

OLIVEIRA R.R.G.C.¹, SÓCCIO J.M.D^{1*}, PEREIRA A.M.², XAVIER M.S.³,
ALENCAR N.X.⁴, MACIEIRA D.B.⁵, VELHO P.B.⁶, GOMES G.C.⁶, AZEVEDO
R.R.M.⁶ & ALMOSNY N.R.P.⁷

ALTERAÇÕES BIOQUÍMICAS SÉRICAS EM CÃES (*CANIS FAMILIARIS*) NATURALMENTE INFECTADOS POR *EHRlichia SP.*, *ANAPLASMA* *PLATYS* E/OU *BABESIA SP.* NO ESTADO DO RIO DE JANEIRO - ESTUDO RETROSPECTIVO

INTRODUÇÃO:

Ehrlichiose, Anaplasmosose e Babesiose são doenças transmitidas por carrapatos da família Ixodidae e afetam a população canina mundial. Ehrlichiose e Anaplasmosose são causadas por riquetsias gram-negativas intracelulares obrigatórias com tropismo por células de linhagem hematopoiética, pertencentes à Família Anaplasmataceae sendo as espécies *Ehrlichia canis*, *Anaplasma phagocytophilum* e *A. platys* as encontradas em cães no Brasil. A babesiose canina é causada por protozoários da família Babesiidae, gênero *Babesia* e os agentes da doença no Brasil são *B. canis* e *B. gibsoni* (Yamane et al.1993, Lobetti 1995), sendo somente a subespécie *Babesia canis vogeli* descrita no Rio de Janeiro (Sá et al. 2007).

Ehrlichia canis infecta células mononucleares de cães causando anemia arregenerativa, trombocitopenia e leucopenia (Almosny 2002). Os aspectos bioquímicos da infecção causada por *E. canis* incluem inicialmente hiperproteinemia (Harrus et al. 1998, Varela 2003) com hipergamaglobulinemia (Harrus et al. 1996, Harrus et al. 1998, Harrus et al. 1999, Castro et al. 2004), e posterior hipoalbuminemia (Harrus et al. 1996, Harrus et al. 1998, Harrus et al. 1999, Varela 2003, Castro et al. 2004, Watanabe et al. 2005), elevação das atividades de aspartatoaminotransferase (AST), fosfatase alcalina (FAL) e alaninaminotransferase (ALT) (Varela 2003, Almosny 1998), discreta elevação dos níveis séricos de bilirrubina sem icterícia (Almosny, 1998), além de um aumento nas concentrações séricas de uréia, creatinina e fósforo (Troy G.C & Forrester, 1990).

Anaplasma platys é o agente da trombocitopenia cíclica canina, sendo descrito infectando unicamente plaquetas de cães (Ristic M. & Huxsoll D.L. 1984, Almosny 2002). Na fase aguda da infecção os valores de plaquetometria

¹ Graduando de Medicina Veterinária, UFF. Faculdade de Veterinária - Centro de Ciências Médicas (CCM) / Universidade Federal Fluminense (UFF) - Rua Vital Brazil Filho, 64, Vital Brazil, CEP: 24.230-340, Niterói, RJ. email: juliasoccio@hotmail.com

² Doutorando do programa de pós-Graduação em Medicina Veterinária- Bolsista CAPES, UFF.

³ Professor assistente da disciplina de Laboratório Clínico Veterinário I- Faculdade de Veterinária, UFF.

⁴ Professor adjunto da disciplina de Laboratório Clínico Veterinário II- Faculdade de Veterinária, UFF.

⁵ Pós-doutorando do programa de pós-Graduação em Medicina Veterinária- Bolsista CNPQ, UFF.

⁶ Mestrando do programa de pós-graduação em Medicina Veterinária- Bolsista CAPES, UFF.

