

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS-PB
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

MONOGRAFIA

Caracterização Clínica e Laboratorial de um Cão com Artrite Séptica por *Ehrlichia* sp –
Relato de caso.

ANA LUÍZA PIRES SOARES DA SILVA

2016



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS-PB
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

MONOGRAFIA

Caracterização Clínica e Laboratorial de um Cão com Artrite Séptica por *Ehrlichia* sp –
Relato de caso.

Ana Luíza Pires Soares da Silva

Graduanda

Profa. Dra. Rosângela Maria Nunes da Silva

Orientadora

Patos

Março, 2016

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DO CSTR

S586c Silva, Ana Luíza Pires Soares da
Caracterização clínica e laboratorial de um cão com artrite séptica por
Ehrlichia sp – relato de caso / Ana Luíza Pires Soares da Silva. – Patos,
2016.

39f.: il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (Medicina Veterinária) -
Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia
Rural, 2016.

“Orientação: Prof.^a Dr.^a Rosângela Maria Nunes da Silva”

Referências.

1. Artrite. 2. Canino. 3. Citologia. 4. Erliquiose. 5. PCR. I. Título.

CDU 616:619

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS-PB
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

ANA LUÍZA PIRES SOARES DA SILVA

Graduanda

Monografia submetida ao Curso de Medicina Veterinária como requisito parcial para obtenção do grau de Médica Veterinária.

ENTREGUE EM/...../.....

MÉDIA: _____

BANCA EXAMINADORA

NOTA: _____

Profa. Dra. Rosangela Maria Nunes da Silva

Orientadora

NOTA: _____

Msc. Rosileide dos Santos Carneiro

Examinadora I

NOTA: _____

Msc. Olivia Maria Moreira Borges

Examinadora II

“Dai ao Senhor a glória devida ao seu nome; adorai o Senhor na beleza da sua santidade. ”

(Salmos 29:2)

Dedico este trabalho aos meus pais, Diógenes e Joana D'arc. Sem o amor incondicional de vocês e todo apoio que me foi dado até hoje nada disso faria sentido. Vocês sempre foram minhas maiores fontes de inspiração pessoal e profissional.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, sem Ele nada seria possível. O Senhor foi o meu guia espiritual para superar todas as dificuldades encontradas pelo caminho, para nunca pensar em desistir em busca de alcançar meu sonho de criança, o sonho de ser Médica Veterinária. Em 5 anos de jornada, o Senhor renovou a minha fé, me fazendo passar por provas até chegar ao caminho da vitória esperada nEle. Que seja assim agora e para sempre!

Aos meus pais, Diógenes e Joana D'Arc que me ensinaram a amar e respeitar os animais e sempre demonstraram estar ao meu lado, me apoiando, me aconselhando e me dando broncas quando precisei, enfim, recebi de vocês todo apoio que precisei. Não consigo imaginar a realização desse sonho se não tivesse vocês ao meu lado, portanto, dedico tal realização a vocês, meus amores, e espero um dia conseguir ser uma profissional tão qualificada como vocês são, honrando a medicina veterinária com amor, ética e muito conhecimento. Muito orgulho de tê-los como colegas de profissão e parceiros para toda vida. Amo vocês incondicionalmente!

Aos meus irmãos Pedro Henrique e Maria Amélia, companheiros de brincadeiras e confusões. Por toda ajuda que me deram, mesmo estando longe fisicamente. Por todas as brigas que de certa forma geraram aprendizado. Por todas as diferenças que nos tornam pessoas melhores a cada dia, aprendendo a conviver entre nós. Por todo amor que há entre nós e que espero que nunca acabe.

A minha filha do coração, Maria Flor, um ser de luz especial que ganhei de presente no meu primeiro ano como Universitária. Minha companheira de quatro patas, fiel e leal como nunca encontrei igual. Por tanto tempo moramos nós duas numa cidade quente e, por vezes, num apartamento solitário. Graças a você, minha filhota linda, me sentia amada sempre, até mesmo nos momentos mais solitários, você veio com seu carinho e lambeijos para me consolar e me fazer uma pessoa feliz.

A todos da minha família que contribuíram direta e indiretamente para a realização desse sonho. Em especial, minha avó paterna Rita Soares, por todo cuidado que teve comigo em toda a minha vida, por todas as orações que fizeste por mim, por todos os conselhos e todo apoio emocional que sempre me deu, minha tia Dulcilene Soares e seu esposo, Tio Bocão, pelos conselhos, pela alegria que é estar sendo recebida

por vocês em João Pessoa, por serem pessoas tão maravilhosas comigo em toda minha vida, minha madrinha Lourdinha Pontes e seu esposo, meu tio, Junior Garcia (*in memoriam*) por todo amor que demonstraram por mim, pela confiança, pela preocupação, pela torcida que fizeram para que eu chegasse até aqui. Tio Junior, sinto muito por não estar aqui na terra conosco para comemorar essa vitória, mas sei que lá do céu a sua alma está em festa pela minha formatura e mandando todas as vibrações positivas possíveis. Minha avó materna Francisca Pires e meu avô materno Antônio Pires (*in memoriam*), minhas tias Dulcinea e Frânia, todos os meus tios, primos e primas. Amo muito vocês!

Agradeço a minha mãe de coração Aparecida Góis e seus filhos Mariana, João Paulo e Silvana por toda a convivência que tivemos desde quando eu era criança, por todo o apoio que nunca me negaram e por toda a torcida para que tudo desse certo em minha vida longe de casa.

Aos meus amigos e pais de coração Franklin Fonseca, dona Cerimar e minha irmã Ysabelly que sempre me ajudaram sem esperar nada em troca, sempre foram pessoas de companhia agradabilíssima, me recebem muito bem sempre, me aconselham e me apoiam em momentos difíceis e desabafos.

Aos meus pais adotivos Marcos Castro e Vânia Meira que me receberam tão bem durante o meu estágio no Rio de Janeiro e ao meu irmãozinho Cristiano. Vocês me fizeram crescer muito com a experiência de estagiar longe de toda a minha família, me ofereceram, além de um lar, todo apoio que eu precisava naqueles dias, risadas, conselhos, conversas, pizzas, passeios. Dedicaram-me sentimentos tão bons que não poderia ser diferente o que sinto hoje por vocês: muito amor!

A minha madrinha Eridam Gomes de Oliveira Lúcio e meu padrinho João Lúcio de Sousa que foram pais adotivos do meu pai em sua jornada em Patos e comigo criaram laços familiares também, sempre me receberam muito bem nos finais de semana que pude visitar o sítio Cuncas e são pessoas tão amáveis.

As minhas tias do coração, em especial tia Virginia e tia Lis, pelas conversas, brincadeiras e risadas e por serem mulheres tão maravilhosas de caráter e fisicamente.

Ao meu psicólogo do ensino médio e amigo que sei que posso contar por toda a vida Eudes Alencar – Patinho. Obrigada por tudo que fez por mim no momento em que

meu psicológico estava mais abalado e por ter permanecido ao meu lado como um grande amigo que quero levar comigo pra sempre. Pelas conversas, brincadeiras, conselhos e broncas.

A minha amiga Mabrine Brito, minha irmã de consideração, por todos esses anos de amizade/irmandade que a distância e as pessoas não foram capazes de destruir. Somos irmãs graças a Deus e o que Ele une nada nem ninguém separa. Por todos os conselhos, puxões de orelha, abraços, momentos tristes e felizes em que estivemos juntas, por nunca ter me negado seu ombro amigo quando mais precisei desabafar. Tenho certeza que esse momento é muito feliz pra você e quando você se formar eu estarei mais feliz ainda pela realização desses sonhos.

A minha orientadora querida, professora Dra. Rosangela Maria Nunes da Silva, por todos os ensinamentos técnicos e pessoais que me foram dados quando fui sua aluna, por ter me aceitado como sua desorientadinha e ter se tornado a minha mãe na graduação. Por todos os conselhos, conversas, broncas, abraços e cheiros, por toda ajuda que me deu para a realização desse trabalho e, principalmente, por ser essa pessoa tão especial, carinhosa e linda. Meu sentimento pela senhora é de muita gratidão. Nunca me esquecerei de tudo que fez por mim.

