

## **ALTERAÇÕES HEMATOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS EM CÃES SOROPOSITIVOS PARA *EHRlichia canis* NO PERÍODO DE 2002 A 2008.**

*HEMATOLOGICAL AND BIOCHEMISTRY AMENDMENTS IN SOROPOSITIVS DOGS FOR EHRlichia canis IN THE PERIOD OF 2002 TO 2008.*

**FERNANDES, P. V. B.<sup>1(\*)</sup>; JERICÓ, M. M.<sup>2</sup>; LOPES, P. A.<sup>3</sup>; MOREIRA, M. A. B.<sup>4</sup>; SULTANUM, C. A. R.<sup>3</sup>; ZORZI, V. B.<sup>1</sup>; MACHADO, F. L. A.<sup>4</sup>; CANTAGALLO, K. L.<sup>3</sup>**

**Palavras-chave:** erliquiose, diagnóstico, sorologia, hematologia.

**Keywords:** ehrlichiosis, diagnosis, serology, hematology.

### **1.0 INTRODUÇÃO**

A erliquiose canina é uma enfermidade endêmica que acomete praticamente todas as regiões do Brasil, envolve o microorganismo bacteriano *Ehrlichia sp* (microorganismos bacterianos gram - negativos cocobacilares pleomórficos e intracelulares obrigatórios) e é transmitida pelo vetor biológico *Rhipicephalus sanguineus*, que uma vez infectado pode transmitir a doença por até 155 dias após a separação do hospedeiro. No vetor a *E. canis* multiplica-se nos hemócitos e nas células da glândula salivar, ocorrendo transmissão transtadiária. No hospedeiro vertebrado ocorre infecção e multiplicação em células do sistema monocítico fagocitário (linfonodos, baço, fígado e medula óssea). Pode ocorrer transmissão iatrogênica através de transfusões sanguíneas (sendo necessária a seleção sorológica de cães doadores) (BIRCHARD e SHERDING, 1998).

A enfermidade foi descrita pela primeira vez por DONATIEN e LESTOQUARD, (1935), na Argélia e ficou conhecida nas Américas quando cães do exército dos EUA, enviados em combate na guerra do Vietnã começaram a desenvolver petéquias, epistaxe, febre, melena, anemia e trombocitopenia, recebendo o nome de pancitopenia tropical canina (BUHLES *et al*, 1975). O primeiro caso de erliquiose relatado no Brasil foi em Belo Horizonte no ano de 1973, onde foram observadas mórulas da rickettsia dentro de linfócitos (COSTA *et al*, 1973).

As espécies de cães naturalmente infectadas incluem *E. canis* (cepa mononuclear), *A. platys* (cepa plaquetária) e *E. ewingii* (cepa neutrofílica). Além dessas espécies, a *E. equi* (cepa neutrofílica), *E. risticii* (cepa mononuclear) e a *E. chaffensis* (erliquiose humana) também já foram isoladas como causadoras de erliquiose em cães. A *E. canis* é a mais comum e causa a doença clínica mais grave. Formam agrupamentos intracitoplasmáticos em forma de amora, e com coloração magenta-escura ou azul-acinzentada, chamados mórulas (três a seis micrometros). As células alvo são plaquetas, monócitos, linfócitos e neutrófilos (BIRCHARD e SHERDING, 1998).

Após um período de incubação de sete a 21 dias, a doença causada por *E. canis* pode evoluir para as fases aguda, assintomática (ou estado de portador) e crônica. A doença clínica pode ocorrer em qualquer cão, mas sua gravidade varia dependendo dos fatores de virulência do microorganismo e da resposta imunológica do hospedeiro. Em animais naturalmente infectados, é difícil definir a fase da doença (NEER, 1998) uma vez que a apresentação

clínica e os achados laboratoriais são bastante similares (WADDLE e LITTMAN, 1988) e a duração e severidade das manifestações clínicas são variáveis (BUHLES *et al*, 1975).

Segundo KAKOMA *et al*, (2000), as principais manifestações clínicas são: apatia, anorexia, emaciação, letargia, sinais de depressão, febre, palidez de mucosas, ixodidiose recorrente ou sinais de distúrbio de coagulação como epistaxe, petéquias, sufusões, melena, hematúria ou hifema.