⁷ Professor associado II da disciplina de Laboratório Clínico Veterinário II- Faculdade de Veterinária, UFF.

podem chegar a 10.000/ μ L (Hoskins 1991). É também descrita ocorrência de hipergamaglobulinemia e redução dos níveis de ferro sérico (Baker et al. 1988). Outras espécies da Família Anaplasmataceae podem causar doenças em humanos, *A. phagocytophilum* que infecta neutrófilos e é o agente causal da ehrlichiose granulocítica humana e *E. chaffeensis*, que infecta monócitos e é causadora da ehrlichiose monocítica humana. Esses patógenos induzem febre não específica, além de leucopenia, trombocitopenia e discreta injúria do fígado, sendo que apenas *E. chaffeensis* tem capacidade de infectar o sistema nervoso central (Park et al. 2003).

Babesia spp. é um parasita intra-eritrocitário, sendo *B. canis* subdividida em três subespécies: *B. canis canis*, *B. canis vogeli* e *B. canis rossi*. *Babesia canis* causa doença caracterizada em sua forma aguda por anemia hemolítica regenerativa, febre e hemoglobinúria, havendo, na forma severa da enfermidade, queda nos níveis séricos de proteínas (Furlanello et al. 2005) e albumina (Furlanello et al. 2005, Scally et al. 2006). Há relatos de aumento dos níveis séricos de uréia, creatinina, elevação da atividade de AST (Furlanello et al. 2005, Scally et al. 2006, Niwetpathomwat et al. 2006), hipoglicemia (Furlanello et al. 2005, Gopegui et al. 2006, Scally et al. 2006) ou hiperglicemia (Gopegui et al. 2006), decréscimo de ferro (Furlanello et al. 2005), aumento da atividade de ALT (Irizarry-Rovira et al. 2001, Furlanello et al. 2005, Niwetpathomwat et al. 2006, Scally et al. 2006) e de FAL (Furlanello et al. 2005, Niwetpathomwat et al. 2006), hiperbilirrubinemia (Irizarry-Rovira et al. 2001, Furlanello et al. 2005, Scally et al. 2006), hipergamaglobulinemia moderada (Irizarry-Rovira et al. 2001, Furlanello et al. 2005, Scally et al. 2006). Na forma branda da doença são encontrados valores séricos normais (Niwetpathomwat et al. 2006).

Quando se suspeita de infecção por hemoparasitas, o entendimento correto das manifestações clínicas, bem como dos exames laboratoriais e escolha do método diagnóstico tornam-se de extrema importância para se chegar à conduta clínica ideal. O presente estudo teve como objetivo verificar as alterações bioquímicas em cães naturalmente infectados por *Ehrlichia* sp., *A. platys* ou *Babesia* sp. atendidos no Hospital Universitário Veterinário Professor Firmino Mársico Filho localizado no Estado do Rio de Janeiro, afim de caracterizar variações séricas mais frequentes tendo assim um auxílio-diagnóstico

MATERIAL E MÉTODOS:

Foram analisados retrospectivamente resultados de dosagens bioquímicas de sangue de cães naturalmente infectados por *Ehrlichia* sp., *A. platys*, ou *Babesia* sp., atendidos no Hospital Universitário Veterinário Professor Firmino Mársico Filho, da Universidade Federal Fluminense, entre janeiro de 2003 e abril de 2008. Para o estudo foram selecionados os animais que apresentavam inclusões sugestivas destes hemoparasitas em avaliação morfológica de esfregaços sangüíneos a partir de sangue total corados usando preparados de Romanowsky e dosagens bioquímicas, totalizando 46 amostras. As dosagens bioquímicas foram realizadas em espectrofotômetro semi-automático (BIOPLUS[®]). Os cães foram divididos em três grupos, de acordo com a inclusão encontrada no esfregaço sangüíneo: grupo 1 (n=13): mórulas de *Ehrlichia* sp. em mononucleares; grupo 2 (n=19): mórulas de *A. platys* em plaquetas; grupo 3 (n=14): *Babesia* sp em hemácias. Foram calculadas as médias, valores máximos e mínimos e desvio padrão das dosagens bioquímicas