A todos os mestres que pude conhecer durante a graduação e aprender os ensinamentos que foram passados para auxiliar na minha formação profissional, em especial ao professor Antônio Flávio Medeiros Dantas e a professora Sônia Maria de Lima.

A Dra. Rosileide Carneiro dos Santos por todo apoio durante os meus estágios na Clínica Médica de Pequenos Animais do HV-UFCG, pelos ensinamentos que me passou, pelas experiências profissionais que pude ter graças a seu auxílio, por todo carinho e consideração que demonstrou ter por mim durante esses anos, pelos conselhos e pela pessoa excelente que sempre foi comigo. Sem você esse trabalho não seria possível de ser realizado.

A todos os alunos da minha turma de graduação. Em especial, as amigas que eu pude contar ao longo dos anos e quero levar para o resto da vida, Roberta Gomes e Nedja Fernanda. Desejo que as nossas diferenças continuem sendo motivos que nos aproximam sempre mais e mais, que o tempo e a distância não impeçam nossa amizade

de perdurar e que vocês tenham muito sucesso em suas jornadas pessoais e profissionais daqui pra frente.

A Dra. Olivia Maria Moreira Borges por toda ajuda no desenvolvimento do trabalho.

A professora Assíria Nóbrega por todo acolhimento e apoio que me deu na logo que cheguei a Patos, em 2011.

Aos animais, os motivos maiores da minha escolha por essa profissão tão magnífica a qual se tornou um estilo de vida que quero levar pra sempre.

Muito obrigada!!!

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1 ERLIQUIOSE CANINA	14
2.1.1 Etiologia e epidemiologia	14
2.1.2 Sinais clínicos	15
2.1.2 Diagnóstico	17
2.1.3 Tratamento e prognóstico	18
3 MATERIAL E MÉTODOS	20
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
5 CONCLUSÃO	34
REFERÊNCIAS	35
ANEXOS	

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1 – Mensuração da pressão arterial do cão, Poodle, utilizando-se tensiômetro portátil.....	24
Figura 2 – Exame clínico dos membros torácicos do cão Poodle. Observa-se alteração do volume da articulação rádio-cárpica direita (seta vermelha) e assimetria em relação à articulação esquerda.....	27
Figura 3 – Imunoensaio Imunocromatográfico para detecção qualitativa de anticorpos (IgG e IgM) anti- <i>Ehrlichia canis</i> , realizado em 30 de janeiro de 2015. Observa-se a presença de duas linhas coloridas (C e T), indicando resultado positivo.....	28
Figura 4 – Amostra citológica articular. Observa-se ao centro um macrófago contendo em seu citoplasma duas mórulas de <i>Ehrlichia</i> sp. (setas vermelhas) (Panótico rápido; X400).....	33

LISTA DE TABELAS

Pág.

- Tabela 1** – Valores da série vermelha sanguínea referentes à contagem global de Hemácias, Hematócrito, concentração de Hemoglobina, índices hematimétricos, Volume Corpuscular Médio (VCM), Hemoglobina Corpuscular Média (HCM), Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média (CHCM), Extensão da Distribuição de Hemácias (EDH) e plaquetas de um cão macho, Poodle, 11 anos, diagnosticado com erliquiose, atendido no Hospital Veterinário, da Universidade Federal de Campina Grande, Campus de Patos-PB, em 30 de janeiro de 2015..... 29
- Tabela 2** – Valores do leucograma referentes à global de Leucócitos e contagem diferencial de Neutrófilos Segmentados, Bastonetes, Linfócitos, Monócitos e Eosinófilos, de um cão macho, Poodle, 11 anos, diagnosticado com erliquiose, atendido no Hospital Veterinário, da Universidade Federal de Campina Grande, Campus de Patos-PB, em 30 de janeiro de 2015..... 30
- Tabela 3** – Valores de bioquímica sérica referentes as enzimas Alanina aminotransferase (ALT) e Fosfatase alcalina; Proteínas totais, Albumina e Globulina; Ureia e Creatinina de um cão macho, Poodle, 11 anos, diagnosticado com erliquiose, atendido no Hospital Veterinário, da Universidade Federal de Campina Grande, Campus de Patos-PB, realizados em 30 de janeiro de 2015..... 31

RESUMO

SILVA, ANA LUÍZA PIRES SOARES. Caracterização clínica e laboratorial de um cão com artrite séptica por *Ehrlichia* sp – Relato de caso. 2016, 41p. Monografia (Conclusão do curso de Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Campina Grande – UFCG. Patos, 2016.

Objetivou-se com esse trabalho relatar os aspectos clínicos e laboratoriais de um cão Poodle, 11 anos de idade, com diagnóstico de artrite séptica por *Ehrlichia* sp, no Hospital Veterinário, da UFCG, Patos-PB. Na anamnese, foi verificado histórico de apatia, anorexia, claudicação dos membros torácico e pélvico direitos e manifestações dolorosas por todo o corpo. Ao exame clínico o paciente encontrava-se debilitado, apresentando infestação por carrapatos, desidratação moderada, mucosas levemente congestionadas e linfonodos hipertrofiados. O membro torácico direito apresentou alteração do volume da articulação rádio-cárpica-metacárpica e assimetria em relação à articulação esquerda. Foi realizado ensaio Imunoenzimático ELISA para detecção de anticorpos anti-*Ehrlichia canis*, cujo resultado foi positivo. De modo complementar realizou-se hemograma, dosagem bioquímica sérica de proteínas totais, albumina, globulina, ureia, creatinina, alanina aminotransferase e fosfatase alcalina; Outros exames consistiram em urinálise, análise do líquido sinovial (Citologia e Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)), radiografia da articulação acometida e mensuração da pressão arterial. No hemograma observou-se leucopenia por linfopenia e trombocitopenia. Nas dosagens bioquímicas constatou-se hiperproteinemia, e na urinálise proteinúria e cilindros granulosos e hialinos. Na citologia do líquido sinovial foram observadas mórulas de *Ehrlichia* sp. em citoplasma de macrófagos e a técnica de PCR confirmou a presença desse hemoparasita. O exame radiográfico foi sugestivo de edema articular. A pressão arterial apresentou valor considerado de grau moderado. A terapêutica de eleição para o caso consistiu na administração de doxiciclina e prednisolona. Conclui-se que a análise citológica e a PCR do líquido sinovial são eficazes na elucidação do diagnóstico de erliquiose em cães. Em casos de artrite unilateral em cães idosos, deve-se suspeitar de artrite infecciosa, sendo a *Ehrlichia* uma das possibilidades etiológicas.

PALAVRAS-CHAVE: Artrite, Canino, Citologia, Erliquiose, PCR.

ABSTRACT

SILVA, ANA LUÍZA PIRES SOARES. Clinical and laboratory description of a dog with septic arthritis by *Ehrlichia* sp - Case report. 2016 41p. Monografia (Conclusão do Curso de Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Campina Grande - UFCG. Patos, 2016.

It was objectived with this work to report the clinical and laboratory aspects of a Poodle dog, 11 years old, diagnosed with septic arthritis by *Ehrlichia* sp, on the UFCG's Veterinary Hospital, Patos-PB. On the anamnesis, it was found a history of apathy, anorexia, lameness of the thoracic and pelvic right members and painful manifestations throughout the body. On clinical examination, the patient was weak, with tick infestation, moderate dehydration, slightly congested mucosa and hypertrophied lymph nodes. The right forelimb presented volume alteration on the radio-carpal-metacarpal articulation and asymmetry regarding the left joint. It was conducted immunoenzymatic assay ELISA to detect anti-*Ehrlichia canis* antibodies, which result was positive. Complementarily it was done blood count, serum biochemical analysis of total protein, albumin, globulin, urea, creatinine, alanine aminotransferase, and alkaline phosphatase; Other tests consisted of urinalysis, synovial fluid analysis (Cytology and Polymerase Chain Reaction (PCR)), x-ray from the affected joint and blood pressure measurement. On hemogram was observed leukopenia by lymphopenia and thrombocytopenia. On biochemical measurements it was found hyperproteinemia, and on urinalysis proteinuria and granular and hyaline casts. Were observed *Ehrlichia* sp. morulae on the cytology from the synovial fluid on the cytoplasm of macrophages and the PCR technic confirmed the presence of this hemoparasite. Radiographic examination was suggestive of joint swelling. Blood pressure showed a value considered moderate. The choice of therapy for the case was the administration of doxycycline and prednisolone. We conclude that the cytological analysis and PCR from synovial fluid are effective in elucidating the diagnosis of ehrlichiosis in dogs. In cases of unilateral arthritis on older dogs, infectious arthritis should be suspected with the *Ehrlichia* being one of the etiologies.

