de maior susceptibilidade das raças: Cocker, Old English, Sheepdog e Poodle(FERREIRA e VIANA, 1981; ALMOSNY , 2002).

A erliquiose pode se manifestar nas formas: aguda, subclínica e crônica, onde o animal pode apresentar: letargia, anorexia, mucosas pálidas, linfadenomegalia, palidez de mucosas, anemia, leucopenia e trombocitopenia (DE HOLANDA et al.,2019).Durante a fase aguda os sinais são inespecíficos, podendo ocorrer anorexia, hipertermia; letargia; perda de peso; linfadenomegalia; esplenomegalia; hepatomegalia, distúrbios pulmonares e alterações oculares (BREITSCHWERDT, 2004). A trombocitopenia ocorre por consumo, destruição ou sequestro de plaquetas. Nesta fase as petéquias podem não ser observadas e a trombocitopenia pode ser discreta. O número de leucócitos pode variar, e ocorre anemia devido à supressão e destruição rápida dos eritrócitos (ALMOSNY, 2002; DE HOLANDA et al., 2019). A fase subclínica pode durar de meses a anos e os cães não manifestam sinais clínicos, embora possuam o agente, podendo ocorrer trombocitopenia leve, anemia e leucopenia. Alguns cães imunocompetentes conseguem eliminar o agente e se recuperam sem passarem pela fase crônica (HARRUS et al., 1998; BREITSCHWERDT, 2004;DE HOLANDA et al.,2019). Durante a fase crônica os sinais clínicos irão variar de acordo com a gravidade da enfermidade e com os órgãos afetados, podendo ocorrer: glomerulonefrite; esplenomegalia; insuficiência renal; uveíte; depressão; paresia; anorexia e perda de peso (BREITSCHWERDT, 2004). Neste período pode ocorrer trombocitopenia grave e serão observados: epistaxe,



petéquias ou equimoses hemorrágicas; hematúria; melena; e uveíte anterior (NEER e HARRUS, 2006).

*Anaplasma platys* realiza parasitemia cíclica em um intervalo de 10 a 14 dias. Alguns dias após infecção as plaquetas diminuem de forma brusca, momento em que o parasito desaparece da circulação, diminuindo assim as chances de visualização do mesmo. Com o desaparecimento do microorganismo, o número de plaquetas volta ao normal dentro de três a quatro dias. Com o tempo e cronicidade da doença, ocorre trombocitopenia moderada com o aparecimento esporádico do hemoparasita (WOODY e HOSKINS, 1991; NEER e HARRUS, 2006). Dentre os sinais clínicos que podem ocorrer estão: anorexia, letargia, depressão, perda de peso, linfadenomegalia, mucosas hipocoradas e distúrbios hemostáticos. Porém, na maior parte das vezes os cães acometidos são assintomáticos. Hematologicamente podem ser observados: anemia normocítica normocrômica, leucopenia etrombocitopenia (HARRUS et al., 1997a; CARDOZO et al, 2007; HARVEY, 2006; NEER e HARRUS, 2006; RIBEIRO et al., 2017).

## 2.4 DIAGNÓSTICO

O diagnóstico da anaplasnose e erliquiose canina representa um grande desafio ao clínico, uma vez que os animais acometidos apresentam sinais inespecíficos (TILLEY, 2003; ISOLA et al., 2012; MAZZOTI et al., 2018; DE HOLANDA et al., 2019). Para um diagnóstico correto, é necessária a obtenção do histórico e realização de exame clínico detalhados, considerando as particularidades de cada paciente. Associado a essas condutas, é necessário o conhecimento dos testes diagnósticos disponíveis para as enfermidades, para uma seleção criteriosa de exames complementares a fim de obter-se o diagnóstico, definir o prognóstico e plano terapêutico a ser instituído (PIRES, 2010).

Clinicamente a anaplasnose e erliquiose canina apresentam sinais semelhantes, podendo ser observados: mucosas hipocoradas, anorexia, hipertemia, letargia, perda de peso, linfadenomegalia, esplenomegalia, hepatomegalia, alterações oculares, petéquias, sendo que o animal também pode ser assintomático (HARRUS et al., 1998; BREITSCHWERDT, 2004; NEER e HARRUS, 2006; DE SÁ et al., 2018). É necessário considerar ainda os fatores de risco, como por exemplo: presença do ectoparasita transmissor e/ou histórico anterior das doenças.



Hematologicamente, podem ser observados: anemia; leucopenia; leucocitose, dependendo da fase da doença e trombocitopenia (ALMOSNY, 2002; DE NEER e HARRUS, 2006; HOLANDA et al., 2019)

Os testes utilizados para diagnóstico das duas enfermidades podem ser: parasitológico, sorológico ou molecular. O teste parasitológico consiste na identificação das mórulas de *E. canis* em leucócitos, ou *A. platys* em plaquetas, através de esfregaço sanguíneo realizado com sangue total ou papa de leucócitos (MACHADO et al., 2010).

Existem vários métodos sorológicos para pesquisa de anticorpos anti-*E. canis* e anti-*A. platys*. Estes detectam anticorpos precoces em até sete dias após infecção, porém a maioria dos animais é soropositiva somente após vinte e oito dias de infecção. A RIFI (reação de imunofluorescência indireta) pode ser usada para diagnosticar tanto presença de anticorpos anti-*E. canis*, quanto anti-*A. platys*, porém, em cada um destes pode ocorrer reação cruzada entre espécies do mesmo gênero. O ensaio imunoenzimático possui a mesma especificidade e sensibilidade do RIFI, porém sua realização é mais rápida (MACHADO et al., 2010; COSTA, 2015). Ainda nos métodos sorológicos, também pode ser utilizada a imunocromatografia, que detecta os anticorpos anti- *Ehrlichia canis*.

O diagnóstico molecular, a PCR (reação de polimerase em cadeia) é considerado o teste padrão ouro para anaplasmose e erliquiose canina, por ser altamente sensível e específico (COSTA, 2015).

#### 2.4.1 Teste Parasitológico

O exame parasitológico é realizado através de microscopia óptica, onde podem ser visualizadas as mórulas de *E. canis* nos leucócitos, e *A. platys* nas plaquetas. Este teste é simples, porém é pouco sensível, principalmente na fase crônica das infecções, quando a parasitemia é baixa (NEER e HARRUS, 2006). Na fase aguda da erliquiose normalmente são detectadas as mórulas de *E. canis*, sendo rara a detecção destas nas fases subclínica e crônica, o que pode gerar resultados falso-negativos. Uma das limitações deste método na detecção de *Anaplasma platys* é a característica de parasitemia cíclica deste agente infeccioso (CULLEN et al., 2007).

Dos Santos et al. (2018), analisaram amostras de 538 cães com suspeita de hemoparasitose, das quais apenas 260 animais foram positivos para hemoparasitoses através do esfregaço sanguíneo, e destes, 4% (19/260) para *Ehrlichia spp.*, e 0,8% (2/260) para *Anaplasma spp.*, sendo que o restante dos animais foram positivos para outras



hemoparasitoses, como *Babesia* spp., *Hepatozoon* spp. e *Leishmania* spp. Silva (2015), em uma pesquisa para identificação de *A. platys* e *E. canis* em felídeos e canídeos, não identificou mórulas em nenhum dos esfregaços analisados, sendo que as mesmas amostras passaram por diagnóstico molecular, que demonstrou que 72, 2% dos canídeos e 36,4% dos felídeos eram positivos. Ueno et al. (2009) observaram positividade para *E. canis* em 7,1% de 70 cães testados pelo método de esfregaço sanguíneo.

Mylokianis et al. (2003) realizaram a comparação entre o diagnóstico direto para *Ehrlichia canis*, a partir do sangue periférico, papa leucocitária, aspirados de medula óssea e linfonodo, e concluíram que o diagnóstico a partir do sangue periférico apresentou menor sensibilidade (8%), enquanto a papa leucocitária apresentou 66% de sensibilidade, medula óssea (34%), e linfonodos (60,9%).

A ausência do hemoparasita no esfregaço sanguíneo não exclui a possibilidade da infecção (WODDY e HOSKINS, 1991). A positividade através deste método diagnóstico coincide com o pico de parasitemia dos cães, e cabe ao médico veterinário, diante de suspeita clínica e resultados negativos em esfregaço sanguíneo, associar os testes sorológicos e /ou moleculares.

#### 2.4.2 Testes Sorológicos

Os testes sorológicos mais utilizados para detecção de anticorpos anti-*E. canis* e anti-*A. platys* são imunofluorescência indireta (RIFI), ensaio imunoenzimático (ELISA), além dos testes de imunoensaio cromatográfico (Waner et al., 2001).

A RIFI é aplicável tanto em estudos experimentais, quanto para estudos epidemiológicos, sendo que os antígenos utilizados provém do cultivo de células infectadas com os hemoparasitos de interesse. Na erliquiose, por exemplo, ocorre uma detecção precoce de IgG até sete dias após a infecção, embora na maioria das vezes o cão será soropositivo vinte e oito dias pós infecção (Harus et al., 1997). Para detecção de anticorpos anti-*A. platys*, a RIFI também pode ser utilizada, e não são observadas reações cruzadas entre *A. platys* e *E. canis*, porém existem possibilidades de ocorrer reação cruzada entre *A. platys* e *A. phagocytophilum* (NEER e HARRUS, 2006). Os testes ELISA são usados no diagnóstico das Rickettsioses nas fases subclínica ou crônica, devido a baixa frequência de mórulas durante estas fases (ALMOSNY, 2002).

Valente (2014) realizou um estudo de 93 amostras de cães, utilizando o método sorológico de reação de imunofluorescência indireta (RIFI), onde nenhum dos animais foi



positivo no esfregaço sanguíneo, mas 49,5% foram positivos para *E. canis*. ORIÁ et al. (2008) observaram uma frequência 86,21% de animais positivos para *E. canis* através de RIFI e ELISA.

Aguiar e Souza (2018) realizaram o teste de imunocromatografia em 459 cães com suspeita de erliquiose. Deste total, 87,8% dos animais foram positivos, sendo que nenhuma das amostras testadas foi considerada inconclusiva ou inválida. No imunoensaio cromatográfico os anticorpos anti-*E. canis* são detectados de 7 dias (IgM) a 15 dias (IgG) pós infecção, sendo que podem ocorrer resultados falso-positivos quando há reação cruzada com outras espécies de *Ehrlichia* ou cicatriz imunológica, visto que os anticorpos podem permanecer circulantes por três a onze meses após tratamento e cura do animal. Através deste tipo de teste não é possível diferenciar uma infecção atual de uma exposição anterior ao agente, visto que ele detecta tanto IgM quanto IgG (WANER et al., 2001; ALMOSNY et al., 2002; AGUIAR et al., 2007).