As alterações clinicopatológicas incluem: anemia que pode ser regenerativa na fase aguda da doença, devido à perda de sangue pela vasculite ou uma anemia arregenerativa na fase crônica devido à supressão da medula óssea; trombocitopenia na fase aguda ocorre devido depleção do número de plaquetas e vasculite, na crônica sendo oriunda de uma supressão da medula óssea; aumento da viscosidade sanguínea devido ao aumento das células jovens na circulação; neutropenia associada ao processo inflamatório na fase aguda da vasculite, e na fase crônica relacionada à hipoplasia ou aplasia medular; monocitose relacionada à instalação de um processo inflamatório crônico; linfocitose é observada na fase intermediária da enfermidade, na tentativa de eliminação do parasito; pancitopenia ocorre principalmente na fase crônica onde se evidencia uma hipoplasia ou aplasia medular; hiperglobulinemia devido ao aumento na produção de globulinas na tentativa de eliminar o agente infeccioso; hipoalbuminemia ocorre na fase aguda devido à perda para o interstício pela vasculite e na crônica mediante presença de lesão renal e proteinúria observada nos casos de lesão glomerular (ETTINGER e FELDMAN, 1997; BUHLES *et al*, 1975).

O diagnóstico da erliquiose canina tem como base o histórico clínico, exames sorológicos, tais como reação de imunofluorescência indireta (RIFI) e ensaio imunoenzimático (ELISA); molecular através da técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR) e exame direto, pela técnica de citologia aspirativa de baço, linfonodos e pulmão, esfregaço sanguíneo e cultura (ANDEREG e PASSOS, 1999).

Devido à característica assintomática, um cão que tenha anticorpos detectados sempre deve ser tratado. No tratamento utilizam-se tetraciclina, doxiciclina e cloranfenicol, como fármacos de eleição, sendo que não responde a fluoroquinolonas (HIRSH e ZEE, 2003). Pode ainda ser realizada transfusão sanguínea. A infecção com *E. canis* não confere imunidade protetora; portanto, o animal exposto após o tratamento a carrapatos infectados, resultará em afecção, geralmente de menor gravidade (ETTINGER e FELDMAN, 1997). Mostraram HARRUS *et al*, (2004), que os cães se recuperaram da erliquiose após 16 dias do tratamento por doxiciclina. No pós tratamento, de acordo com ANDEREG e PASSOS, (1999), os níveis de IgG persistem detectáveis pela RIFI entre três e nove meses. Cães tratados com Doxiciclina tiveram uma queda de duas a quatro vezes no título de anticorpos entre 21 e 35 dias após o tratamento.

## **2.0 OBJETIVOS**

O presente trabalho tem como objetivo principal descrever as principais alterações hematológicas e bioquímicas em cães soropositivos para *E. canis* atendidos no Hospital Veterinário Anhembi Morumbi (HOVET-AM), no período de setembro de 2002 a maio de 2008.

### **3.0 MATERIAIS E MÉTODOS**

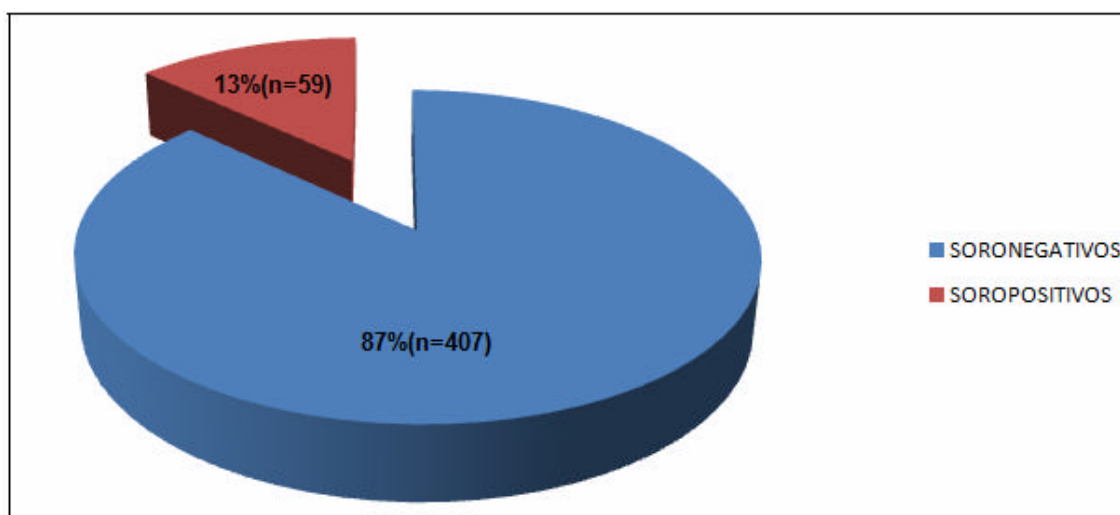
Foram selecionados cães atendidos no HOVET-AM, que apresentaram no mínimo três das manifestações clínicas como mucosas pálidas, petéquias, equimoses, piroxia, linfadenopatia generalizada, esplenomegalia, hepatomegalia, dispnéia, febre, letargia, corrimento ocular e nasal serosos, uveíte anterior e/ou posterior, intolerância a exercícios, pneumonite, meningoencefalite, ixodidiose recorrente, não havendo distinção de raça, sexo ou idade entre os animais. O soro desses cães foi submetido à pesquisa de anticorpos anti-*Ehrlichia canis* pela técnica de ELISA-IDEXX®. Posteriormente foram estudadas as principais alterações hematológicas e bioquímicas dos animais soropositivos.