KEYWORDS: Arthritis, Canine, Cytology, Ehrlichiosis, PCR.

1 INTRODUÇÃO

Os cães têm sido utilizados como animais de companhia desde a sua domesticação, desempenhando importantes atividades relacionadas aos humanos, tais como: guarda, caça, ações policiais, guia de deficientes visuais, pastoreio, zooterapia ou simplesmente a companhia, sendo muitas vezes, considerados como verdadeiros integrantes das famílias. Essa integração está comprovada cientificamente como benéfica para a saúde física e mental dos seres humanos. Entretanto, tal proximidade pode gerar fatores de riscos potenciais à saúde humana pela transmissão de zoonoses, caso não sejam observados os cuidados essenciais na preservação da sanidade do animal, os quais incluem o controle e a prevenção de parasitas como os carrapatos. Tais ácaros podem causar severos danos à saúde dos cães, bem como, disseminar hemoparasitoses para pessoas, a erliquiose ou vulgarmente conhecida como doença do carrapato é uma delas.

A erliquiose é uma das mais importantes patologias de caráter infeccioso e está distribuída mundialmente, acometendo caninos, animais silvestres e outras espécies domésticas. Apresenta diferentes fases e múltiplas manifestações clínicas, sendo causada por bactérias do gênero *Ehrlichia* e *Ehrlichia canis* identificada como o principal agente causador da erliquiose canina no Brasil (AGUIAR et al., 2007; UENO et al., 2009).

Na rotina da Clínica Médica do Hospital Veterinário, da Universidade Federal de Campina Grande, a erliquiose canina é comumente diagnosticada (AZEVEDO et al., 2011), decorrente da elevada infestação do carrapato vetor e pela falta de conscientização dos proprietários com relação ao manejo ambiental para prevenção da doença, principalmente através do controle de ectoparasitas.

Comumente, a enfermidade apresenta-se clinicamente com uma trombocitopenia associada a um quadro de hiporexia, hipertermia, emagrecimento, epistaxe, depressão, linfadenopatia, entre outros. Porém, os relatos que descrevem a ocorrência de artrite como sinal clínico dessa hemoparasitose são escassos.

Portanto, objetivou-se com esse trabalho relatar os aspectos clínicos e laboratoriais de um cão com artrite séptica por *Ehrlichia* sp, atendido na rotina da Clínica Médica de Pequenos Animais, do Hospital Veterinário, do Centro de Saúde e Tecnologia Rural, da Universidade Federal de Campina Grande, Campus de Patos, região semiárida da Paraíba.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Erliquiose canina

A Erliquiose canina foi descrita pela primeira vez em um cão da raça Pastor Alemão, na Argélia, sendo reconhecida como uma enfermidade de importância mundial (DONATIEN e LESTOQUARD, 1935 *apud* CORREIA e CORREA, 1992). Em 1945, foi identificada pela primeira vez a *Ehrlichia canis* por Mashkovsky. (MACHADO, 2004). Em 1973, Costa et al, descreveram o primeiro relato de ocorrência da doença no Brasil, ocorrido em Belo Horizonte, Minas Gerais.

2.1.1 Etiologia e epidemiologia

A erliquiose monocítica canina é causada pela *Ehrlichia canis* e transmitida pelo carrapato marrom do cão (*Rhipicephalus sanguineus*). A transmissão ocorre durante o parasitismo de ninfas e/ou adultos do carrapato que realiza transmissão transestadial da bactéria (RIKIHISA, 1991; BREMER et al., 2005). Os carrapatos se infectam quando succionam o sangue de cães que já tenham a rickettsia circulante, durante as duas primeiras semanas após estes animais terem se infectado. Outros mamíferos podem servir como reservatório de *Ehrlichia canis*, como, por exemplo, os roedores (ETTINGER e FELDMAN, 2010).

O agente se multiplica nos órgãos do sistema mononuclear fagocitário (fígado, baço e linfonodos) resultando em hiperplasia dessa linhagem celular e organomegalia (BORIN, CRIVELENTI e FERREIRA, 2009).

No Brasil, a erliquiose monocítica canina ocorre, principalmente, em áreas urbanas, devido à alta prevalência do seu vetor (AGUIAR et al., 2007). Aproximadamente 20 % dos cães atendidos em hospitais e clínicas veterinárias de estados das regiões Nordeste, Sudeste, Sul e Centro-Oeste apresentam a doença (DAGNONE et al., 2003; MACHADO, 2004; LABRUNA et al., 2007). A região Nordeste apresenta a maior prevalência e a região Sul do país registra a menor prevalência (BRITO, 2006; FUJII, 2009).

A erliquiose pode ser diagnosticada durante todo o ano, sendo mais comum nos meses mais quentes devido ao maior desenvolvimento do carrapato (TAKAHIKA et al., 2003). Atualmente, é considerada uma doença endêmica no sudeste do Brasil, podendo

acometer animais de qualquer idade e já foi relatada em cães com dois meses a 13 anos de idade (KUEHN e GAUNT, 1985; NEER e HARRUS, 2006).

Estudos epidemiológicos no Brasil revelam prevalências de erliquiose monocítica canina variáveis entre 4,8 % a 65 % em cães de ambiente urbano ou rural (SAITO, 2003; AGUIAR et al., 2007).

2.1.2 Sinais clínicos

A erliquiose canina possui um período de incubação variável de 7 a 21 dias, sendo caracterizada por manifestações clínicas multissistêmicas e, após esse período, seguem as fases aguda, subclínica (assintomática) e crônica, sendo classificadas de acordo com os sinais clínicos e alterações clinico-patológicas apresentadas. (NEER e HARRUS, 2006). É descrita como uma síndrome altamente variável em suas alterações clínicas e hematológicas, pois mimetiza doenças metabólicas e infecciosas (KAKOMA et al., 2000), o que prejudica seu diagnóstico diferencial (HARRUS et al., 1999), a extensão e a severidade dos sinais clínicos (HUXSOLL et al., 1972; BIRCHARD e SHERDING, 2008, FARIA et al., 2010).

Durante a fase aguda da doença as células mononucleares infectadas margeiam os pequenos vasos ou vão para os tecidos endoteliais e, assim, provocam vasculite. A fase inicia-se uma a três semanas após a infecção e sua duração é de, aproximadamente, duas a quatro semanas, quando o microrganismo se multiplica na corrente sanguínea e nos tecidos fagocitários do fígado, baço e linfonodos, resultando em hepatomegalia, esplenomegalia e linfadenopatia. Os cães mais imunocompetentes sobrevivem. (BIRCHARD e SHERDING, 2008; ETTINGER e FELDMAN, 2010; NELSON e COUTO, 2010).

Os sinais clínicos da fase aguda são, geralmente, temporários e duram aproximadamente uma a duas semanas sem tratamento. Pode ocorrer febre, anorexia, perda de peso, edema de membros, vômitos, cianose, estertores pulmonares, petéquias e linfadenopatias, vasculites e sinais oculares como uveítes e opacidade da córnea (FARIA et al., 2010).

A fase subclínica ocorre após seis a nove semanas da inoculação e pode durar de meses a anos em cães naturalmente infectados. Caracterizando-se por persistência variável de trombocitopenia, leucopenia e anemia, com ausência de sinais clínicos (SOUSA et al., 2010). Embora alguns cães eliminem o microrganismo durante a fase

subclínica, ele persiste intracelularmente na maioria dos hospedeiros, conduzindo à fase crônica da infecção.