## 2.5 TRATAMENTO

Dentre os fármacos existentes para o tratamento de erliquiose e anaplasmoses canina, as tetraciclina e seus derivados, principalmente a doxiciclina, por ter maior chance de eliminar os agentes, é utilizada na dose de 10 mg/kg via oral, uma vez ao dia, por 28 dias (WOODY e HOSKINS, 1991; DAGNONE et al., 2002; MACHADO et al., 2010). Alguns autores relatam que o tratamento pode durar de 7 a 21 dias, e que a dose pode variar de 5mg/Kg a 10 mg/kg, embora a eficácia do fármaco utilizado na dose de 10 mg/kg foi demonstrada em alguns estudos (BREITSCHWERDT et al., 1998; DE PAULA et al., 2018; DE SÁ et al., 2018). O uso de dipropionato de imidocarb associado a doxiciclina tem se mostrado eficaz e tem sido bastante difundido entre os clínicos de pequenos animais (MYLOKANIS et al., 2001).



### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

Descrever os perfis clínicos, epidemiológicos, hematológicos, parasitológicos e sorológicos de animais atendidos no Hospital Veterinário de Uberaba com suspeita clínica de anaplasmose e/ou erliquiose canina, e estabelecer os critérios que levaram o clínico a suspeitar das doenças.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliação dos dados clínicos, epidemiológicos e hematológicos de pacientes com suspeita clínica;
- Pesquisa de mórulas de *Ehrlichia canis* em monócitos e *Anaplasma platys* em plaquetas, através de teste parasitológico;
- Pesquisa de anticorpos anti-*Ehrlichia canis* através de imunoenensaio cromatográfico;
- Correlacionar os aspectos clínicos, epidemiológicos, hematológicos, parasitológicos e sorológicos com os critérios que levaram o clínico a suspeitar das doenças.



## 4. MATERIAL E MÉTODOS

O projeto de pesquisa foi submetido ao comitê de ética em experimentação Animal – Ofício CEEA–037/2017, sendo considerado aprovado (ANEXO A).

### 4.1 LOCAL DE REALIZAÇÃO DO EXPERIMENTO

O experimento foi conduzido no Ambulatório e Enfermaria de pequenos animais do Hospital Veterinário de Uberaba, onde foram acompanhadas as consultas e/ou internação dos animais escolhidos para a pesquisa, bem como a obtenção dos prontuários de cada paciente.

Nos laboratórios de Análises Clínicas e Medicina Veterinária Preventiva do HVU foram realizados hemograma, teste sorológico e parasitológico.

### 4.2 ANIMAIS EXPERIMENTAIS

Foram acompanhados 98 cães atendidos e/ou internados no Hospital Veterinário de Uberaba no período de julho de 2017 a junho de 2018, com suspeita de erliquiose e/ou anaplasmosse canina.

#### 4.2.1 OBTENÇÃO DE DADOS EPIDEMIOLÓGICOS E CLÍNICOS

Foram obtidos os dados epidemiológicos referentes a idade; raça, sexo, presença de carrapatos e/ou histórico clínico de hemoparasitoses; convívio com outros cães; acesso à rua; e sinais clínicos compatíveis com as enfermidades estudada.

Como critério para confirmar a suspeita clínica de hemoparasitose realizada pelo clínico, observou-se se os animais apresentavam três ou mais sinais e/ou fatores de risco compatíveis com as doenças, como: anorexia; presença de ectoparasitas, palidez de mucosas; esplenomegalia; hipertermia e epistaxe (ALMOSNY, 2002; NEER e HARRUS, 2006; DE SÁ et al.; 2018; DE HOLANDA et al.; 2019). A partir deste critério foram divididos dois grupos: grupo CS (com sinais característicos) e grupo SS (sem sinais característicos).

#### 4.2.2 AVALIAÇÃO HEMATOLÓGICA

As amostras de sangue colhidas em tubos com anticoagulante (etilenodiaminotetracético di-sódico – EDTA) foram submetidas à realização de hemograma no Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Veterinário de Uberaba, com contagem de hemácias, dosagem de hemoglobina, hematócrito, leucócitos totais e plaquetas através de



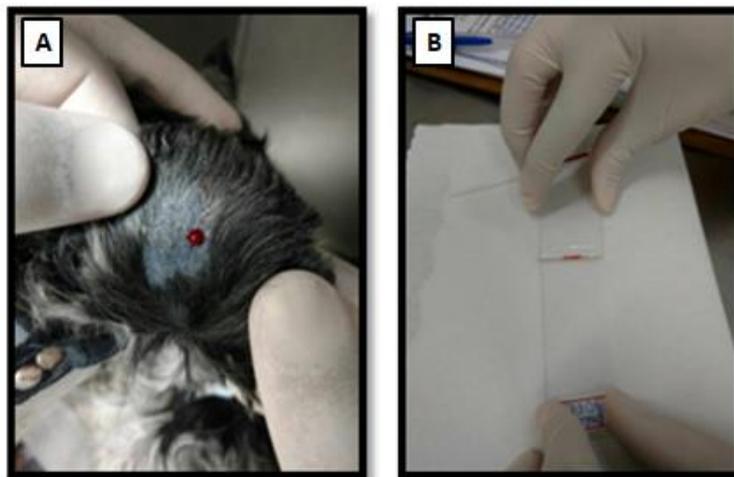
analisador hematológico ABCVet® e contagem diferencial realizada em esfregaço sanguíneo corado por Panótico Rápido®, através de leitura em microscópio óptico NIKON®(aumento 1000x).

Para confirmar se os dados hematológicos eram compatíveis com a suspeita clínica de hemoparasitose, utilizou-se como critério a presença de duas ou mais alterações consideradas comuns nas doenças estudadas como: anemia; leucopenia e trombocitopenia (ALMOSNY, 2002; BREITSCHWERDT, 2004; NEER e HARRUS; 2006; DE HOLANDA et al.; 2019).

#### 4.2.3 AVALIAÇÃO PARASITOLÓGICA

Foram confeccionados esfregaços sanguíneos de sangue da ponta de orelha de todos os animais para pesquisa parasitológica.

Para coleta de gota de sangue em ponta de orelha, os animais eram contidos, com prévia socialização e aproximação, objetivando reduzir ao máximo o estresse destes. Inicialmente era realizada tricotomia da ponta de orelha para punção. A punção era realizada com agulha descartável BD® de calibre 25 x 0,80 mm. O tubo capilar era posicionado na gota de sangue obtida (Fig 3A), para posterior confecção da lâmina (Fig.3B). Depois de confeccionadas, as lâminas foram identificadas e coradas, e a leitura realizada em microscópio óptico NIKON®(aumento 1000x) para observação de mórulas de *Ehrlichia canis* em monócitos e de *Anaplasma platys* em plaquetas.

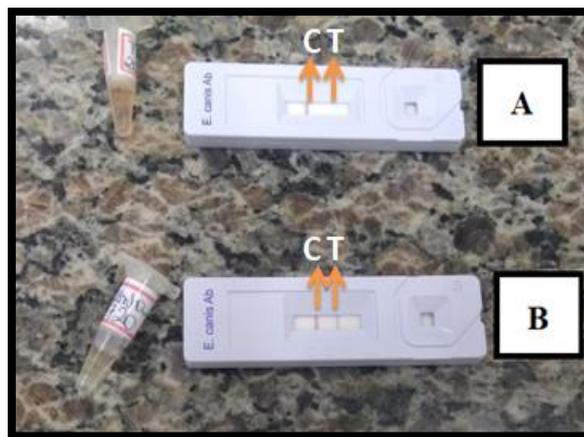


**Figura 3:** Punção de gota de sangue do ouvido externo de cão (A) para confecção de esfregaço (B) para pesquisa parasitológica (Fonte: Arquivo Pessoal)

#### 4.2.4 IMUNOENSAIO CROMATOGRÁFICO



Amostras de sangue acondicionadas em tubo sem coagulante foram obtidas, e o soro separado para pesquisa de anticorpos IgG e IgM anti *Ehrlichia canis*. Utilizou-se teste imunocromatográfico Alere Erliquiose Ac Test Kit<sup>®</sup> conforme as recomendações do fabricante. Inicialmente 10µL do soro de cada animal a ser testado e duas gotas da solução tampão foram adicionadas ao teste e após vinte minutos realizou-se a leitura e interpretação dos resultados segundo as recomendações do fabricante. O resultado foi considerado negativo quando somente a linha controle (C) era visível (Fig.4 A), e positivo quando as linhas C e T (teste) apareciam, não importando a ordem de aparição destas, nem a intensidade da cor de cada uma (Fig.4B). A partir dos resultados dos testes parasitológico e sorológico, foram criadas quatro categorias: C1 (parasitológico positivo e sorológico positivo), C2 (parasitológico positivo e sorológico negativo), C3 (parasitológico negativo e sorológico positivo) e C4 (parasitológico negativo e sorológico negativo).



**Figura 4:** Resultados negativo (A) e positivo (B) do teste de imunoensaio cromatográfico para pesquisa de anticorpos IgM e IgG anti *Ehrlichia canis* (**Fonte:** Arquivo Pessoal)

### 4.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

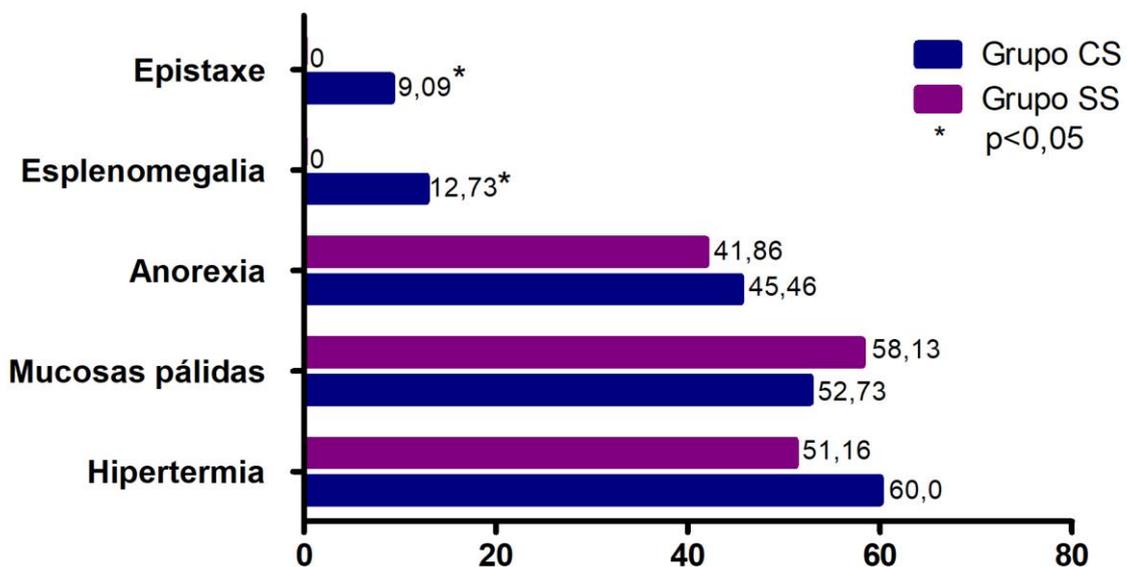
A presença de sinais clínicos compatíveis ou não nos grupos indicados em relação aos dados epidemiológicos e/ou perfil parasitológico e sorológico foram tabulados e submetidos à análise estatística pelo teste de Fisher com nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ ). Os dados foram submetidos à análise estatística descritiva, calculando-se a média e o desvio padrão. As análises estatísticas foram realizadas por meio do software Statistica 8.0 (STATSOFT, TULSA, 2008).