disponíveis para cada grupo. Com a finalidade de comparar os animais da mesma família, as médias das dosagens bioquímicas de cães positivos para membros da família Anaplasmataceae (Grupos 1 e 2) foram tabelados e aplicado o teste T de Student, com grau de significância de 0,05. Os resultados do grupo 3 foram inseridos somente de forma descritiva.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Os resultados das médias, valores máximos e mínimos e desvio padrão das dosagens bioquímicas dos grupos 1, 2 e 3 encontram-se na tabela 1. Na grande maioria dos parâmetros bioquímicos analisados, não foi encontrada diferença significativa entre os grupos 1 e 2 (p valor > 0,05), sendo esta visualizada somente no valor das proteínas totais (p valor = 0,032). Esta diferença estatística provavelmente se deveu a reduzida amostragem de animais com dosagem de proteínas totais nos grupos 1 e 2. Houve um discreto aumento nos valores médios de uréia nos grupos 1 e 2 (tabela 1) e a média de concentração de creatinina encontrou-se dentro da normalidade. Um aumento nos valores de uréia sem aumento nos níveis séricos de creatinina apontou para uma possível causa pré-renal, como desidratação em função de febre ou por um estresse sistêmico determinado pela doença, podendo levar ao aumento do catabolismo protéico e não por causa renal ou pós-renal (Almosny, 1998). Embora, de acordo com as médias, não tenha havido azotemia, quando avaliados os valores máximos de uréia e creatinina dos grupos 1 e 2, foram encontrados, individualmente, alguns valores bem elevados (tabela 1), de acordo Troy e Forrester (1990). A intensa azotemia em casos avançados de Ehrlichiose crônica (Almosny, 1998) pode ter sido decorrente de glomerulonefrite devido à infecção secundária (Harrus et al., 1998). Foi proposto que uma estimulação antigênica crônica por *E. canis* poderia induzir uma glomerulonefrite causada por acúmulo de imunocomplexos. (Breitschwerdt, 2000). Alguns animais do grupo 2 apresentaram hiperglicemia, e a única dosagem de glicose do grupo 1 encontrava-se dentro dos valores de referência (tabela 1). O valor médio de atividade de ALT em animais do grupo 2 estava discretamente aumentado (tabela 1), o resultado de atividade de ALT no único animal grupo 1 apresentava-se na normalidade. A atividade média de FAL ficou bem aumentada em animais do grupo 1 (tabela 1), e normal nos animais do grupo 2.

No único animal do grupo 2 com dosagem de AST e GGT, estas apresentaram atividade sérica diminuída e elevada, respectivamente (tabela 1).

Tabela 1: Parâmetros bioquímicos de 46 cães naturalmente infectados por *Ehrlichia* sp. (grupo1; n=13) *Anaplasma platys* (grupo2; n=19) ou *Babesia* sp. (grupo3; n=14), no estado Rio de Janeiro, de janeiro de 2004 a abril de 2008.

	Cálculos	Resultados GRUPO 1	Resultados GRUPO 2	Resultados GRUPO 3	Valores de Referência*
Uréia (mg/dL)	Média ± DP ¹	70,6 ± 76,3	82,7 ± 118	93,2 ± 101,3	21 - 60
	(n) ²	(13)	(18)	(12)	
	(Min ³ - Max ⁴)	(23 - 287)	(8,7 - 413)	(18,2 - 351)	
Creatinina (mg/dL)	Média ± DP ¹	1,6 ± 1	1,8 ± 1,6	1,4 ± 1,5	0,5 - 1,5
	(n) ²	(13)	(18)	(13)	
	(Min ³ - Max ⁴)	(0,2 - 4,1)	(0,5 - 6,2)	(0,2 - 6,2)	
Glicose (mg/dL)	Média ± DP ¹	75 ± 0	144,4 ± 89,2	149 ± 0	70 - 112
	(n) ²	(1)	(3)	(1)	
	(Min ³ - Max ⁴)	(75 - 75)	(90,1 - 247,3)	(149 - 149)	
Proteínas totais (g/dL)	Média ± DP ¹	6,6 ± 0,1	7,6 ± 0,07	-	5,4 - 7,1
	(n) ²	(2)	(2)		
	(Min ³ - Max ⁴)	(6,5 - 6,7)	(7,5 - 7,6)		