Dos animais selecionados, foram coletados 10ml de sangue total e separados em 5ml no tubo com EDTA, para realização do hemograma e 5ml no tubo seco, para realização das dosagens bioquímicas (albumina; alanina aminotransferase; fosfatase alcalina; uréia e creatinina).

Os dados foram obtidos por meio de levantamento em arquivos do HOVET-AM.

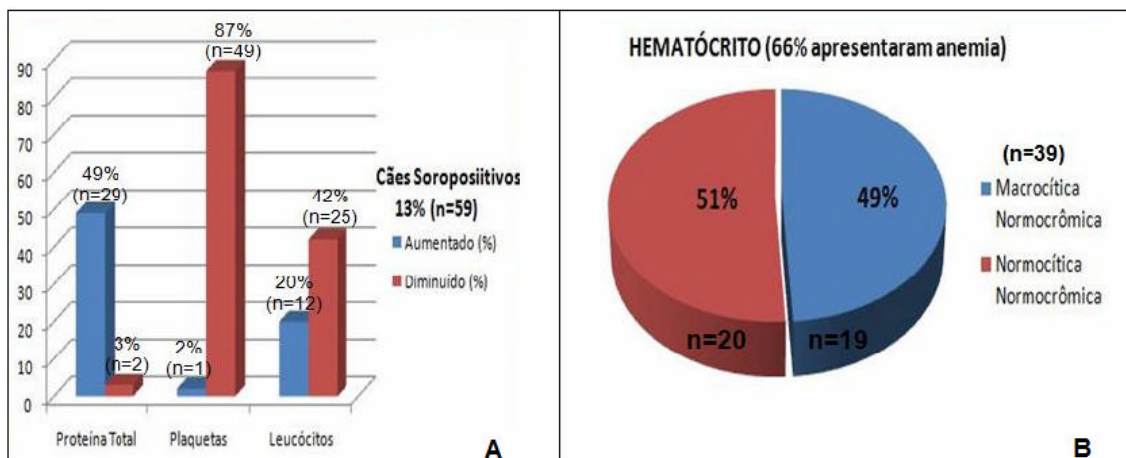
### **4.0 RESULTADOS**

Foram selecionados 466 cães que apresentaram as principais manifestações clínicas, como mucosas pálidas; linfadenopatia generalizada; hipertermia; caquexia; ixodidiose recorrente; petéquias; esplenomegalia e hepatomegalia. A sorologia revelou 87% (n=407) como não reagentes e 13% (n=59) como reagentes (Figura 1).



*Figura 1 – Sorologias (ELISA) – Ehrlichia canis (Setembro de 2002 a maio de 2008) n=466*

Dos cães soropositivos, 100% (n=59) apresentaram alterações no hemograma (Figura 2 – A), destacando-se trombocitopenia 87% (n=49), trombocitose 2% (n=1); leucopenia 42% (n=25), leucocitose 20% (n=12) e 38% (n=22) apresentaram valores de leucócitos dentro da referência de normalidade; anemia 66% (n=39). Dentre os animais que apresentaram anemia (Figura 2 – B), 51% (n=19) foram classificados em macrocítica normocrômica e 49% (n=19) normocítica normocrômica.



**Figura 2** – A: Hemograma de animais soropositivos para *E. canis* realizado no HOVET-AM (n=59); B: Hemograma de animais soropositivos para *E. canis*, que apresentavam anemia realizado no HOVET-AM (n=39).