## 5 RESULTADOS

Dos 98 animais com suspeita clínica de erliquiose e/ou anaplasnose, 55 (56,12%) apresentavam três ou mais sinais clínicos e/ou fatores de risco compatíveis com as enfermidades estudadas, fazendo parte do grupo CS (com sinais compatíveis), e 43 (43,88%) apresentavam menos de dois sinais clínicos e/ou fatores de risco compatíveis com as enfermidades, fazendo parte do grupo SS (sem sinais compatíveis).

Notou-se diferença significativa ( $p < 0,05$ ) em relação a epistaxe e esplenomegalia (Fig 5).



**Figura 5:** Frequência dos sinais clínicos apresentados pelos cães CS (com sinais compatíveis) e SS (sem sinais compatíveis) atendidos no Hospital Veterinário de Uberaba com suspeita clínica de erliquiose e/ou anaplasnose. Teste de Fisher com nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ )

No grupo SS existiam diversas causas que motivaram a consulta, inclusive emergências como trauma, atropelamento, choque elétrico. Mas notou-se em 25,58% (11/43) desse grupo, que a suspeita clínica foi pela observação de presença de carrapatos ou histórico das doenças. Ainda no grupo SS, 74,42% (32/43) não apresentava nenhum ou menos de dois sinais característicos das doenças estudadas.

Em relação ao sexo, idade e raça houve diferença significativa entre os grupos CS e SS, como pode ser observado na Tabela 1. Porém, a maior parte dos animais tanto do grupo CS quanto do grupo SS eram fêmeas, de raça definida, de 1 a 5 anos. Em relação à raça, tanto



no grupo CS quanto SS a maior parte dos animais era da raça Poodle (CS: 21,43% - 06/28; SS: 17,24% - 05/29), seguido da raça Pinscher (CS: 14,28% - 04/28; SS: 13,79% - 04/29).

**Tabela 1** – Caracterização epidemiológica dos grupos sem sinais clínicos compatíveis (Grupo SS) e com sinais clínicos compatíveis (Grupo CS) em relação a sexo, faixa etária e raça de cães atendidos no Hospital Veterinário de Uberaba com suspeita de erliquiose e/ou anaplasmosse.

GRUPOS	SS (n=43)		CS (n=55)	
	N	%	N	%
<b>Sexo</b>				
Fêmeas	24	55,81 <sup>a</sup>	33	60,00 <sup>a</sup>
Machos	19	44,19 <sup>a</sup>	22	40,00 <sup>a</sup>
<b>Faixa Etária</b>				
1 a 5 anos	21	48,84 <sup>a</sup>	28	50,91 <sup>a</sup>
6 a 10 anos	18	41,86 <sup>a</sup>	14	25,45 <sup>a</sup>
11 a 15 anos	4	9,30 <sup>a</sup>	13	23,64 <sup>a</sup>
<b>Raça</b>				
Raça definida	29	67,44 <sup>a</sup>	28	50,91 <sup>a</sup>
Sem raça definida	14	32,56 <sup>a</sup>	27	49,09 <sup>a</sup>

**Nota:** Letras minúsculas distintas nas colunas indicam diferenças significativas ( $P < 0,05$ ) entre os grupos pelo teste de Fisher

Observou-se que 60,46% dos animais do Grupo SS conviviam com outros cães, fator que apresentou diferença significativa ( $p < 0,05$ ) no Grupo SS. Notou-se diferença significativa nos dois grupos quanto a presença de carrapatos (Tabela 2).

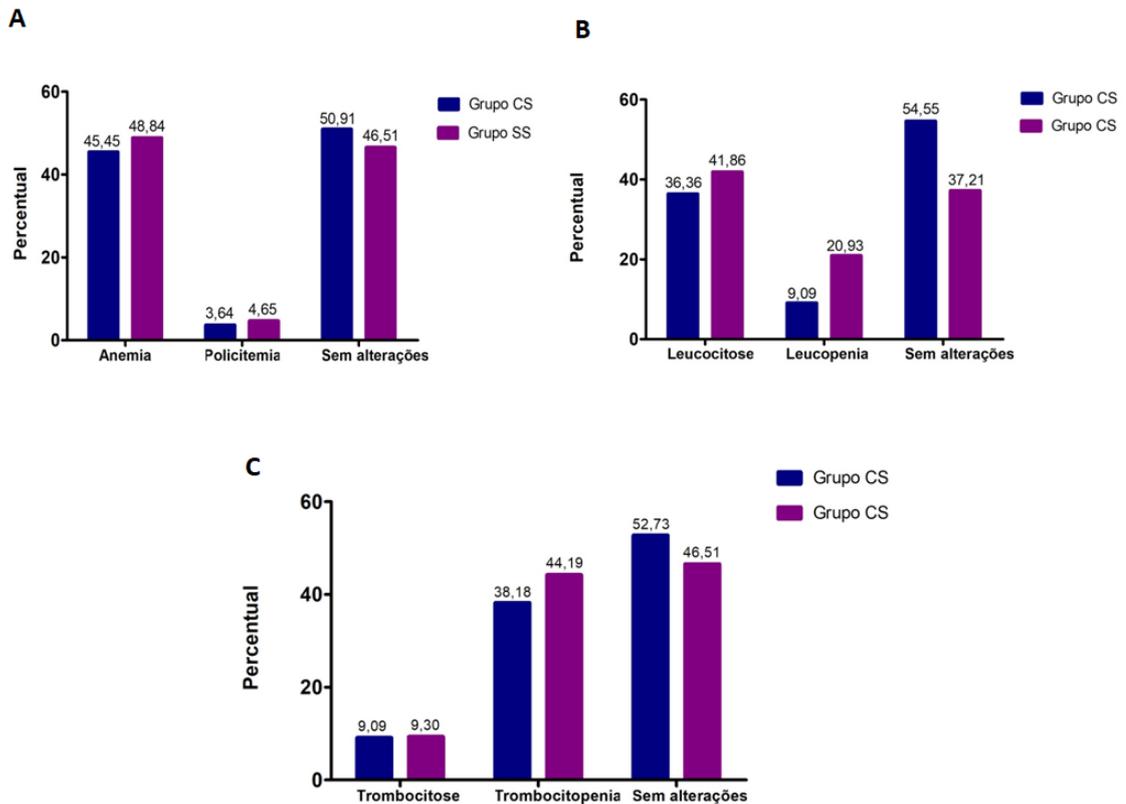
**Tabela 2:** Fatores de risco para ocorrência de hemoparasitoses considerados nos prontuários de cães com suspeita clínica de erliquiose e/ou anaplasmosse canina atendidos no Hospital Veterinário de Uberaba

Convívio com outros cães	SS (n=43)		CS (n=55)	
	N	%	N	%
Sim	26	60,47 <sup>b</sup>	11	20,00 <sup>a</sup>
Não	2	4,65 <sup>a</sup>	2	3,64 <sup>a</sup>
Não informado no prontuário	15	34,88 <sup>a</sup>	42	76,36 <sup>a</sup>
<b>Acesso á rua</b>				
Sim	21	48,84 <sup>a</sup>	21	38,18 <sup>a</sup>
Não	7	16,28 <sup>a</sup>	7	12,73 <sup>a</sup>
Não informado no prontuário	15	34,88 <sup>a</sup>	27	49,09 <sup>a</sup>
<b>Presença de Carrapatos</b>				
Sim	11	25,58 <sup>b</sup>	42	76,36 <sup>b</sup>
Não	32	74,42 <sup>a</sup>	13	23,64 <sup>a</sup>

**Nota:** Letras minúsculas distintas nas colunas indicam diferenças significativas ( $P < 0,05$ ) entre os grupos pelo teste de Fisher



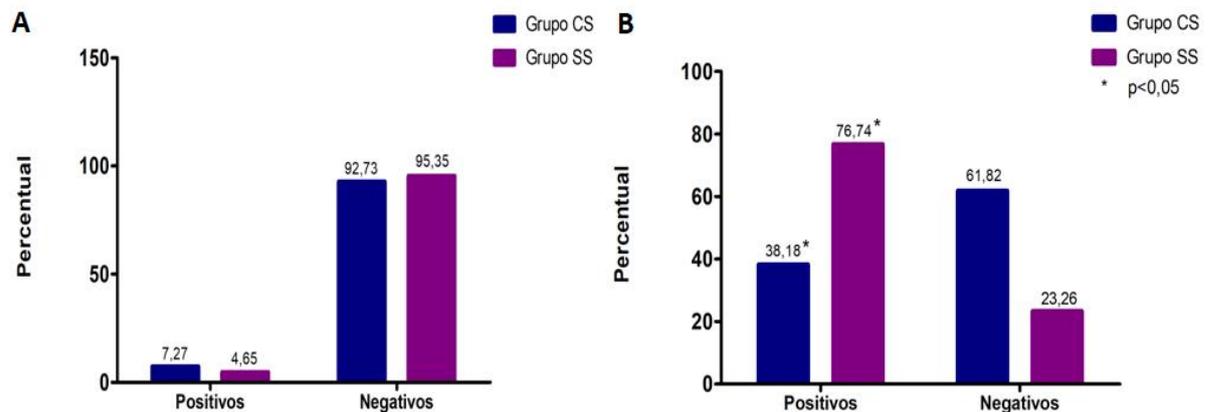
Analisando os grupos CS e SS, notou-se que o grupo CS apresentou maior frequência de normalidade nos valores de referência no eritrograma (50,91% - 28/55), leucograma (54,55% - 30/55) e trombograma (52,73% - 29/55), enquanto o grupo SS apresentou maior prevalência de anemia (48,84% - 21/43); leucocitose (41,86% - 18/43) e valores de referência normais no trombograma (46,51% - 20/43) (Fig 6 A, B, C).