Albumina (g/dL)	$Média \pm DP^1$ (n) ² (Min ³ - Max ⁴)	2,7 ± 1,3 (2) (1,7 - 3,6)	3,2 ± 0,9 (2) (2,5 - 3,8)	-	2,6 - 3,3
Globulina (g/dL)	$Média \pm DP^1$ (n) ² (Min ³ - Max ⁴)	4 ± 1,5 (2) (2,9 - 5,0)	4,4 ± 0,9 (2) (3,8 - 5,0)	-	2,7 - 4,4
Alaninamino transferase (UI/L)	$Média \pm DP^1$ (n) ² (Min ³ - Max ⁴)	55 ± 57,9 (13) (10,4 - 183,3)	130,5 ± 195,1 (17) (16 - 837)	121,8 ± 159,6 (11) (20 - 560)	21 - 102
Fosfatase Alcalina (UI/L)	$Média \pm DP^1$ (n) ² (Min ³ - Max ⁴)	182 ± 227 (5) (41,4 - 580)	92,5 ± 74,3 (5) (48,5 - 223,9)	157 ± 72,2 (4) (91,2 - 223,9)	20 - 156
Aspartatoamino transferase (UI/L)	$Média \pm DP^1$ (n) ² (Min ³ - Max ⁴)	27,9 ± 0 (1) (27,9 - 27,9)	3,3 ± 0 (1) (3,3 - 3,3)	-	23 - 66
Gamaglutamil transferase (UI/L)	$Média \pm DP^1$ (n) ² (Min ³ - Max ⁴)	- (1) (12,7 - 12,7)	12,7 ± 0 (1) (12,7 - 12,7)	-	1,2 - 6,4

*Laboratório de Patologia Clínica Veterinária Universidade Federal Fluminense

¹Desvio Padrão, ² Número de animais, ³ Valor mínimo, ⁴ Valor máximo.

O aumento na atividade das enzimas ALT, FAL e GGT, assim como descrito por Varela (2003), provavelmente ocorreu por esplenomegalia causada em decorrência da ehrlichiose. A atividade de FAL também pode ter seu valor aumentado devido a estresse sistêmico provocado por outras enfermidades (Almosny, 1998). O achado mais consistente tem sido a elevação das atividades destas enzimas devido à necrose hepato-celular (Almosny 2002). Houve uma discreta hiperproteinemia em animais do grupo 2. A albumina e globulina permaneceram com seus valores normais nos dois grupos analisados. Como Harrus et al. (1998) e Varela (2003) citaram, houve uma leve hiperproteinemia em animais com *A. platys* que pode ter sido decorrente de uma hiperglobulinemia inicial, sendo que, individualmente, um dos animais apresentou globulinemia de 5,0g/dL. Muitas vezes os valores de proteínas totais tendem a ficar dentro do limite de normalidade, como ocorreu nesse caso, com os animais infectados por *E. canis*. Isso ocorre na fase aguda por causa dos níveis de globulina que ainda não se elevaram e, na fase crônica, a hipoalbuminemia se contrapõe a hipergamaglobulinemia, levando a níveis de proteínas normais (Almosny 1998). Quanto aos animais do grupo 3, foi observado um aumento nos valores médios de uréia, creatinina, glicose e discreta elevação nas atividades de ALT e FAL. A azotemia que tem sido descrita por vários autores (Furlanello et al. 2005, Scally et al. 2006, Niwetpathomwat et al. 2006); ocorreu, provavelmente, pela deposição do pigmento férrico decorrente da intensa hemólise e conseqüente hemoglobinúria, associada a hipóxia tissular, que podem ter gerado nefropatias (Hildebrandt 1981, Breitschwerdt, 1993, Lobetti 1996). De acordo com Gopegui (2006), houve uma hiperglicemia que pode se desenvolver em doenças hipermetabólicas como a babesiose. Esse aumento metabólico geralmente é causado por uma intensa mobilização de glicose e estresse, e pode ser comprovado através do aumento da secreção de cortisol. A hipoglicemia está mais relacionada a uma complicação severa da babesiose. O aumento nas atividades de ALT e FAL, como descrito por Furlanello et al. (2005) e Niwetpathomwat et al. (2006), pode ter ocorrido devido à sobrecarga hepática proveniente da destruição de hemácias que levam a congestão no fígado e baço, com aumento na formação de bilirrubina, acúmulo de bile e distensão da vesícula biliar (Hildebrandt 1981, Breitschwerdt 1993, Lobetti 1996).