Na fase crônica, a principal característica é o aparecimento de hipoplasia medular, gerando uma anemia aplástica, monocitopenia, linfopenia e leucopenia (GREGORY e FORRESTER, 1990). Esta fase ocorre em cães que não desenvolvem resposta imune eficiente ao microrganismo. Várias anormalidades clínicas e clínico-patológicas manifestadas durante a fase crônica são devido às reações imunes contra o microrganismo intracelular (BIRCHARD e SHERDING, 2008; NELSON e COUTO, 2010). Os sinais podem ser brandos ou o animal pode até apresentar-se saudável e clinicamente sem alterações. Em alguns casos, pode ocorrer depressão, perda de peso, mucosas hipocoradas, hemorragias, infecções secundárias e edemas de membros. Alguns cães podem apresentar sinais clínicos como artrite generalizada, devido ao depósito de imunocomplexos; a trombocitopenia moderada é comum e importante no estabelecimento de um diagnóstico conclusivo (LEGATZKI, 2002).

Os sinais clínicos incluem depressão, letargia, anorexia, piroxia, poliúria e/ou polidipsia, linfadenomegalia, esplenomegalia e perda de peso, tendências a sangramento, principalmente petéquias e equimoses na pele e nas membranas mucosas e epistaxe. Podem apresentar, mais raramente, sinais oculares como uveíte anterior e opacidade corneana e comprometimento articular (artrites) com sintomatologia discreta, moderada ou grave (OLIVEIRA et al., 2000; HARRUS e WANER, 2011). Ocorre hipoalbuminemia, por deposição de imunocomplexos ou imunoestimulação crônica (NELSON e COUTO, 2010).

De acordo com a literatura, algumas manifestações clínicas na erliquiose são mediadas por imunocomplexos. Harrus et al. (2001), descreveram a detecção de imunocomplexos 45 dias após a infecção em um cão do grupo de seis infectados experimentalmente com *Ehrlichia canis* e Breitschwerdt (1997), relatou que a erliquiose provoca grande diversidade de alterações clínicas e condições patológicas suspeitas de serem relacionadas à formação de imunocomplexos citando como exemplos alterações como glomerulonefrites, uveíte e poliartrite.

O progresso da fase crônica pode ser severo e grave, ocasionando eventualmente a morte do animal por infecção secundária ou por hemorragia. Portanto, o diagnóstico da doença antes que ela progrida é essencial para melhores perspectivas de prognóstico (NEER e HARRUS, 2006).

2.1.2 Diagnóstico

Conforme descrito por Breitschwerdt (2004), a erliquiose canina é uma doença de difícil diagnóstico, pois mimetiza outras patologias. O diagnóstico presuntivo pode ser firmado a partir da anamnese, dos sinais clínicos e dos resultados de exames laboratoriais como hemograma e dosagens bioquímicas (SOUSA et al., 2010), entretanto sua confirmação se dá pela visualização de mórulas e inclusões de *Ehrlichia* sp. em exame de esfregaço sanguíneo nos monócitos circulantes, detecção de altos títulos de anticorpos para *Ehrlichia canis* ou ainda pela demonstração da cadeia de Adenina Dinucleotídeo (DNA) de *Ehrlichia canis* pela Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) (WOODY e HOSKINS, 1991; ORIÁ, 2004; DOYLE et al., 2005).

Segundo Vieira et al. (2011) a técnica de PCR é considerada a mais específica e mais sensível para *Ehrlichia* em comparação com outros métodos diagnóstico, possuindo a vantagem de detectar precocemente o DNA do agente etiológico nos primeiros dias pós-infecção, indicando possível infecção ativa ao invés de exposição. PCR feita em amostras de baço é considerada a mais sensível para a avaliação da eliminação erliquial quando comparada a utilização de amostras de sangue e medula óssea (HARRUS et al., 2001).

A Reação de Imunofluorescência Indireta (RIF) para a pesquisa de anticorpos IgG anti-*Ehrlichia canis* é considerada o método sorológico "padrão ouro", demonstrando exposição ao agente (HARRUS e WANER, 2011). Os testes rápidos de imunocromatografia, usados na detecção de anticorpos para *Ehrlichia canis*, demonstram uma elevada especificidade (100%) e sensibilidade (96,2%) para detectar exposição ao agente (LANZA-PEREA et al., 2009).

O agente da erliquiose tem sido detectado através de análise molecular realizada pela PCR e “nested” PCR (nPCR), identificando cães experimentalmente (fase aguda precoce) e naturalmente infectados, em fase crônica e vetores ixodídeos, com maior sensibilidade e especificidade no diagnóstico. (ALVES et al., 2002; BULLA et al., 2002).

A coleta e análise do líquido sinovial são uma abordagem valiosa no estabelecimento do diagnóstico de doenças articulares em cães. Sua utilização tem ocorrido de forma cada vez mais usual para realizar a diferenciação de inflamação aguda e crônica, bem como para a exclusão de processo infeccioso imunomediado (DE BIASE et al., 2001). Tais exames são de grande valor na confirmação da presença da

Ehrlichia sp. nas articulações e estabelecimento de um diagnóstico conclusivo. (NELSON e COUTO, 2010).

De acordo com a quantidade de volume de líquido sinovial coletada, podem ser obtidas valiosas informações sobre a cor, a turbidez, a viscosidade, a contagem total de células nucleadas, a qualidade da mucina e a concentração de proteínas totais (BOON, 1997; DE BIASE et al., 2001; FISHER, 2003; FERNANDES, 2009). Entretanto, as amostras podem ser difíceis de avaliar, pois muitas vezes possuem pequeno volume e são viscosas, gerando limitações na realização dos testes laboratoriais devido a quantidades insuficientes (FISHER, 2003; FERNANDES, 2009). Quando forem obtidos pequenos volumes, o exame citológico deve ser priorizado, por ser o componente mais importante (ROITT et al., 2003).

A artrite séptica pode ser diagnosticada de acordo com o aparecimento de alterações tóxicas nos neutrófilos e pela identificação de bactérias em esfregaços corados do líquido sinovial ou, por testes sorológicos, que possuem importante papel no diagnóstico da erliquiose canina, podendo ser utilizada a imunofluorescência indireta (IFI) ou a reação em cadeia da polimerase (PCR). Raramente um canino é soronegativo para *Ehrlichia canis* e positivo usando-se a PCR (NELSON e COUTO, 2010).

Com a dificuldade da realização de uma melhor abordagem através de exames do líquido sinovial, além da difícil distinção entre as enfermidades infecciosas de longa duração, tais como erliquiose canina, doença de Lyme e leishmaniose visceral, para buscar a base das artropatias a solicitação de exames complementares como radiografias, exames sorológicos, além de um detalhado histórico do animal atendido e minucioso exame físico são necessários (FERNANDEZ, 2009).

2.1.3 Tratamento e prognóstico

A resposta ao tratamento, em geral, é muito favorável, sendo raras as exceções, como em cães cronicamente afetados, onde a resposta é mínima. Entretanto, em cães com formas agudas, a melhora clínica ocorre em 24 a 72 horas, a recuperação completa em cães cronicamente afetados pode levar até quatro meses (COUTO, 2003; BIRCHARD e SHERDING, 2008).

Há uma grande variedade de medicamentos que podem ser utilizados no tratamento da erliquiose como, por exemplo, a tetraciclina, oxitetraciclina, doxiciclina, cloranfenicol, dipropionato de imidocarb, enrofloxacina e corticosteroides (TROY e FORRESTER, 1990; MONTEIRO et al., 2003; SOUSA et al., 2004). A doxiciclina é o

fármaco de eleição no tratamento da erliquiose em todas as suas fases (BARTSCH e GREENE, 1996; SOUSA et al., 2004). A recuperação do animal depende da intensidade do caso clínico e do período em que se inicia a medicação (TROY e FORRESTER, 1990; MONTEIRO et al., 2003).