**Figura 6:** Perfis eritrocitários (A), leucocitários (B) e plaquetários (C) dos animais CS (com sinais compatíveis) e SS (sem sinais compatíveis) com suspeita de erliquiose e/ou anaplasmosse canina atendidos no Hospital Veterinário de Uberaba. Teste de Fisher com nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ )

Em relação à pesquisa parasitológica, 7,27% (4/55) dos animais do grupo CS e 4,65% (2/43) dos animais do grupo SS (Fig. 7A), sendo que cinco animais eram positivos para *E. canis* e um positivo para *A. platys*. Na pesquisa sorológica, 38,10% (21/55) do grupo CS, e 76,74% (33/43) dos animais do Grupo SS foram positivos e foi observada diferença significativa ( $p < 0,05$ ) nos animais positivos dos dois grupos (Fig 7B).





**Figura 7:** Perfil parasitológico em relação a pesquisa de mórulas de *E. canis* e *A. platys* (A) e sorológico de IgG e IgM anti-*E. canis* de cães CS (com sinais compatíveis) e SS (sem sinais compatíveis) com suspeita de erliquiose e/ou anaplasmosse canina atendidos no Hospital Veterinário de Uberaba. Teste de Fisher com nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ )

A partir dos resultados dos exames parasitológico e sorológico, os animais foram divididos em quatro categorias: parasitológico positivo e sorológico positivo (C1); parasitológico positivo e sorológico negativo (C2); parasitológico negativo e sorológico positivo (C3) e parasitológico negativo e sorológico negativo (C4). Observou-se que quatro animais faziam parte da C1, dois da C2, cinquenta da C3 e quarenta e dois da C4.

O percentual de animais em cada categoria (C1, C2, C3 e C4) em relação aos animais sem sinais (Grupo SS) e com sinais (Grupo CS) está representada na Tabela 3. Quando correlacionado com as categorias (C1, C2, C3 e C4), tanto no grupo SS (sem sinais característicos), quanto no grupo CS (com sinais característicos) foi observado maior percentual de animais na C3 (P-S+), seguido da C4 (P-S-).

**Tabela 3:** Prevalência C1, C2, C3, C4 no Grupo SS e Grupo CS

Grupos	SS (n=43)		CS (n=55)	
	N	%	N	%
C1 (P+S+)	2	4,65	2	3,63
C2 (P+S-)	1	2,32	1	1,82
C3 (P-S+)	21	48,84	29	52,73
C4 (P-S-)	19	44,19	23	41,82

As alterações clínicas do Grupo SS e Grupo CS em relação às categorias C1, C2, C3 e C4 estão representadas na Tabela 4. No Grupo CS, observou-se diferença significativa ( $p < 0,05$ ) na categoria C3 (parasitológico negativo e sorológico positivo) em relação à epistaxe e esplenomegalia.



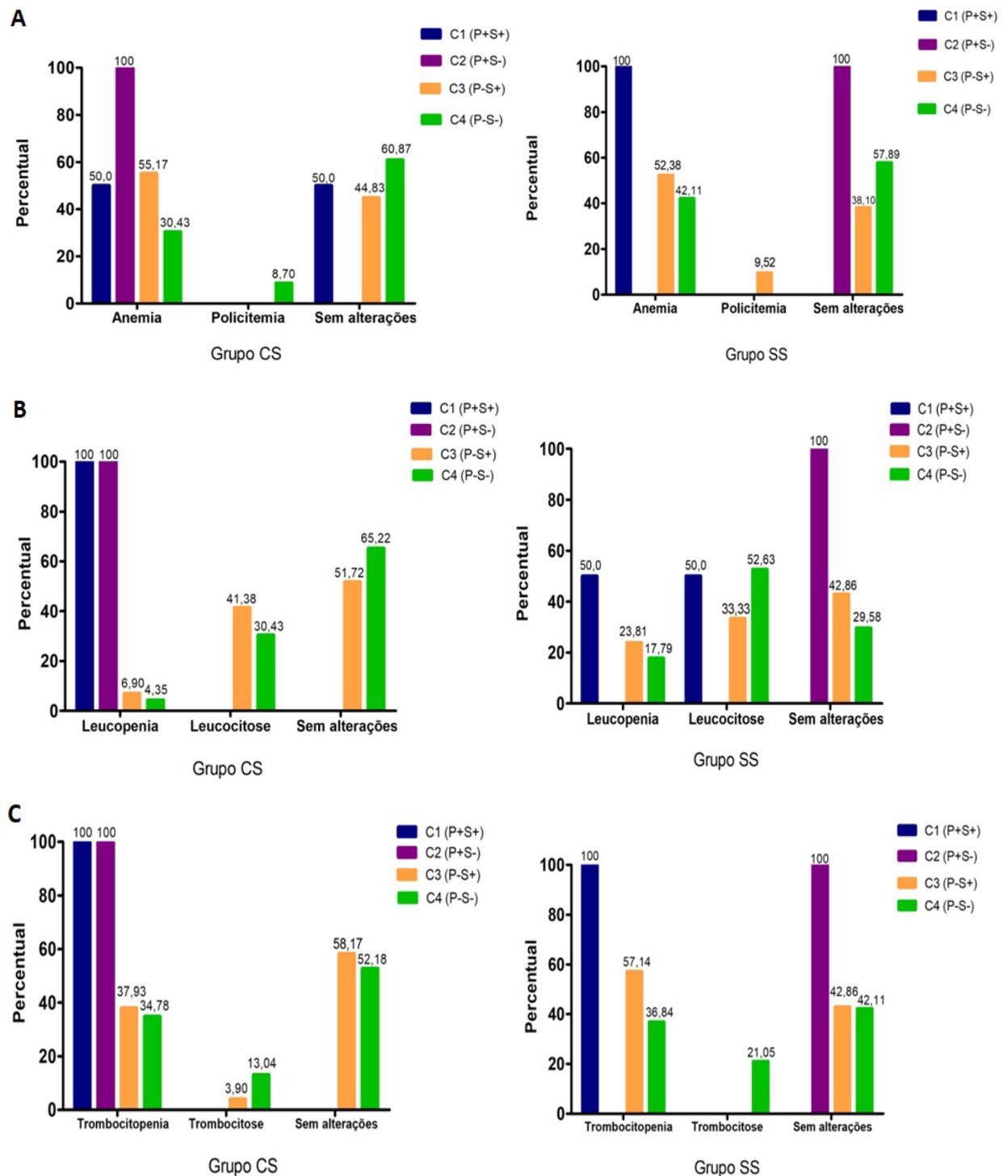
**Tabela 4:** Alterações clínicas compatíveis com as enfermidades encontradas nas categorias C1, C2, C3 e C4 em relação aos Grupos CS e SS

Sinais	C1 (P+S+) (n=4)				C2 (P+S-) (n=2)				C3 (P-S+) (n=50)				C4 (P-S-) (n=42)			
	CS (n=2)		SS (n=2)		CS (n=1)		SS (n=1)		CS (n=29)		SS (n=21)		CS (n=23)		SS (n=19)	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
Ectoparasitas	2	100 <sup>a</sup>	0	0 <sup>a</sup>	1	100 <sup>a</sup>	1	100 <sup>a</sup>	21	72,41 <sup>a</sup>	8	38,09 <sup>a</sup>	18	78,26 <sup>a</sup>	8	42,10 <sup>a</sup>
M. hipocoradas	2	100 <sup>a</sup>	2	100 <sup>a</sup>	1	100 <sup>a</sup>	0	0 <sup>a</sup>	13	44,82 <sup>a</sup>	7	33,33 <sup>a</sup>	13	56,52 <sup>a</sup>	8	42,10 <sup>a</sup>
Hipertermia	1	50,00 <sup>a</sup>	1	50,00 <sup>a</sup>	0	0 <sup>a</sup>	0	0 <sup>a</sup>	16	55,17 <sup>a</sup>	7	33,33 <sup>a</sup>	15	65,21 <sup>a</sup>	11	57,89 <sup>a</sup>
Anorexia	2	100 <sup>a</sup>	0	0 <sup>a</sup>	1	100 <sup>a</sup>	1	100 <sup>a</sup>	9	31,03 <sup>a</sup>	4	19,04 <sup>a</sup>	13	56,52 <sup>a</sup>	7	36,84 <sup>a</sup>
Apatia	0	0 <sup>a</sup>	0	0 <sup>a</sup>	0	0 <sup>a</sup>	0	0 <sup>a</sup>	4	13,79 <sup>a</sup>	0	0 <sup>a</sup>	3	13,04 <sup>a</sup>	6	31,57 <sup>a</sup>
Epistaxe	0	0 <sup>a</sup>	0	0 <sup>a</sup>	0	0 <sup>a</sup>	0	0 <sup>a</sup>	9	31,03 <sup>b</sup>	0	0 <sup>a</sup>	0	0 <sup>a</sup>	0	0 <sup>a</sup>
Esplenomegalia	0	0 <sup>a</sup>	0	0 <sup>a</sup>	0	0 <sup>a</sup>	0	0 <sup>a</sup>	2	6,89 <sup>b</sup>	0	0 <sup>a</sup>	5	21,73 <sup>a</sup>	0	0 <sup>a</sup>

**Nota:** Letras minúsculas distintas nas colunas indicam diferenças significativas ( $P < 0,05$ ) entre os grupos pelo teste de Fischer

Os perfis eritrocitário, leucocitário e plaquetário dos grupos CS e SS em relação às categorias C1, C2, C3 e C4 estão representados nas Figuras 8A, 8B e 8C, respectivamente.