CONCLUSÃO:

Pode-se concluir que na infecção por *Ehrlichia* sp. a alteração mais freqüente foi a elevação da atividade de FAL e ALT, enquanto em cães positivos para *A. platys* o aumento da atividade de ALT e hiperproteinemia com hiperglobulinemia foram mais evidentes, comprovando assim possível esplenomegalia e participação de um componente imunomediado. Em infecções por *Babesia* sp. foram observadas principalmente azotemia, e um discreto aumento da atividade de ALT e FAL, provavelmente devido a anemia hemolítica intravascular com anóxia tissular e deposição de pigmento férrico nos rins e sobrecarga hepática, respectivamente. As alterações bioquímicas encontradas podem ajudar, juntamente com a avaliação das possíveis alterações hematológicas, no delineamento da infecção, estabelecimento do prognóstico e tratamentos específico e de suporte adequados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- Almosny N.R.P. 1998. *Ehrlichia canis* (Donatien & Lestoquard,1935): Avaliação parasitológica, hematológica e bioquímica sérica da fase aguda de cães e gatos experimentalmente infectados. U.F.R.R.J. Tese de Doutorado
- Almosny N.R.P. 2002. Hemoparasitoses em pequenos animais domésticos e como zoonoses.135 p, 1ed. L.F. Livros de Veterinária Ltda., Rio de Janeiro.
- Baker D.C., Gaunt S.D. & Babin S.S. 1988. Anemia of inflammation in dogs infected with *Ehrlichia platys*. American Journal Veterinary Research, 49(7):1014-1016
- Breitschwerdt E.B.1993. Babesiosis, p. 834-841. In: Greene R.T. (Ed.). Enfermidades infecciosas de los perros y gatos. Interamericana, México.
- Breitschwerdt E. B. 2000. The rickettsioses, p.400-407. In: Ettinger S. J.; Feldman E. C. (Ed.): Textbook of veterinary internal medicine. 5. ed. W B Saunders Company, Philadelphia.
- Castro M.B., Machado R.Z., Aquino L.P.C.T., Alessi A.C., Costa M.T. 2004.Experimental acute canine monocytic ehrlichiosis: clinicopathological and immunopathological findings. Veterinary Parasitology, 119:73–86
- Furlanello T., Fiorio F., Caldin M., Lubas G., Solano-Gallego L.2005. Clinicopathological findings in naturally occurring cases of babesiosis caused by large form *Babesia* from dogs of northeastern Italy. Veterinary Parasitology, 134:77–85
- Gopegui R. R., Peñalba B., Goicoa A., Espada Y., Fidalgo L. E., Espino L. 2006 Clinico-pathological findings and coagulation disorders in 45 cases of canine babesiosis in Spain. The Veterinary Journal, 174:129–132
- Harrus S., Warier T., Avidar Y., Bogin E., Peh H., Bark H. 1996. Serum protein alterations in canine ehrlichiosis Veterinary Parasitology, 66:241-249
- Harrus S., Ofri R., Aizenberg I., Waner T. 1998. Acute blindness associated with monoclonal gammopathy induced by *Ehrlichia canis* infection. Veterinary Parasitology, 78:155-160
- Harrus S., Waner T., Bark H., Jongejan F., Cornelissen A.W.C.A 1999. Recent Advances in Determining the Pathogenesis of Canine Monocytic Ehrlichiosis. Journal of Clinical Microbiology, 37(9):2745–2749
- Hildebrandt P.K.1981. The organ and vascular pathology of babesiosis, p. 449-474. In: Ristic M.& Kreier J.P.(Ed.), Babesiosis. Academic Press, New York.
- Hoskins J.D.1991. A Ehrlichial Diseases of dogs diagnosis and Treatment. Canine Practice, 16(3):13-21.