A doxiciclina pode ser administrada em animais com disfunção renal, sendo excretada pelo aparelho gastrointestinal. Além disso, tem menor ligação ao cálcio, reduzindo, assim, a pigmentação indesejada dos dentes, podendo ser utilizada em animais jovens. Possui mecanismo de ação mais eficaz que as outras drogas, por ser muito lipossolúvel e capaz de atravessar a membrana celular, atingindo o agente infectante no interior da célula. O protocolo de tratamento é variável. As doses podem ser de 5mg/kg, duas vezes ao dia, a 10mg/kg uma vez ao dia, com administração por via oral, intramuscular ou intravenosa, durante 7 a 21 dias (WOODY e HOSKINS, 1991).

Outro protocolo é o de 10mg/kg, administrados por via oral, durante 28 dias consecutivos, com a dose de ataque no primeiro dia de tratamento de 20mg/kg (ANDRADE, 2008).

Em animais gravemente afetados, as terapias de suporte e transfusão sanguínea devem ser sempre utilizadas. Fluidoterapia intravenosa deve ser administrada em casos de desidratação ou choque e a transfusão sanguínea, em cães muito anêmicos, com objetivo de reestabelecer o equilíbrio ácido-básico e os níveis de oxigênio nas artérias. O sangue fresco ou plasma rico em plaquetas deve ser administrado em cães com problemas hemorrágicos graves (DUNN, 2001; FUJII, 2009).

O prognóstico depende da eficácia do sistema imune em controlar a infecção (ISMAIL e WALKER, 2005). A resposta ao tratamento geralmente é satisfatória, exceto nos casos crônicos, onde a resposta ao tratamento é mínima. Na erliquiose canina, a persistência simultânea do agente e dos altos títulos de anticorpos comprova que, para a adequada destruição do microrganismo, há necessidade da interação entre a resposta humoral e a resposta celular do hospedeiro (WEISER et al., 1991; KAKOMA et al., 2000).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Seleção do animal

Foi selecionado para o estudo um cão, macho, Poodle, com 11 anos de idade, pesando 4kg, diagnosticado com Erliquiose, proveniente do atendimento ambulatorial do setor da Clínica Médica de Pequenos Animais, do Hospital Veterinário (HV), da Universidade Federal de Campina Grande, Campus de Patos-PB, atendido no mês de janeiro de 2015.

Inicialmente, procedeu-se a anamnese do paciente e, posteriormente, realizou-se exame clínico geral e específico do animal. Foi realizada a avaliação dos parâmetros fisiológicos que consistiu em verificar a frequência cardíaca (FC), utilizando-se estetoscópio, e o resultado expresso em batimentos por minuto (bpm); frequência respiratória (FR), mensurada contando-se os movimentos torácicos durante um minuto (mpm); temperatura retal (TR), aferida através de um termômetro clínico digital introduzido na âmpola retal do animal, permanecendo em uma angulação de modo a possibilitar o seu contato com a mucosa retal por um período de um minuto e o resultado expresso em graus Celsius (°C). Após esses procedimentos, coletou-se sangue da veia jugular para a realização do hemograma e dosagens bioquímicas. Concomitantemente à coleta, uma parte do sangue foi imediatamente conduzido ao Laboratório de Patologia Clínica, HV, UFCG, para centrifugação e, através da obtenção do soro, sendo submetido ao ensaio Imunoenzimático ELISA para detecção de anticorpos anti-*Ehrlichia canis*, utilizando o kit comercial Alere Erliquiose Ac Test, cujo resultado foi positivo.

Após exame de triagem, considerando a positividade da amostra, realizou-se outros exames complementares: hemograma, pesquisa de hematozoários, bioquímicas (proteínas totais, albumina, globulina, alanina aminotransferase, ureia, creatinina e fosfatase alcalina), urinálise, análise do líquido sinovial (PCR e citologia), raio-X, validando o diagnóstico de artrite séptica por *Ehrlichia* sp.

3.2 Análises laboratoriais

Foram coletados 5 mL de sangue da veia jugular do animal, acondicionados em dois tubos de ensaio esterilizados, um deles sem anticoagulante e outro com Ácido etilenodiamino tetra-acético de sódio a 10 % (EDTA). As amostras sem EDTA foram centrifugadas por cinco minutos a 3000 rotações por minuto (rpm). O soro resultante foi

armazenado sob refrigeração a uma temperatura de $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ e, posteriormente, encaminhado ao laboratório para determinação dos valores de bioquímica.

3.2.1 Hemograma

Foi realizado o eritograma, leucograma e plaquetograma antes de instituir o tratamento como forma de analisar o estado geral do animal e determinar infecções concomitantes. Na série vermelha foi analisada a contagem global de hemácias, o teor de hemoglobina, o hematócrito e a contagem de plaquetas. Na série branca, realizou-se a contagem diferencial de leucócitos, onde foram confeccionados esfregaços sanguíneos, corados com corante Panótico, identificando-se as células em microscópio com objetiva de imersão a óleo (100x), conforme descrito por Birgel e Benesi (1982). Os leucócitos foram classificados de acordo com suas características morfológicas e tintoriais, e o resultado, obtido em percentual, de cada tipo celular, foi transformada em valor absoluto, levando-se em consideração a contagem global dos leucócitos, a contagem diferencial de agranulócitos (monócitos e linfócitos) e granulócitos (neutrófilos, eosinófilos e basófilos). Foi realizada a pesquisa de hemoparasitas na mesma lâmina utilizada para a contagem diferencial de leucócitos.

3.2.2 Avaliação bioquímica sérica

As amostras de sangue sem anticoagulante (3mL) foram centrifugadas a 3.000 rpm para obtenção do soro. O soro foi transferido para outro recipiente livre de coágulo. Em seguida, foram realizadas as dosagens de proteínas totais, albumina, globulina, alanina aminotransferase (ALT), ureia, creatinina e fosfatase alcalina pelo método colorimétrico. As leituras foram conduzidas em analisador semi-automático¹.

3.2.3 Urinálise

A coleta de urina foi realizada através de cateterismo, com o animal em decúbito lateral, utilizando luvas estéreis e expondo-se a glândula, aplicou-se lubrificante estéril no cateter utilizado e a ponta do mesmo foi inserida na abertura uretral, resultando em 8 mL coletados para realização dos exames. O exame físico da urina foi realizado por meio da observação macroscópica, estabelecendo-se resultados para aspecto e cor. A densidade urinária, mensurada em refratômetro digital. A análise química da urina,

obtida por meio de fita reagente comercial. Posteriormente, realizada avaliação do sedimento urinário. Para tal as amostras de urina foram centrifugadas a 1800G durante cinco minutos, sendo o sedimento reservado para a confecção da lâmina, e analisado a fresco, empregando objetivas com aumentos de 10x e 40x em microscópio de luz, realizando avaliação qualitativa e quantitativa dos elementos organizados/campo microscópio.

3.2.4 Análise de líquido sinovial

Após tricotomia da área a ser realizada artrocentese, a pele foi preparada com soluções de álcool iodado e álcool a 70%. Foram utilizadas luvas estéreis e realizada a palpação da articulação para inserção de agulha de calibre 25 conectada a uma seringa de 1 mL. No total, foram coletados 0,5mL de líquido sinovial e encaminhados para análise citológica e para realização de PCR. A citologia foi realizada no setor de Patologia Clínica do HV, da UFCG, e a PCR no laboratório Tecnologia em Sanidade Animal (TECSA), localizado na cidade de Belo Horizonte, Minas Gerais.

3.2.4.1 Citologia

A amostra foi processada imediatamente após o término da coleta do líquido sinovial, confeccionando-se lâminas que foram coradas pelo método panótico rápido para posterior avaliação à microscopia de luz no aumento de 40x e 100x, com imersão; objetivando avaliar a celularidade a partir da contagem de 100 células e pesquisar a presença de mórulas de *Ehrlichia* sp.