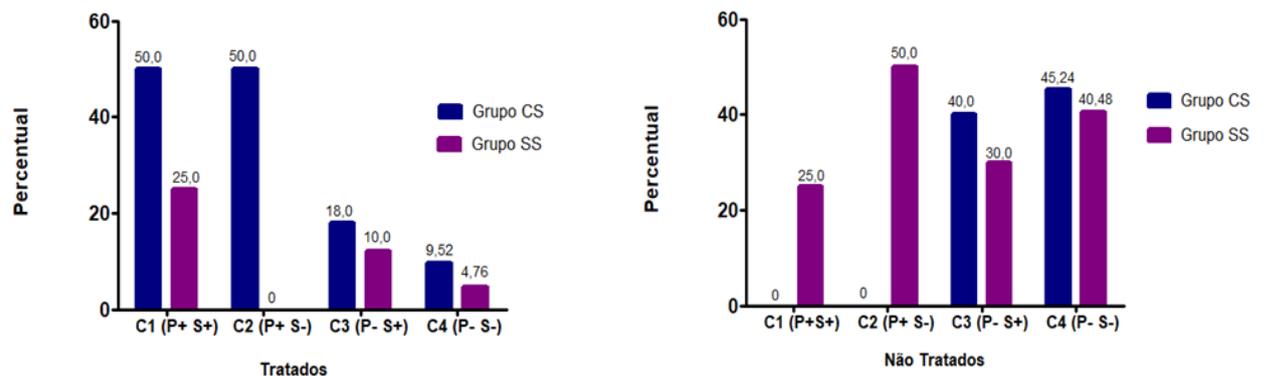
**Figura 8:** Perfis eritrocitário (A), leucocitário (B) e plaquetário (C) apresentados pelas categorias C1, C2, C3 e C4 em relação aos animais CS (com sinais compatíveis) e SS (sem sinais compatíveis) com suspeita de erliquiose e/ou anaplasmosse canina atendidos no Hospital Veterinário de Uberaba. Teste de Fisher com nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ )

Notou-se que no eritrograma do grupo CS houve percentual igual em relação à anemia e parâmetros eritrocitários dentro dos valores normais na C1, anemia em C2 e C3 e valores



dentro da normalidade em C4, enquanto no grupo SS houve maior percentual de anemia na C1 e C3, e normalidade de valores na C2 e C4. Em relação ao perfil leucocitário, no grupo CS, houve maior prevalência de leucopenia na C1 e C2 e normalidade de valores em C3 e C4, enquanto no grupo SS, houve percentuais iguais de leucopenia e leucocitose na C1, valores normais em C2 e C3 e leucocitose em C4. Já no perfil plaquetário, no grupo CS houve maior prevalência de trombocitopenia em C1 e C2 e valores dentro da normalidade em C3 e C4, enquanto no grupo SS houve maior prevalência de trombocitopenia em C1 e C3 e parâmetros normais em C2 e C4.

A correlação entre animais tratados e não tratados com doxiciclina no C1, C2, C3 e C4 está representada na Figura 9. Notou-se que a maior parte dos animais tratados do grupo CS era da C1 e C2, e no grupo SS, a maior parte dos animais tratados era da C1 e C3. Dos animais não tratados no grupo CS, a maior parte pertencia a C4 e C3, enquanto no grupo SS, a maior parte pertencia a C2 e C4.



**Figura 9:** Realização ou não de tratamento para as enfermidades (Doxiciclina) das categorias C1, C2, C3 e C4 em relação aos animais CS (com sinais compatíveis) e SS (sem sinais compatíveis) com suspeita de erliquiose e/ou anaplasiose canina atendidos no Hospital Veterinário de Uberaba



## 6. DISCUSSÃO

A erliquiose e anaplasmoses canina são doenças que apresentam sinais clínicos inespecíficos, como: anorexia, hipertermia, presença de ectoparasitas, petéquias, epistaxe, hematuria, vômito, palidez de mucosas, dificuldade de locomoção e sensibilidade dolorosa durante palpação abdominal (BREITHSCHWERDT et al., 2004; GARCIA et al., 2018) o que muitas vezes leva o clínico a suspeitar das enfermidades e não fazer diagnóstico diferencial. No presente trabalho, epistaxe e esplenomegalia foram os sinais clínicos mais predominantes nos animais com sinais clínicos ( $p < 0,05$ ), indicando que estes possam ser característicos das enfermidades.

A presença de carrapatos foi um critério utilizado pelos veterinários para suspeitar de erliquiose e/ou anaplasmoses canina mesmo que o paciente não apresentasse sinais compatíveis com tais enfermidades. Acredita-se que o ciclo do *A. platys*, apesar de não estar completamente definido, seja similar ao da *E. canis* (DAGNONE et al., 2001) e a principal forma de transmissão ocorre pela inoculação dos agentes no sangue, quando o carrapato infectado realiza repasto sanguíneo em um cão hígido (ALMOSNY, 2012). É importante ressaltar que o cão é infectante apenas na fase aguda da doença, quando há uma grande quantidade de hemoparasitas no sangue. O carrapato pode permanecer infectante por um ano (WOODY et al., 1991).

Pode-se notar que a presença de carrapatos foi significativa ( $p < 0,05$ ), o que corrobora com o trabalho de Fonseca (2012) que menciona que durante o exame clínico, a observação de ectoparasitas é um fator que reforça a suspeita, uma vez que o carrapato *R. sanguineus* é o vetor transmissor destas hemoparasitoses. Porém ressalta que deve ser avaliado juntamente com as demais manifestações clínicas características (FONSECA, 2012).

Estudos epidemiológicos têm sido desenvolvidos no Brasil para investigar os aspectos clínicos da erliquiose e anaplasmoses canina, avaliando o acometimento em relação à idade, sexo e raça dos cães, na tentativa de estabelecer os fatores de risco para a doença (TRAPP et al., 2003; DAGNONE et al., 2003; GARCIA et al., 2018). Alguns autores relatam não observar correlação da positividade para erliquiose e/ou anaplasmoses canina com as variáveis epidemiológicas: idade, sexo ou raça (WATANABE et al., 2004; NAKAGHI, 2010; CARTAGENA et al., 2015), como ocorreu no presente trabalho, pois não se observou diferença significativa em relação ao sexo, idade e raça. Mas notou-se que a maior parte dos animais, em ambos os grupos (CS e SS) era fêmea, na faixa etária de 1 a 5 anos e de raça pura, sendo estes resultados semelhantes a outros estudos (BORIN et al., 2009; BASSI et al.,



2011). Harrus et al. (1997a) relatam que cães da raça Pastor Alemão apresentam maior gravidade clínica, quando infectados por *E. canis*, porém não são mais predispostos à infecção. No presente trabalho não se observou essa correlação, sendo que apenas um animal do grupo CS era desta raça.

O acesso à rua ou convívio com outros cães podem ser considerados fatores de risco para ocorrência das enfermidades. Azevedo et al. (2011) observaram correlação entre soropositividade para *E. canis* e estes fatores, ressaltando uma maior chance de infecção quando o contato ocorre entre cães criados em regime domiciliar e cães de rua, visto que os últimos não são submetidos a tratamentos ou medidas de prevenção no combate ao vetor transmissor. Foi observada diferença significativa em relação ao convívio com outros cães no grupo SS. Porém, esses animais possivelmente não apresentavam sinais clínicos por não terem acesso à rua e/ou passarem por medidas de controle contra o vetor transmissor das doenças, diminuindo assim as chances de infecção (AZEVEDO et al., 2011).

As principais alterações hematológicas na erliquiose canina são: anemia, leucopenia, trombocitopenia na fase aguda; leve trombocitopenia na fase subclínica e pancitopenia na fase crônica (HARRUS et al., 1997a; NAKAGHI et al., 2010). Em relação ao eritrograma, na fase aguda da erliquiose, momento em que os sinais clínicos são mais evidentes, os valores eritrocitários são variáveis, enquanto na fase subclínica é comum anemia (HARRUS et al., 1998; NEER e HARRUS, 2006). A policitemia pode ocorrer como consequência de desidratação ou contração esplênica (HARRUS et al., 1998; NEER e HARRUS, 2006; THRALL, 2007). Albernaz et al. (2007) observaram anemia em 60,7% (133/219) dos cães estudados, sendo este achado comum na erliquiose, devido à inibição da eritropoiese na medula óssea, destruição das hemácias pelo sistema complemento e retirada destas células pelo sistema fagocítico mononuclear (MOREIRA et al., 2001). O que difere do presente estudo, visto que a maior parte dos animais que tinham sinais clínicos apresentava valores eritrocitários dentro da normalidade. Porém notou-se que no grupo SS a maior parte dos animais apresentava anemia, seguido de normalidade nos valores, podendo a anemia neste último grupo ser justificada por outras causas ou até mesmo pela fase das doenças (ALMOSNY, 2002).

Na anaplasmoze canina é mais comum a ocorrência de trombocitopenia cíclica e os valores de eritrócitos são variáveis (HARVEY et al., 1978). Harvey et al. (2006) descreveram anemia em infecção experimental por *A. platys*, sendo que esta pode ocorrer no momento em



que a trombocitopenia e aparecimento esporádico do parasito diminuem (HARRUS et al., 1997b).

Quanto ao leucograma, na fase aguda da erliquiose o número de leucócitos é variável (ALMOSNY, 2002), enquanto na fase subclínica e crônica é mais comum a ocorrência de leucopenia (HARRUS et al., 1998; NEER e HARRUS, 2006). Os resultados encontrados na presente pesquisa foram semelhantes a outros estudos (ALBERNAZ et al., 2007; FONSECA, 2012), onde foram observados tanto leucocitose quanto valores dentro da normalidade, que ocorreu em maior percentual nos grupos SS e CS, respectivamente. As alterações leucocitárias podem não ser evidenciadas até a quarta semana de infecção, momento em que a leucopenia se torna um achado importante, devido à supressão medular (CASTRO et al., 2004). Os resultados obtidos no presente trabalho podem ser justificados pelas diferentes fases da erliquiose, porém pode-se atribuir a leucocitose a outras causas, como estresse durante a coleta ou ainda outras infecções (THRALL, 2007; FONSECA, 2012). Na anaplasmosse canina, a contagem total de leucócitos parece ser variável (HARVEY et al., 1978; GAUNT et al., 2010).

Na erliquiose e/ou anaplasmosse, a trombocitopenia é considerado o achado mais relatado na literatura, além de muitas vezes ser considerada um achado consistente para ocorrência de tais enfermidades (DAGNONE et al., 2003; HARVEY et al., 2006; MENESES et al., 2008; UENO et al., 2009; NAKAGHI et al., 2010; BASSI et al., 2011; ESPÍNDOLA et al., 2015). Não foi observada diferença significativa em relação a este parâmetro no presente estudo, resultado semelhante ao observado por Fonseca (2012), sugerindo que esta alteração não deve ser correlacionada isoladamente com a ocorrência de tais enfermidades. A maior parte dos animais dos grupos CS e SS apresentavam valores plaquetários dentro da normalidade, seguido de trombocitopenia. Cerca de um terço dos cães com aspectos clínicos e/ou sorológicos de erliquiose não apresentam trombocitopenia, sendo que esta característica pode ser atribuída também às fases clínicas da doença (ALMOSNY, 2002). A trombocitopenia pode ocorrer pela redução da meia vida e destruição plaquetária (UENO et al., 2009; DE SÁ et al., 2018). Na anaplasmosse canina, a trombocitopenia aparece ciclicamente, sendo a doença também conhecida como trombocitopenia cíclica canina por este motivo. Nos dias em que há trombocitopenia, as inclusões não são observadas na pesquisa parasitológica, concordando com os achados do animal positivo para anaplasmosse desta pesquisa, que foi positivo na pesquisa parasitológica, mas apresentava valores plaquetários dentro da normalidade no hemograma. Com a evolução do quadro de



anaplasmose, a tendência cíclica diminui e a trombocitopenia tende a agravar (HARVEY et al., 2006; DAGNONE et al., 2009).