As principais alterações observadas nos exames bioquímicos dos cães soropositivos foram: em relação à albumina (realizada em 40% dos casos), 47% apresentaram valores normais, 53% hipoalbuminemia e nenhum apresentou hiperalbuminemia (valor mínimo foi 1,56g/dl e o máximo foi 3,12g/dl). Na alanina aminotransferase (ALT) (realizada em 40% dos casos) 74% apresentaram valores normais, enquanto que 26% estavam com valores aumentados e nenhum estava diminuído (valor mínimo foi 15U/L e o máximo 728U/L). A creatinina (realizada em 98% dos casos) 66% apresentaram valores normais, 34% valores aumentados e nenhum estava diminuído (mínimo foi 0,5mg/dL e o máximo 11,7mg/dL). Em relação à fosfatase alcalina (FA) (realizada em 40% dos casos) 26% apresentavam valores normais, 74% valores aumentados e nenhum estava diminuído (mínimo foi 16U/L e o máximo 3309U/L). Por fim, a uréia (realizada em 96% dos casos) 74% apresentaram valores normais, 26% valores aumentados e nenhum estava diminuído (mínimo foi 10mg/dL e o máximo 529mg/dL).

## **5.0 DISCUSSÃO**

As manifestações clínicas mais freqüentes em cães com erliquiose, independente da fase clínica, relatadas por KAKOMA *et al*, (2000), como apatia, anorexia, letargia e febre foram semelhantes aquelas observadas neste estudo.

A trombocitopenia foi a anormalidade hematológica mais evidenciada (87% - n=49) tanto na fase aguda (vasculite) como na crônica (supressão da medula óssea), mas é geralmente mais grave na fase crônica. Dados semelhantes à ALMOSNY, (1998), que relata incidência de aproximadamente um terço de trombocitopenia nos cães infectados por *E. canis*. Inicialmente a *E. canis* gera destruição de plaquetas por mecanismos imunomediados. Ao final da doença, o microorganismo provoca aplasia de medula óssea e conseqüentemente diminuição na produção de plaquetas (THRALL *et al*, 2007).

Com relação ao número de leucócitos, ocorreu variação entre leucocitose (20% - n=12) e leucopenia (42% - n=25), também relatados por ALMOSNY, (1998), e MENESES, (1995), que descreveram uma variação durante a fase aguda da doença, porém com a indução do seqüestro por

mecanismos imunológicos ou utilização inflamatória, seu número pode estar diminuído. Em poucos animais observa-se leucopenia durante a fase aguda, estando presente na fase crônica da erliquiose canina. Contagem leucocitária normal também foi encontrada por WADDLE e LITTMAN, (1988), e DAVOUST *et al*, (1993).

A incidência de anemia (66% - n=39) observada neste estudo foi semelhante a pesquisa realizada por ANDEREG e PASSOS, (1999), onde o índice foi de 60% variando entre as fases da enfermidade.

A elevação dos níveis de ALT (26%), FA (74%), uréia (26%) e creatinina (34%) foram semelhantes aos descritos por MENESES, (1995), e WADDLE e LITTMAN, (1988), ocorrendo variações mediante o estágio da doença. Na fase aguda, há aumento discreto nos níveis plasmático dessas enzimas devido à hemólise intensa e em poucos casos, uma icterícia branda. Já na fase crônica, há aumento da uréia e creatinina, decorrentes da nefropatia primária devida à glomerulonefrite e plasmocitose intersticial renal. A prevalência de valores dentro da normalidade para ALT (74%), creatinina (66%) e uréia (74%) foram semelhante aos encontrados por KUEHN e GAUNT, (1985); WADDLE e LITTMAN, (1988).

A prevalência de hipoalbuminemia (53%) condiz com MENESES, (1995), no qual as causas da hipoalbuminemia encontradas podem ser a subnutrição protéica, uma perda renal das proteínas devido a nefropatia, hemorragias, doença hepática, perda periférica devido a edema causado pela vasculite e também uma compensação para manter a pressão osmótica devido ao aumento das globulinas.

## **6.0 CONCLUSÃO**

Manifestações clínicas como apatia, anorexia, letargia e febre devem ser consideradas na suspeita da erliquiose canina.

Como mencionado, trombocitopenia foi a principal alteração hematológica e sugestiva da presença da enfermidade, devida ao consumo e à destruição periférica das plaquetas. Leucopenia e anemia também são alterações laboratoriais relevantes.

Em relação à série bioquímica, ressaltam-se hipoalbuminemia, aumento sérico de ALT, FA, uréia e creatinina, demonstrando as alterações sistêmicas ocasionadas pela enfermidade.