3.2.4.2 Reação em Cadeia de Polimerase (PCR)

O líquido sinovial foi submetido ao exame de PCR em Tempo Real qualitativo (PCR-RT) para detecção *in vitro* de *Ehrlichia* sp. A técnica possui especificidade e sensibilidade superiores a 95 % na amostra adequada. Foram realizados os seguintes controles na amostra: Controle positivo e controle negativo de detecção, controle interno de extração de Ácido desoxiribonucleico (DNA), controle interno de amplificação Beta actina (ACTB) e controle de verificação ambiental, validando a realização da técnica.

3.3 Raio-X

Para realização do exame radiográfico, utilizou-se uma unidade radiológica fixa da marca CRX - modelo SHF 730, com capacidade para 500 miliamperes (mA) e 150 quilovoltagem (kVp), tempo de exposição de 0,05 a 5 segundos e equipado com grade antidifusora Potter-Bucky.

A avaliação foi realizada na articulação distal do membro torácico direito: rádio-cárpica-metacárpicas (cárpica). Foram utilizados filmes para raios-x diagnósticos de tamanho 24 x 30 centímetros (cm), depositados em chassis metálicos com écran intensificador, de tamanho semelhante aos filmes anteriormente citados. As películas foram identificadas com a espécie, a raça, a idade, o registro do animal e a data do exame radiográfico. A revelação e a fixação dos filmes radiográficos foram efetuadas através de processamento manual.

A técnica radiográfica utilizada foi a relação mAs e kVp, de acordo com a espessura da região radiografada, preconizada por De Martin e Iwasaki (1976). Posteriormente, os exames radiográficos foram avaliados no negatoscópio.

3.4 Pressão Arterial (PA)

Para a avaliação da pressão arterial (PA) (sistólica, diastólica e média) foi utilizado o método não invasivo oscilométrico empregando-se o aparelho de pressão portátil CONTEC™ Patient Monitor (Modelo CMS 6000). O *Cuff* foi posicionado logo abaixo da articulação úmero-rádio-ulnar e o decúbito adotado para aferição foi o lateral-direito, atendendo a requisito de que sua espessura representasse aproximadamente cerca de 40% do diâmetro da área fixada (Figura 1).

Figura 1 - Mensuração da pressão arterial do cão Poodle, utilizando-se tensiômetro portátil.



Fonte: ARQUIVO PESSOAL, 2015.

Posteriormente, foram realizadas sete mensurações de PA (sistólica, diastólica e média), sendo descartados os registros discrepantes (mínimo e máximo), considerando-se a média aritmética das demais e os resultados expressos em mmHg. Foram adotados como parâmetros referenciais a classificação descrita por Tilley e Goodwin (2002), onde a pressão arterial sistólica (PAS) com valores entre 110mmHg a 120mmHg é considerada normal; entre 120mmHg e 170mmHg, discretamente elevada; entre 170mmHg a 200mmHg, moderadamente elevada e acima de 200mmHg, acentuadamente elevada. Em relação à pressão arterial diastólica (PAD), a variação entre 70mmHg a 80mmHg é classificada como normal; entre 80mmHg e 100mmHg, discretamente elevada; entre 100mmHg a 120mmHg, moderadamente elevada e acima de 120mmHg, acentuadamente elevada.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em janeiro de 2015, um cão, macho, da raça Poodle, 11 anos de idade e peso igual a 4 kg, foi atendido no setor de Clínica Médica de Pequenos Animais, no Hospital Veterinário, da UFCG, Campus de Patos-PB, com histórico de apatia há sete dias, anorexia, claudicação dos membros torácico e pélvico direitos, e relatos do proprietário de que o animal encontrava-se deprimido nos últimos três dias, com manifestações dolorosas por todo o corpo, recusando-se a andar e se mostrando inquieto quando tocado. Durante o exame clínico notou-se um paciente apresentando infestação por carrapatos, condição corporal magro, pelos eriçados, dores à palpação abdominal, halitose e intensa presença de tártaros, grau de desidratação de 10 % (moderada) (BREITSCHWERDT, 2004; FEITOSA, 2008), e mucosas oculares e oral levemente congestas. De acordo com estudos realizados por Breitschwerdt (2004) e Feitosa (2008), a congestão de mucosas ocorre devido ao ingurgitamento de vasos sanguíneos e de acordo com o estudo do caso em questão é decorrente de processo infeccioso sistêmico, sendo de grande importância como indicador do estado circulatório do paciente.

A temperatura retal (TR) foi de 38,8 °C, frequência cardíaca (FC) de 96 batimentos por minuto (bpm) e frequência respiratória (FR) igual a 24 movimentos por minuto (mpm). Tais parâmetros vitais apresentaram valores dentro dos limites indicativos de normalidade de acordo com estudos realizados por Feitosa (2008). Portanto, evidenciando que os mecanismos envolvidos nas atividades cardiorrespiratórias estavam funcionando normalmente na manutenção de tais parâmetros fisiológicos diante do quadro clínico da erliquiose. O tempo de preenchimento capilar (TPC) foi igual a 3 segundos, apresentando valor acima dos limites considerados normais (1 a 2 segundos) para a espécie, indicando baixa perfusão, provavelmente decorrente da desidratação (FEITOSA, 2008; NELSON e COUTO, 2010). Além disso, o animal apresentou linfonodos poplíteos hipertrofiados à palpação, e segundo Breitschwerdt (2004), Feitosa (2008) e Nelson e Couto (2010) tumefações nos linfonodos compreende uma reação inflamatória de caráter defensivo, oriunda de processos infecciosos, inflamatórios e/ou neoplásicos.

Ao exame dos membros torácicos, o animal demonstrou artralgia à palpação na articulação rádio-cárpica direita, com alteração do volume (edemaciação) e assimetria em relação à articulação esquerda (Figura 2), corroborando com estudos realizados por Feitosa (2008), o qual estabelece que no cão, alterações posturais e de marcha podem

ser causadas por enfermidades sistêmicas, entre elas a erliquiose, que leva a um quadro de artrite séptica, principalmente em articulações femorotibiais e carporradiais. Nelson e Couto (2010) descreveram que os distúrbios que acometem múltiplas articulações resultam em claudicação alternada dos membros afetados, ressaltando-se que dor em múltiplas articulações é grave e o animal pode recusar-se a andar ou gritar de dor quando movido ou tocado. Para Fisher (2003) nesse quadro clínico, geralmente, ocorre um aumento significativo do líquido sinovial intra-articular.

Figura 2 - Exame clínico dos membros torácicos do cão Poodle. Observa-se alteração do volume da articulação rádio-cárpica direita (seta vermelha) e assimetria em relação à articulação esquerda.

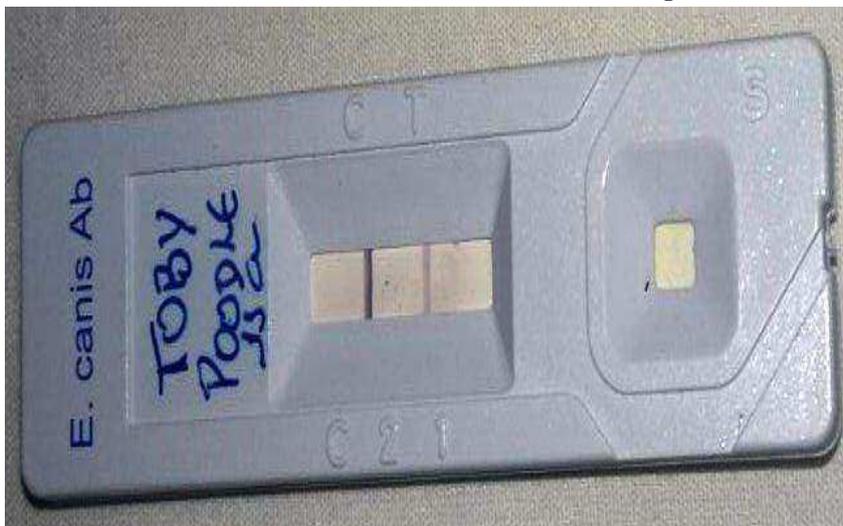


Fonte: ARQUIVO PESSOAL, 2015.