A baixa prevalência de animais positivos observada no teste parasitológico no presente estudo concorda com achados de outras pesquisas (BORIN et al., 2009; UENO et al., 2009), podendo ser justificada pela menor sensibilidade deste teste quando comparado aos outros métodos diagnósticos, uma vez que o animal precisa estar em pico de parasitemia para ser positivo (NAKAGHI et al., 2008). É importante ressaltar que um exame parasitológico negativo não exclui a possibilidade de infecção, sendo necessário o uso de mais métodos diagnósticos diante da suspeita clínica (WODDY e HOSKINS, 1991; ALMOSNY, 2002).

Em estudo realizado no Hospital Veterinário de Uberaba, Borges et al. (2016) observaram que a soroprevalência em animais com sinais clínicos foi de 72,40% (29/40) através do mesmo teste utilizado (imunocromatográfico) no presente trabalho, não concordando com os resultados encontrados, em que foi observado maior percentual de animais soropositivos no grupo SS (76,74%) e maior percentual de animais soronegativos no grupo CS(61,82%).Vale ressaltar que o imunoensaio cromatográfico detecta anticorpos IgM e IgG anti-*E. canis*, sendo a IgM detectada após 7 dias de infecção, e IgG após 15 dias de infecção permanecendo circulante de três a onze meses, o que dificulta a diferenciação de uma exposição recente ou antiga (WANER et al., 2001; ALMOSNY et al., 2002; AGUIAR et al., 2007).

Quando correlacionados com as categorias C1, C2, C3 e C4, tanto no grupo CS quanto SS o maior percentual de animais apresentava anticorpos anti *E-canis* (C3 – P-S+), indicando que os animais poderiam ter contato recente (IgM) ou prévio (IgG) com o agente(ALMOSNY, 2002; VALENTE, 2014).

Elevada prevalência de animais na categoria C4 (P-S-), observada nos dois grupos estudados (SS e CS)demonstra que exames diferenciais devem ser preconizados, pois os sinais clínicos são inespecíficos (BREITHSCHWERDT et al., 2004; GARCIA et. al., 2018).

Em relação às categorias C1 (P+S+) e C2 (P+S-) é interessante observar que apesar dos animais serem positivos no teste parasitológico, nem todos apresentavam anticorpos anti- *E. canis*, que segundo Almosny, (2002), pode ser justificado pela soroconversão tardia que os animais apresentam. Outro aspecto a ser ressaltado é que o teste imunocromatográfico não detecta anticorpos anti-*A.platys*, o que justifica o animal do grupo SS ser negativo sorologicamente, visto que, no exame parasitológico observou-se mórula de *A. platys*.



Segundo Cardozo et al. (2007), na maioria das vezes os cães positivos para *A. platys* são assintomáticos.

Nas categorias C1 e C2, todos os animais do CS apresentavam ectoparasitas, mucosas hipocoradas e anorexia. As mucosas pálidas podem indicar anemia ou manifestações hemorrágicas que ocorrem devido a trombocitopenia, disfunções plaquetárias ou vasculites (HARRUS et al., 1997a; LAKKAWAR et al., 2003). A presença de ectoparasitas durante o exame clínico associado com as demais manifestações clínicas reforça a suspeita, uma vez que o carrapato *R. sanguineus* é o vetor transmissor das enfermidades, sendo este considerado o principal fator de risco para o desenvolvimento destas enfermidades (FONSECA, 2012)

Apenas na categoria C3 (parasitológico negativo e sorológico positivo), nos animais do grupo CS observou-se epistaxe e esplenomegalia, onde houve diferença significativa. Essas alterações ocorrem comumente ao final da fase subclínica ou fase crônica da doença, momentos em que o teste sorológico já pode se apresentar positivo (ALMOSNY, 2002), como ocorreu no presente trabalho. A epistaxe pode ocorrer devido a hemorragia nos pulmões ou mucosa nasal, e pode estar presente em 30 a 50% dos casos que são considerados graves. Também podem ocorrer outros eventos hemorrágicos, como aparecimento de petéquias ou hematúria. Quando as células infectadas são transportadas pelo sangue, migram principalmente para os pulmões, rins e meninges, aderindo-se ao endotélio vascular destes órgãos, provocando vasculite e infecção do tecido subendotelial (GREGORY e FORRESTER, 1990; HARRUS et al., 1997a; BORIN et al., 2009). Dificuldade de locomoção e abdômen distendido são comuns na fase crônica, sendo o último sugestivo de edema ou esplenomegalia (MOREIRA et al., 2003; BORIN et al., 2009).

Tanto na categoria C4 (parasitológico negativo e sorológico negativo) quanto nos grupos SS de todas as categorias foram observados aspectos clínicos de erliquiose e/ou anaplasiose, como por exemplo, palidez de mucosas e presença de ectoparasitas. É importante ressaltar que esses aspectos apareciam associados a outros sinais não compatíveis com as enfermidades, como por exemplo, diarreia e vômito, e alguns animais apresentavam outros motivos para consulta, como: atropelamento, dermatopatia e choque elétrico.

Quanto as alterações hematológicas em relação as fases da doença, na fase aguda da erliquiose podem ocorrer: anemia, leucopenia e trombocitopenia variáveis, período em que a pesquisa parasitológica tem maior índice de positividade; trombocitopenia discreta na fase subclínica e pancitopenia na fase crônica, momentos em que é mais comum a positividade na pesquisa sorológica (HARRUS et al., 1997a; WANNER, 2001; BORIN et al., 2009), enquanto



na anaplasmosose ocorre trombocitopenia cíclica, e com a diminuição deste quadro cíclico o número de hemácias e leucócitos é variável (HARRUS et al., 1997b).

Na C1 os achados foram compatíveis com o que é relatado na fase aguda na literatura para animais CS, e na fase subclínica para animais SS (HARRUS et al., 1997a; NAKAGHI et al., 2010). Já na C2, o grupo CS apresentou alterações hematológicas sugestivos de fase aguda (HARRUS et al., 1997a; NAKAGHI et al., 2010) e o animal do grupo SS era positivo para *A.platys*, justificando a normalidade dos parâmetros hematológicos devido á característica cíclica da enfermidade (HARRUS et al., 1997b). Na C3, os achados do grupo CS sugeriram possível fase aguda, e no grupo SS fase subclínica (HARRUS et al., 1997a; ALMOSNY, 2002; NAKAGHI et al., 2010). Na C4, a maior parte dos animais dos grupos CS e SS apresentou normalidade dos parâmetros hematológicos, o que era esperado para categoria negativa em ambos os testes, com exceção do perfil leucocitário de SS em que a maior parte apresentou leucocitose, podendo-se atribuir este achado a outras causas (THRALL, 2007; FONSECA, 2012).

A correlação entre animais tratados ou não tratados com doxiciclina observada pode estar relacionada com a intensidade de manifestações clínicas e hematológicas que ocorrem em cada fase da doença (ALMOSNY, 2002), podendo justificar assim um maior percentual de tratamento nas categorias C1 e C2 em relação aos animais do grupo CS, enquanto no grupo SS, o maior percentual de tratamento nas categorias C1 e C3 podem ser justificados pela positividade no teste sorológico, caso o clínico tenha solicitado. A não realização de tratamento da maior parte dos animais do grupo CS na C4 pode ser atribuída à negatividade dos testes, enquanto em C3 pode não ter ocorrido solicitação de teste sorológico pelo clínico. Já no grupo SS a maior parte de não realização de tratamento na C2 pode ser justificada pelo animal não apresentar resultado positivo na sorologia, que usualmente é mais solicitado do que o teste parasitológico, e na C4, pelos resultados negativos nos dois testes, bem como outras condições clínicas que possam ter levado a modificação da conduta terapêutica adotada. A doxiciclina é o fármaco mais utilizado por alcançar elevada concentração no sangue e tecidos, fazendo com que sua entrada na maioria das células ocorra de maneira mais rápida. Além disso, possui menor taxa de recidivas quando comparada a outras tetraciclina (TROY e FORRESTER, 1990). Em um trabalho realizado por Sousa et al. (2004), observou-se que após tratamento em cães com erliquiose por 21 dias com doxiciclina houve melhora tanto do quadro clínico quanto hematológico. No mesmo local em que foi realizada a presente pesquisa, Borges et al. (2016) efetuaram o tratamento com doxiciclina em animais



soropositivos, onde houve recuperação clínica total após sete dias de tratamento em 82,8% (24/29) dos cães.