- Irizarry-Rovira A.R., Stephens J., Christian J., Kjemtrup A., DeNicola D.B., Widmer W.R., Conrad P.A. 2001. *Babesia gibsoni* Infection in a Dog from Indiana. *Veterinary Clinical Pathology*, 30(4): 180-188
- Lobetti R.G. 1995. Leukaemoid response in two dogs with *Babesia canis* infection. *Journal of South African Veterinary Association*, 66(3):182-184.
- Lobetti R.G. & Reyers F. 1996. Methaemoglobinuria in naturally occurring *Babesia canis* infection. *Journal of South African Veterinary Association*, 67: 88-90
- Niwetpathomwat A., Techangamsuwan S., Suvarnavibhaja S., Assarasakorn S. 2006. A retrospective study of clinical hematology and biochemistry of canine babesiosis on hospital populations in Bangkok, Thailand. *Comp Clin Pathol* 15:110-112
- Park J., Choi K., Grab D. J., Dumler J. S. 2003. Divergent Interactions of *Ehrlichia chaffeensis*- and *Anaplasma phagocytophilum*-Infected Leukocytes with Endothelial Cell Barriers. *Infection and immunity*, 71(12): 6728–6733
- Ristic M. & Huxsoll, D.L. 1984. Tribe Ehrlichiae (Philip, 1957). In: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. 1:704-709
- Sá A.G., Cerqueira A.M.F., O'dwyer L.H., Abreu F.S., Ferreira R.F., Pereira A.M., Velho P.B., Rubini A.S., Almosny N.R.P. 2007. Detection of Hepatozoon spp in naturally infected Brazilian dogs by polymerase chain reaction. *International Journal of Applied Research in Veterinary Medicine Apopka: Veterinary Solutions LLC*, 5 (2):49-51.
- Scally M.P., Leisewitz A.L., Lobetti R.G., Thompson P.N. 2006. The elevated serum urea:creatinine ratio in canine babesiosis in South Africa is not of renal origin. *J S Afr Vet Assoc* 77(4):175-8.
- Troy G.C & Forrester S.D. 1990. Canine Ehrlichiosis, p. 404-417. In: Greene C.E., *Clinical Microbiology Infectious Diseases of the Dog and Cat*. W.B. Saunders Company, Philadelphia.
- Varela A.S. 2003. Tick-borne Ehrlichiae and Rickettsiae of dogs. In: Bowman D.D., *Companion and exotic animal parasitology*. International Veterinary Information Service [IVIS], New York.
- Watanabe M., Oikawa T., Hiraoka H., Kaneko N., Itamoto K., Mizuno T., Okuda M., Inokuma H. 2005. Experimental inoculation of beagle dogs with Ehrlichia species detected from Ixodes ovatus. *Veterinary Parasitology*, 3382; No of Pages 8
- Yamane I., Thomford J.W., Gardner I.A., Dubey J.P., Levy M., Conrad P.A. 1993. Evaluation of the indirect fluorescent antibody test for diagnosis of *Babesia gibsoni* infections in dogs. *American Journal of Veterinary Research*, 54(10):1579-1584.