O teste Alere Erliquiose Ac Test utilizado para inclusão do animal no presente estudo obteve resultado positivo para *Ehrlichia canis* (Figura 3), o qual, juntamente com outros exames realizados posteriormente, e que serão discutidos a seguir, resultaram na conclusão do diagnóstico de erliquiose, corroborando com Hegarty et al. (2009), os quais utilizaram o referido exame na determinação da relevância clínica da triagem sazonal para *Ehrlichia canis*. Os referidos pesquisadores obtiveram resultados indicando que a utilização exclusiva do teste não é adequada para a interpretação de relevância clínica, devendo ser usado, portanto, em combinação com a contagem

plaquetária e resultados de técnicas moleculares, entre elas, a imunofluorescência indireta e a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR).

Figura 3 – Imunoensaio Imunocromatográfico para detecção qualitativa de anticorpos (IgG e IgM) anti-*Ehrlichia canis*, realizado em 30 de janeiro de 2015. Observa-se a presença de duas linhas coloridas (C e T), indicando resultado positivo.



Fonte: ARQUIVO PESSOAL, 2015.

Estão demonstrados na Tabela 1, os valores referentes ao eritrograma e plaquetograma do cão em estudo. Observando-se que os registros do caso clínico, no que diz respeito ao eritrograma e seus parâmetros, entre eles a contagem global de hemácias, porcentagem do hematócrito, concentração de hemoglobina, e os índices hematimétricos, volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM), apresentam-se dentro da faixa de limites considerado normal para a espécie, conforme resultados estabelecidos por Weiss e Wardrop (2010) e Trhall (2011). De acordo com os resultados observados no exame clínico, a anemia não foi evidenciada laboratorialmente devido ao processo de desidratação que, provavelmente, mascarou o quadro clínico do animal.

Tabela 1- Valores da série vermelha sanguínea referentes à contagem global de Hemácias, Hematócrito, concentração de Hemoglobina, índices hematimétricos, Volume Corpuscular Médio (VCM), Hemoglobina Corpuscular Média (HCM), Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média (CHCM), Extensão da Distribuição de Hemácias (EDH) e plaquetas de um cão macho, Poodle, 11 anos, diagnosticado com erliquiose, atendido no Hospital Veterinário, da Universidade Federal de Campina Grande, Campus de Patos-PB, em 30 de janeiro de 2015.

Parâmetros hematológicos	Valores registrados	Valores de referência*
Hemácias ($10^6/\mu\text{L}$)	5,8	5,5 - 8,5 x $10^6/\mu\text{L}$
Hematócrito (%)	40,0	37 - 55 %
Hemoglobina (g/dL)	13,5	12 - 18 g/Dl
VCM (fl)	69,0	60 - 77 fl
HCM (pg)	23,3	19 - 23 pg
CHCM (g/dL)	33,8	32 - 36 g/dL
EDH (%)	10,3	12 - 15 %
Plaquetas (mm ³)	93.000	200 - 500.000 /mm ³

* Weiss e Wardrop (2010)

No que diz respeito aos registros obtidos quanto à extensão da distribuição de hemácias e a contagem de plaquetas (Tabela 1) os resultados foram menores do que os limites considerados normais para a espécie (WEISS e WARDROP, 2010). Além disso, a pesquisa de hemoparasitas realizada no esfregaço sanguíneo apresentou resultado negativo. Tais achados estão de acordo com estudos realizados por Thrall (2011), a qual afirmou que, cães com erliquiose podem apresentar diminuição de apenas uma linhagem celular, como trombocitopenia, sendo a *Ehrlichia canis* raramente encontrada no esfregaço sanguíneo. Ressaltando-se que a ausência de parasitas em esfregaços de sangue periférico não exclui a possibilidade de infecção (WOODY e HOSKINS, 1991; ORIÁ, 2004; DOYLE et al., 2005). A visualização microscópica de mórula de *Ehrlichia* sp. no interior de leucócitos ocorre durante a fase aguda da doença e em aproximadamente 4 % dos casos. O encontro na fase subclínica ou crônica de mórula intracitoplasmática é raro (WANER e HARRUS, 2000). As alterações laboratoriais mais frequentes são trombocitopenia, anemia arregenerativa, hiperglobulinemia, de acordo com estudos realizados por Andereg e Passos (1999) e Tarello (2003).

No momento em que se analisou o esfregaço sanguíneo observou-se a presença de eritrócitos em *rouleaux* e macroplaquetas. A evidência da alteração morfológica eritrocitária, conforme estudos de Almosny et al. (2002) e Thrall (2011) está relacionada

ao aumento da concentração sanguínea das proteínas, como o fibrinogênio e imunoglobulinas, indicando possíveis alterações hepáticas ou processos inflamatórios; para a evidência de macroplaquetas os referidos autores relataram que o achado está relacionado a situações onde existe aceleração no processo de produção de células plaquetárias.

Estão demonstrados na Tabela 2 os valores referentes ao leucograma do cão e a contagem diferencial de leucócitos: neutrófilos (segmentados e bastonetes), eosinófilos, linfócitos e monócitos. Os resultados referentes à contagem de neutrófilos, eosinófilos e monócitos estão dentro da faixa de limites considerados normais para a espécie. No entanto, a contagem global de leucócitos e linfócitos está abaixo dos limites, conforme resultados estabelecidos por Weiss e Wardrop (2010) e Trhall (2011).

A série leucocitária apresentou-se morfológicamente conservada, observando-se diminuição dos valores de leucócitos e linfócitos. Tais alterações corroboram com estudos de Gregory e Forrester (1990) os quais afirmaram que na fase crônica da erliquiose, a linfopenia e leucopenia estão entre as principais características encontradas. A linfopenia geralmente é atribuída à resposta aos esteróides, ocorrendo em resposta às principais doenças sistêmicas, aos distúrbios metabólicos e à dor. A leucopenia pode ocorrer devido a imunossupressão do animal durante a fase crônica da doença (THRALL, 2011).

Tabela 2- Valores do leucograma referentes à contagem global de Leucócitos e contagem diferencial de Neutrófilos Segmentados, Bastonetes, Linfócitos, Monócitos e Eosinófilos, de um cão macho, Poodle, 11 anos, diagnosticado com erliquiose, atendido no Hospital Veterinário, da Universidade Federal de Campina Grande, Campus de Patos-PB, em 30 de janeiro de 2015.

Parâmetros hematológicos	Valores registrados	Valores de referência*
Leucócitos ($10^3/\mu\text{L}$)	4,4	6 - 17 $\times 10^3/\mu\text{L}$
Neutrófilos		
- Segmentados ($10^3/\mu\text{L}$)	3,52	3 – 11,5 $\times 10^3/\mu\text{L}$
- Bastonetes (μL)	88	0 – 300 μL
Eosinófilos (μL)	132	100 – 1250 μL
Linfócitos (μL)	220	1000– 4800 μL
Monócitos (μL)	440	150 – 1350 μL

* Weiss e Wardrop (2010).

Estão demonstrados na Tabela 3, os valores referentes à bioquímica sérica do cão. Observou-se aumento dos níveis de globulinas e diminuição dos níveis de albumina, indicando a ocorrência de resposta inflamatória de fase aguda que está de acordo com a literatura descrita por Keer (2003) e González (2006), os quais afirmaram que os aumentos de proteínas totais poderão ser causados por dois motivos principais: desidratação e inflamação, sendo a inflamação acompanhada de baixa albumina e aumento das globulinas, enquadrada na resposta inflamatória de fase aguda. Confirmação essa evidenciada no caso clínico estudado.

Os valores de creatinina e alanina aminotransferase (ALT) apresentaram registros dentro da faixa de limites considerados normais para a espécie de acordo com resultados estudados por Kerr (2003) e González (2006). Sendo a ALT uma enzima específica para o diagnóstico de insuficiência hepática, e a creatinina, um dos marcadores de insuficiência renal em pequenos animais. Pode-se sugerir que o animal em estudo não apresentou sinais de doença hepática ou insuficiência renal.

Observou-se diminuição nos níveis de ureia que, de acordo com a literatura descrita por González (2006) pode estar associada à baixa ingestão de proteína, congelamento de amostras, e em casos clínicos onde o animal apresenta poliúria.