## 7 CONCLUSÕES

Com os resultados obtidos, conclui-se que:

- A epistaxe e esplenomegalia são sinais clínicos considerados sugestivos de erliquiose;
- A presença de ectoparasitos é um fator de risco para o aparecimento das rickettsioses;
- A trombocitopenia não pode ser considerada isoladamente como um achado característico de erliquiose e anaplasmoses canina.
- É necessário que o clínico avalie detalhadamente os achados clínicos, hematológicos e solicite exames parasitológico e sorológico antes de estabelecer o protocolo terapêutico;



## REFERÊNCIAS

- AGUIAR, B. G.; DE OLIVEIRA, S. M. S. O uso da imunocromatografia indireta como teste auxiliar no diagnóstico presuntivo de erliquiose monocítica canina. **Anais do 13º Simpósio de TCC e 6º Seminário de IC da Faculdade ICESP**. v. 13, p. 2341-2345, 2018.
- AGUIAR, D. M.; SAITO, T. B.; HAGIWARA, M. K.; MACHADO, R. Z.; LABRUNA, M. B. Diagnóstico sorológico de erliquiose canina com antígeno brasileiro de *Ehrlichia canis*. **Ciência Rural**, v. 37, n. 3, p. 796-802, 2007.
- ALBERNAZ, A. P.; MIRANDA, F.J. B.; MELO JR., O.A.; MACHADO, J.A.; FAJARDO, H.V. Erliquiose Canina em Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro, Brasil. **Ciência Animal Brasileira**, v.8, n.4, p. 799-806, 2007.
- ALMOSNY, N. R.P. **Hemoparasitoses em pequenos animais domésticos e como zoonoses**. Rio de Janeiro: LF livros de Veterinária Ltda, 1 ed., 141 p., 2002.
- AZEVEDO, S.S.; AGUIAR, D.M.; AQUINO, S.F.; ORLANDELLI, R.C.; FERNANDES, A.R.F.; UCHÔA, I.C.P. Soroprevalência e fatores de risco associados à soropositividade para *Ehrlichia canis* em cães do semiárido da Paraíba. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 48, n. 1, p. 14-18, 2011.
- BANETH, G.; HARRUS, S.; OHNONA, F.; SCHLESINGER, Y. Longitudinal quantification of *Ehrlichia canis* in experimental infection with comparison to natural infection. **Veterinary microbiology**, v. 136, n. 3-4, p. 321-325, 2009.
- BASSI, P. B.; MOREIRA, T. K.; SILVA, C. C.; BITTAR E.R. ; BITTAR J.F.F. Aspectos clínicos, epidemiológicos, hematológicos e sorológicos de animais diagnosticados com *Ehrlichia canis* no Hospital Veterinário de Uberaba- MG - **Revista Científica de Medicina Veterinária -Pequenos Animais e Animais de Estimação**; v.9, n.31, p. 678-680, 2011.
- BORIN, S.; CRIVELANTI, L. Z.; FERREIRA, F. A. Aspectos epidemiológicos, clínicos e hematológicos de 251 cães portadores de mórula de *Ehrlichia* spp. naturalmente infectados. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, p. 566-571, 2009.
- BORGES, F.; DOS SANTOS, J.; FERREIRA JR., A. Imunocromatografia indireta auxilia na triagem de cães para realização de tratamento contra *Ehrlichia canis*: Relato de Caso. **Ciência e Tecnologia Fatec- JB.**, v.8, n. esp. 2, 2016.
- BREITHSCHWERDT, E. B. Riquetsioses. In: ETTINGER, Stephen J; FELDMAN, Edward C. **Tratado de Medicina Interna Veterinária**. 5ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S.A, p. 422-429, 2004.
- CARDOZO, G. P.; OLIVEIRA, L. P.; ZISSOU, V. G.; DONINI, I. A.; ROBERTO, P. G; MARTINS, M. Analysis of the 16S rRNA gene of *Anaplasma platys* detected in dogs from Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 38, n. 3, p. 478-479, 2007.
- CARTAGENA, Y. L. M; RÍOS, O. L. A.; CARDONA, A. J A. Seroprevalence of *Ehrlichia canis* in dogs with suspected infection by tick-borne pathogens in Medellín, 2012-2014. **Revista Medicina Veterinária**. v. 29, p.51-62, 2015.



- COSTA, H. X. D. *Anaplasma platys* e *Ehrlichia canis* em cães: avaliação de alterações oculares, desenvolvimento e validação de técnica de diagnóstico molecular. 75f. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal de Goiás – UFG, Goiânia, 2015.
- COSTA-JÚNIOR, L. M.; REMBECK, K.; PASSOS, L. M. F; RIBEIRO, M. F. B. Factors associated with epidemiology of *Anaplasma platys* in dogs in rural and urban areas of Minas Gerais State, Brazil. **Preventive veterinary medicine**, v. 109, n. 3-4, p. 321-326, 2013.
- COSTA, J. O.; BATISTA JR.; J. A.; SILVA, M.; GUIMARÃES, M. P. *Ehrlichia canis* infection in dog in Belo Horizonte, Brazil. **Arquivo da Escola Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais**, Belo Horizonte, v.25, p. 199-200, 1973.
- CULLEN CLW, AA. Ocular manifestations of systemic diseases. Part 1: The dogs. Chapter 30., p.1470-1537. In: GELATT, KN **Veterinary Ophthalmology**. 2. Flórida: Blackwell publishing; 2007. 1644 p.
- DAGNONE, A. S.; DE MORAIS, H. S. A.; VIDOTTO, O. Erliquiose nos animais e no homem (Animal and human Ehrlichiosis). **Seminário: Ciências Agrárias**, v.22, n.2, p.191-201, 2001.
- DAGNONE, A. S.; DE MORAIS, H. S. A.; VIDOTTO, M. C.; JOJIMA, F. S.; VIDOTTO, O. Ehrlichiosis in anemic, thrombocytopenic, or tick-infested dogs from a hospital population in South Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 117, n. 4, p. 285-290, 2003.
- DAGNONE, A. S.; SOUZA, A. I. D.; ANDRÉ, M. R.; MACHADO, R. Z. Molecular diagnosis of Anaplasmataceae organisms in dogs with clinical and microscopical signs of ehrlichiosis. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 18, n. 4, p. 20-25, 2009.
- DANTAS-TORRES, F. The brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae): from taxonomy to control. **Veterinary parasitology**, v. 152, n. 3-4, p. 173-185, 2008.
- DANTAS-TORRES, F. Biology and ecology of the brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus*. **Parasites and Vectors**, v. 3, n. 1, p. 26, 2010.
- DE HOLANDA, L. C.; DE ALMEIDA; T. L.; DE MESQUITA, R. M; DE OLIVEIRA, J. M; DA FONSECA, A. A. Achados hematológicos em sangue e medula óssea de cães naturalmente infectados por *Ehrlichia* spp. e *Anaplasma* spp. **Ciência Animal Brasileira**, v. 20, p. 1-12, 2019.
- DE PAULA JÚNIOR, R. G., ALMEIDA, R. D.; SOUSA, V. R. F. Erliquiose monocítica canina: Relato de Caso. **PUBVET**, v. 12, p. 147, 2018.
- DE SÁ, R.; DE SOUSA SÁ, I.; DE ALMEIDA, L. F; DA SILVA, G. M; GOMES, J. B.; SANTOS, A. R. S. S; OLIVEIRA, M. A. L. Erliquiose canina: Relato de caso. **PUBVET**, v. 12, p. 131, 2018.
- DOS SANTOS, C.; DE OLIVEIRA, F.C; TONIAL, A. L.; DUARTE, V. R.; BAIROS, A.A.; AQUINO, D. R. R. A. Ocorrência de hemoparasitose em cães atendidos em hospital veterinário de Campo Grande, estado do Mato Grosso do Sul, Brasil. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, v. 1, n. 1, p. 236-243, 2018.



DOYLE, C.; RELLER, M. Detection of medically important Ehrlichia by quantitative multicolor TaqMan real-time polymerase chain reaction of the dsb gene. **The Journal of Molecular Diagnostics**, v. 7, n. 4, p. 504-510, 2005.

DUMLER, J. S.; BAKKEN, J. S. Ehrlichial diseases of humans: emerging tick-borne infections. **Clinical Infectious Diseases**, v. 20, n. 5, p. 1102-1110, 1995.

DUMLER, J.; BARBET, A. F.; BEKKER, C. P.; DASCH, G. A.; PALMER, G. H.; RAY, S. C.; RIKIHISA, Y.; RURANGIRWA, F.R. Reorganization of genera in the families Rickettsiaceae and Anaplasmataceae in the order Rickettsiales: unification of some species of Ehrlichia with Anaplasma, Cowdria with Ehrlichia and Ehrlichia with Neorickettsia, descriptions of six new species combinations and designation of Ehrlichia equi and HGE agent as subjective synonyms of Ehrlichia phagocytophila. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 51, n. 6, p. 2145-2165, 2001.

ESPINDOLA, P. P.; BELLINI, M. L.; VICENTE, P. U. C. Correlação da Trombocitopenia Canina com *Ehrlichia Canis* durante a rotina laboratorial da clínica veterinária Fullpet. **Ensaios e Ciência: Ciências biológicas, Agrárias e da Saúde**, v. 19, n. 4 p. 1639169, 2016.

FERREIRA NETO, J.M.; VIANA, E.S.; MAGALHAES, L.M. **Patologia clínica veterinária**. Belo Horizonte: Rabelo, 1981.

FONSECA, J. P. **Erliquiose canina em Lavras, Sul de Minas Gerais, Brasil**. 93f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras; Lavras, 2012.

GARCIA, D. A.; MARTINS, K. P; CORTEZI, A. M; GOMES, D. E. Erliquiose e anaplasose canina-revisão de literatura. **Revista Científica**, v.1,n.1, 2018.

GAUNT, S.D.; BEALL, M.J.; STILLMAN, B.A.; LORENTZEN, L.; DINIZ, P.P.V.P.; CHANDRASHEKAR, R.; BREITSCHWERDT, E.B. Experimental infection and coinfection of dogs with *Anaplasma platys* and *Ehrlichia canis*: hematologic, serologic and molecular findings. **Parasites and Vectors**, v. 3, n.33, 2010.

GERSHWIN, L. J., KRAKOWKA, S.; OLSEN, R. G. **Immunology and immunopathology of domestic animals**(No. Ed. 2). Mosby-Year Book, Inc, 1995.

GREGORY, C.; FORRESTER, S. O. *Ehrlichia canis*, *E. equi*, *E. risticii* infections. In: GREENE, C. E. **Infectious diseases of the dog and cat**. Philadelphia: W. B. Saunders, 1990. p. 404-414.

HARRUS, S.; KASS, P. H.; KLEMENT, E.; WANER, T. Canine monocytic ehrlichiosis: a retrospective study of 100 cases, and an epidemiological investigation of prognostic indicators for the disease. **Veterinary Record**, v. 141, n. 14, p. 360-363, 1997a.

HARRUS, S.; AROCH, I.; LAVY, E.; BARK, H. Clinical manifestations of infectious canine cyclic thrombocytopenia. **Veterinary Record**. v.141 p.247-250. September, 1997b.

HARRUS S, WANER T, AIZENBERG I, FOLEY JE, POLAND AM, BARK H. Amplification of Ehrlichial DNA from Dogs 34 Months after Infection with *Ehrlichia canis*. **Journal of Clinical Microbiology**. v 36, p. 73-76, 1998.

HARVEY, J. W.; SIMPSON, C. F.; GASKIN, J. M. Cyclic thrombocytopenia induced by a Rickettsia-like agent in dogs. **Journal of Infectious Diseases**, v. 137, n. 2, p. 182-188, 1978.



HARVEY J. Thrombocytotropic Anaplasmosis (*A. platys* [*E. platys*] Infection). 229-231 p. IN: GREENE, CE Infectious Diseases of the dog and cat Saunders Elsevier, 3 Ed, St Louis, Elsevier, 1387 p, 2006.