Deve-se destacar, portanto, a importância das alterações clinicopatológicas para a suspeita diagnóstica da erliquiose canina com posterior confirmação por exames específicos, como também monitoração dos pacientes acometidos.

## **7.0 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

**ALMOSNY, N.R.P.** *Ehrlichia canis* (DONATIEN & LESTOQUARD, 1935): Avaliação parasitológica, hematológica e bioquímica sérica da fase aguda, em cães e gatos experimentalmente infectados. 1998. 202f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal Fluminense do Rio de Janeiro, Faculdade de Medicina Veterinária, Rio de Janeiro, 1998.

**ANDEREG, P. I. ; PASSOS, L. M. F.** Erliquiose Canina. *Clínica Veterinária*, São Paulo, n. 18, 1999, 31-38p.

- BIRCHARD, S. J. ; SHERDING, R. G.** Manual Saunders: Clínica de Pequenos Animais. 1. ed. São Paulo, Roca 1998. 139-142p.
- BUHLES Jr., W.C.; HUXSOLL, D.L.; HILDEBRANDT, P.K.** Tropical canine pancytopenia: role of aplastic anemia in the pathogenesis of severe disease. *J. Comp. Pathol.*, Edinburgh, v. 85, p. 511-521, 1975.
- COSTA, J.O.; SILVA, M.; BATISTA Jr., J.A.; GUIMARÃES M.P.** *Ehrlichia canis* infection in dog in Belo Horizonte – Brazil. *Arq. Esc. Vet. Univ. Minas Gerais*, Belo Horizonte, v. 25, p. 199-200, 1973.
- DAVOUST, B. L.** Ehrlichiose canine. *Poin Vet.*, Maison Alfort, v. 25, p. 43-51, 1993.
- DONATIEN, A.; LESTOQUARD, F.** Existence en Algérie d'une Rickettsia du chein. *Bull. Soc. Pathol. Exot.*, Paris, v. 28, p. 418-419, 1935.
- ETTINGER, S. J. ; FELDMAN, E. C.** Tratado de Medicina Interna Veterinária (Moléstias do Cão e do Gato). 4. ed. São Paulo, Manole 1997. 543-552p.
- HARRUS, S. et al.** Comparasion of Simultaneous Splenic Sample PCR with Blood Sample PCR for Diagnosis and Treatment of Experimental *Ehrlichia canis* Infection. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, n. 11, vol. 48, Nov 2004, 4488-4490p.
- HIRSH, D. C. ; ZEE, Y. C.** Microbiologia Veterinária. 1. ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan 2003. 276-279p.
- KAKOMA, I.; SAINZ, A.; TESOIRO, M.; AMUSATEGUI, I.; KIM, C.; BIGGERSTAFF, J.; McPEAK, J.; LEVY, M.G.** Standardization of the diagnostic criteria for canine ehrlichiosis: towards a universal case definition. *Ann. N. Y. Acad. Sc.*, New York, v. 916, p. 396-403, 2000.
- KUEHN, N.F.; GAUNT, S.D.** Clinical and hematologic findings in canine ehrlichiosis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, Schaumburg, v. 186, p. 355-358, 1985.
- MENESES, A.** First report of canine ehrlichiosis in Costa Rica. *Vet. Rec., London*, v.137, p. 46-47, 1995.
- NEER, T.M.** Ehrlichiosis: Canine monocytic and granulocytic ehrlichiosis. In: GREENE, C.E. (Org.). *Infectious diseases of the dog and cat*. 2nd ed. Philadelphia:W.B. Saunders. 1998, p. 139-154.
- THRALL, M. A. et al.** Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária. 1. ed. São Paulo, Roca 2007. 85, 181p.
- WADDLE, J.R.; LITTMAN, M.P.** A retrospective study of 27 cases of naturally occurring canine ehrlichiosis. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.*, Denver, v. 24, p. 615-620, 1988.

---

1: Graduando (a) da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Anhembi Morumbi.

2: Professora Doutora de Clínica Médica de Pequenos Animais e Coordenadora do Hospital Veterinário da Universidade Anhembi Morumbi.

3: Médica Veterinária Residente do Hospital Veterinário da Universidade Anhembi Morumbi.

4: Médico Veterinário do Hospital Veterinário da Universidade Anhembi Morumbi.

*Hospital Veterinário Universidade Anhembi Morumbi – Rua Conselheiro Lafaiette, 64 – São Paulo – SP – Telefone: 11 27904642 – CEP: 03164110 – Brasil – E-mail: vbf paulo@gmail.com*