INOKUMA, H.; RAOULT, D.; BROUQUI, P. Detection of Ehrlichia platys DNA in brown dog ticks (*Rhipicephalus sanguineus*) in Okinawa Island, Japan. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 38, n. 11, p. 4219-4221, 2000.

ISOLA, J. G. M. P.; CADIOLI, F. A., NAKAGE, A. P. Erliquiose canina- Revisão de Literatura. **Revista Científica Eletrônica e Medicina Veterinária**, ano IX,n.18,2012.

LABARTHE, N.; BARBARINI, O.; MCKEE, W.; COIMBRA, C. A; HOSKINS, J. Serologic prevalence of *Dirofilaria immitis*, *Ehrlichia canis* and *Borrelia burgdorferi* infection in Brazil. **Vet Therapeutics Research In Applied Veterinary Medicine**, v.4, p.67-75, 2003.

LAKKAWAR, A. W., NAIR, M. G., VARSHNEY, K. C., SREEKRISHNAN, R., & RAO, V. N. Pathology of canine monocytic ehrlichiosis in a German Shepherd dog. **Slovenian Veterinary Research**,n. 40, p. 123-132,2003.

MACHADO, G.P.; DAGNONE, A.S.; SILVA, B.F. Anaplasrose trombocítica canina–uma breve revisão. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária [online]**, 2010.

MARTIN, A. R.; BROEN, G. K.; DUNSTAN, R. H; ROBERTS, T. K. *Anaplasma platys*: an improved PCR for its detection in dogs. **Experimental Parasitology**, v. 109, n. 3, p. 176-180, 2005.

MAVROMATIS, K., KUYLER DOYLE, C., LYKIDIS, A., IVANOVA, N., FRANCINO, P., CHAIN, P., DETTER, J. C. The genome of obligately intracellular *Ehrlichia canis* reveals themes of complex membrane. **Journal of Bacteriology**, v. 188, n. 11, p. 4015-4023, 2006.

MAZZOTTI, G. A.; SILVA, W. A.; CARNEIRO, F. T.; SCALON, M. C; LIMA, M. A.; TEIXEIRA, M. A; PALUDO, G. R. Investigação molecular de *Ehrlichia canis*, *Anaplasma platys*, *Anaplasma phagocytophilum* e *Rickettsia* spp. em felídeos selvagens cativos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro ,v. 38,n. 3,p. 528-535, 2018 .

MOREIRA, S. M. **Estudo retrospectivo (1998-2001) da erliquiose canina em Belo Horizonte: Avalia o clínica e laboratorial de infec es experimentais**. 2001. 38 p. Disserta o (Mestrado)-Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2001.

MOREIRA, S. M; BASTOS, C. V; ARAÚJO, R. B; SANTOS, M.; PASSOS, L. M. Estudo retrospectivo (1998 a 2001) da erliquiose canina em Belo Horizonte, Brasil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.25, n.2, p.141-147,2003.

MYLONAKIS, M. E.; KOUTINAS, A. F.; BILLINIS, C.; LEONTIDES, L. S.; KONTOS, V.; PAPADOPOULOS, O. Evaluation of cytology in the diagnosis of acute canine monocytic ehrlichiosis (*Ehrlichia canis*): a comparison between five methods. **Veterinary Microbiology**, v. 91, n. 2-3, p. 197-204, 2003.

NAKAGHI, A. C. H.; MACHADO, R. Z.; FERRO, J. A.; LABRUNA, M. B.; CHRYSAAFIDIS, A. L.; ANDRÉ, M. R.; BALDANI, C. D. Sensitivity evaluation of a single-step PCR assay using *Ehrlichia canis* p28 gene as a target and its application in



diagnosis of canine ehrlichiosis. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 19, n. 2, p. 75-79, 2010.

NEER, M.T., HARRUS S. Canine monocytotropic ehrlichiosis and neorickettsiosis (*E. canis*, *E. chaffeensis*, *E. ruminantium*, *N. sennetsu*, and *N. risticii* infections). In: Greene CE. **Infectious Diseases of the Dog and Cat**. 3 ed. St. Louis: Elsevier p. 203-216, 2006.

NELSON, R.; COUTO, C. G. **Medicina interna de pequenos animais**. Elsevier Brasil, 2015.

ORÍ, A. Ophthalmic, hematologic and serologic findings in dogs with suspected *Ehrlichia canis* infections. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 15, n.2, p. 94-97, 2008.

PIRES, Vera Mónica Fernandes. **Critérios na escolha dos diferentes exames complementares na obtenção de um diagnóstico em medicina veterinária do cão e do gato**. 2010. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Técnica de Lisboa. Faculdade de Medicina Veterinária.

RAMOS, C.; RAMOS, R.; ARAÚJO, F. R; GUEDES JR, D. S.; SOUZA, I. I. F.; ONO, T. M.; VIEIRA, A. S; PIMENTEL, D. S.; ROSAS, E. O; FAUSTINO, M. A. G; ALVES, L. C. Comparação de nested-PCR com o diagnóstico direto na detecção de *Ehrlichia canis* e *Anaplasma platys* em cães. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária [Internet]**, v.18, n.1, p.58-62,2009.

RIBEIRO, C. M.; MATOS, A. C; AZZOLINI, T.; BONES, E. R; WASNIESKI, E. A.; RICHINI, V. B. P.; VIDOTTO, O. Molecular epidemiology of *Anaplasma platys*, *Ehrlichia canis*, and *Babesia vogeli* in stray dogs in Paraná, Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 37, n. 2, p. 129-136, 2017

SANTOS, F.; COPPEDE, J. S.; PEREIRA, A. L; OLIVEIRA, L. P.; ROBERTO, P. G.; BENEDETTI, R. B.; MARINS, M. Molecular evaluation of the incidence of *Ehrlichia canis*, *Anaplasma platys* and *Babesia* spp. in dogs from Ribeirão Preto, Brazil. **The Veterinary Journal**, v. 179, n. 1, p. 145-148, 2009.

SILVA, W. A. C. **Ocorrência da infecção por Ehrlichia spp e Anaplasma platys em canídeos e felídeos selvagens mantidos em cativeiro no Distrito Federal e Goiás**. Dissertação (Mestrado) – Universidade de Brasília – UNB, 2015.

SOUSA, M. G.; HIGA, A. C.; GERARDI, D. G.; TINUCCI-COSTA, M.; MACHADO, R. Z. Tratamento da erliquiose canina de ocorrência natural com doxiciclina, precedida ou não pelo dipropionato de imidocarb. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 3, n. 2, p. 126-130, 2004.

SOUSA, V. R. F.; ALMEIDA, A.D.B.P. F; BARROS, L.A.; SALES, K.G.; JUSTINO, C.H.D.S.; DALCIN, L.; BOMFIM, C.B. Avaliação clínica e molecular de cães com erliquiose. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.40, p.1309-1313, 2010.

THRALL, M. A. **Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária**. São Paulo: Rocca, 2007.

TILLEY, L. P.; SMITH, J.; FRANCIS, W. K. **Consulta Veterinária em 5 Minutos**. Barueri: Manole, 2 ed, p.405-406, 2003.



TRAPP, S. M.; DAGNONE, A. S.; VIDOTTO, O.; FREIRE, R. L.; AMUDE, A. M.; MORAIS, H.S.A.. Seroepidemiology of canine babesiosis and ehrlichiosis in a hospital population. **Veterinary Parasitology**, v. 140, p. 223-230, 2006

TROY, G. C.; FORRESTER, S. D. Canine ehrlichiosis. **Infectious diseases of the dog and cat**, p. 404-418, 1990.

UENO, T. E.; AGUIAR, D. M.; PACHECO, R. C.; RICHTZEIHAIN, L. J.; RIBEIRO, M. G.; PAES, A. C.; LABRUNA, M. B. *Ehrlichia canis* em cães atendidos em hospital veterinário de Botucatu, Estado de São Paulo, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária (Online)**, v. 18, n. 3, p. 57-61, 2009.

VALENTE, P. C. L. G. **Avaliação dos métodos diagnósticos e dos parâmetros hematológicos nas hemoparasitoses caninas no estado de Minas Gerais**. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG, 2014.

VIEIRA R. F.; BIONDO, A. W.; GUIMARAES, A. M.; DOS SANTOS, A. P.; DOS SANTOS, R. P.; DUTRA L. H. Ehrlichiosis in Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 20, n. 1, p. 01-12, 2011.

WANER, T.; HARRUS, S.; WEISS, D.J.; BARK, H.; KEYSARY, A. Demonstration of serum antiplatelet antibodies in experimental acute canine ehrlichiosis. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 48, p. 177-182, 1995.

WANER, T.; HARRUS, S.; JONGEGAN, F.; BARK, H.; KEYSARY, A.; CORNELISSEN, A. W. Significance of serological testing for ehrlichial diseases in dogs with special emphasis on the diagnosis of canine monocytic ehrlichiosis caused by *Ehrlichia canis*. **Veterinary Parasitology**, v. 95, n. 1, p. 1-15, 2001.

WATANABE, M.; OKUDA, M.; TSUJI, M.; INOKUMA, H. Seroepidemiological study of canine ehrlichial infections in Yamaguchi prefecture and surrounding areas of Japan. **Veterinary Parasitology**, v. 124, p. 101-107, 2004.

WITTER, R.; VECCHI, S. N.; PACHECO, T. D. A.; MELO, A. L. T.; BORSA, A.; SINKOC, A. L.; MENDONÇA, A.; AGUIAR, D. M. Prevalência da erliquiose monocítica canina e anaplasmose trombocítica em cães suspeitos de hemoparasitose em Cuiabá, Mato Grosso. **Seminário: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 2, p. 3811-3822, 2013.

WOODY, B. J.; HOSKINS, J. D. Ehrlichial diseases of dogs. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, v. 21, n. 1, p. 75-98, 1991.



ANEXO A – OFÍCIO DE APROVAÇÃO COMITÊ DE ÉTICA E EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (UNIUBE)



Ofício CEEA-037/2017

Uberaba, 4 de junho de 2019

Ilma. Prof.

**Eustáquio Resende Bittar**

**Assunto:** Encaminha processo nº 014/2017, sobre o protocolo de pesquisa "*Criação de banco de soro e sangue para o desenvolvimento e padronização de teste imunológico ELISA para Babesia canis, Anaplasma platys, Ragelia vitalli, Ehrlichia canis e Leishmania infantum*".

Prezado(a) Professor(a),

Em resposta a sua solicitação, informo que o protocolo acima referido foi submetido avaliação do CEEA-UNIUBE, na reunião do dia 22/06/2017, sendo considerado **aprovado**.

Atenciosamente,



*Prof. Joly F. Figueiredo Bittar*

Coordenadora do CEEA-UNIUBE