Tabela 3- Valores de bioquímica sérica referentes as enzimas Alanina aminotransferase (ALT) e Fosfatase alcalina; Proteínas totais, Albumina, Globulina; Ureia e Creatinina de um cão macho, Poodle, 11 anos, diagnosticado com erliquiose, atendido no Hospital Veterinário, da Universidade Federal de Campina Grande, Campus Patos-PB, realizados em 30 de janeiro de 2015.

Variáveis	Valores registrado	Valores de referências*
Alanina aminotransferase (U/L)	27,6	21 - 102 U/L
Fosfatase alcalina (U/L)	19,0	20 - 156 U/L
Proteínas totais g/dL	9,8	5,4 - 7,1 g/dL
Albumina (g/dL)	1,58	2,6 - 3,3 g/dL
Globulina (g/dL)	8,22	2,7 - 4,4 g/dL
Ureia (mg/dL)	18,3	21,4 - 59,92 mg/dL
Creatinina (mg/dL)	0,5	0,5 - 1,5 mg/dL

* González (2006).

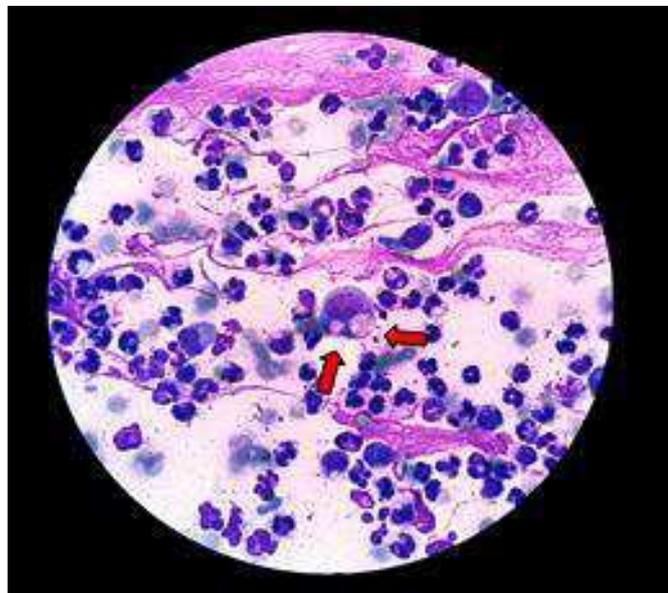
No que se refere ao exame físico-químico de urinálise, as alterações evidenciadas foram a presença de proteína (++) e cilindros granulosos (0-2 por campo) e hialinos (0-1 por campo). Possivelmente, a evidência de proteinúria tenha sido do tipo transitória, decorrente de estresse, além do que, o animal já apresentava idade senil. A presença de cilindros pode ser sugestiva de degeneração de túbulo renal. Os cilindros hialinos são estruturas protéicas resultantes de maior concentração de proteína tubular devido à desidratação, conforme descrito por Thrall (2011).

O líquido articular apresentava coloração amarelo-claro, aspecto límpido e consistência viscosa. A avaliação do líquido articular foi realizada através dos exames de citologia (Figura 4), e Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real Qualitativo (PCR-RT) para a detecção de *Ehrlichia* sp. (ANEXO 1).

No exame citológico evidenciou-se amostra apresentando fundo de lâmina discretamente basofílico e amorfo, moderadamente granular e fibrinar, contendo intensa celularidade (28.000/ μ L) composta por neutrófilos degenerados segmentados (65 %), macrófagos (30 %), linfócitos (3 %) e eosinófilos (2 %). Observou-se mórulas de *Ehrlichia* sp. no interior do citoplasma de macrófagos. Estando de acordo com Fisher (2003) que caracterizou a doença articular inflamatória pelo aumento da quantidade de neutrófilo no líquido sinovial (LS), evidenciando que a contagem absoluta de neutrófilos segmentados apresenta aumento moderado a intenso, podendo ser causada por agentes infecciosos.

A técnica de PCR-RT confirmou a presença de *Ehrlichia* sp. na amostra pesquisada. Corroborando com Bellah, Shull, Selcer (1986), ao avaliar e estudar um caso em cão, da raça Boxer, com *Ehrlichia canis* e evidência de poliartrite, cujo diagnóstico foi baseado no achado de mórula intraneutrófilica em líquido sinovial, bem como trombocitopenia e resultado sorológico positivo. Cowell et al. (1988) em seus estudos também relataram três casos de poliartrite em cães selecionados para avaliação de claudicação, e obtiveram diagnósticos conclusivos por meio da detecção de mórulas de *Ehrlichia* em baixos números, tanto em líquido sinovial como em neutrófilos da corrente sanguínea.

Figura 4 - Amostra citológica articular. Observe-se ao centro um macrófago contendo em seu citoplasma duas mórulas de *Ehrlichia* sp. (setas vermelhas) (Panótico rápido; X400).



Fonte: LPC/HV/UFCG, 2015.

São escassos os trabalhos relativos ao sinal clínico da poliartrite como fator conclusivo no diagnóstico da erliquiose. Porém, examinar o paciente cuidadosamente, interpretar os achados encontrados no animal e, concomitantemente, interpretar os resultados laboratoriais, torna-se elucidativo o diagnóstico por meio desse sinal. O que confirmaram Nelson e Couto (2010) quando descreveram que animais com distúrbios articulares geralmente apresentam um histórico de claudicação e marcha anormal. Portanto, em casos de claudicação aguda em animais residentes em áreas endêmicas para erliquiose, medidas diagnósticas como avaliação do líquido sinovial devem ser estabelecidas (COWELL et al., 1988).

O exame radiográfico das articulações revelou o aumento da densidade e do volume dos tecidos moles adjacentes aos carpos do membro torácico direito, sugerindo edema articular, corroborando com estudos realizados por Filho (2009) que constatou a presença de tais alterações em casos de artrite séptica.

No que se refere à pressão arterial sistólica (PAS), pressão arterial diastólica (PAD) e pressão arterial média (PAM), as médias registradas no cão foram de PAD: 190mmHg, PAS: 150mmHg e PAM: 120mmHg, classificados como moderadamente

elevados na espécie (ETTINGER e FELDMAN, 2010). Estes achados hipertensivos podem estar associados ao mecanismo do sistema nervoso autônomo simpático e descarga adrenérgica desencadeado pelo estresse no momento da aferição, resultando em vasoconstrição e aumento da pressão arterial ou podem ser devido a outras causas clínicas secundárias como cardiopatia e doença renal (ETTINGER e FELDMAN, 2010; NELSON e COUTO, 2010; COLE et al., 2012).

Foi instituído o tratamento com doxiciclina, na dose de 10 mg/kg a cada 12 horas, via oral, durante 28 dias; prednisolona, na dose de 1 mg/kg a cada 24 horas, via oral, durante 5 dias; e solução com gluconato de clorexidina a 0,12 % a cada 12 horas, para uso tópico na mucosa oral, com objetivo de prevenção e auxílio na eliminação de germes que causam placa bacteriana, gengivite e halitose, antes de ser realizado procedimento de limpeza dentária do animal. Estando de acordo com estudos realizados por Woody e Hoskins (1991) e por Sousa et al. (2004), os quais confirmaram a terapia com Doxiciclina como fármaco de eleição no tratamento da erliquiose em todas as fases. Possuindo vantagens como vida média no soro de cães entre 10 a 12 horas, e o fato de ser absorvida rapidamente quando administrada por via oral, não se acumulando em pacientes com comprometimento renal, podendo ser usada nesses animais sem grandes restrições.

A terapia com glicocorticoides durante um período de dois a sete dias pode ser de grande valor no início do tratamento. Podendo ser utilizada em casos de artrite crônica ou quando ocorrer trombocitopenia, justificando-se que a queda plaquetária pode ser causada por um mecanismo imunomediado (TROY e FORRESTER, 1990).

O animal apresentou melhora do quadro clínico após o término do tratamento e não houve recidiva dos sinais clínicos apresentados, confirmando a eficácia dos fármacos utilizados.

5 CONCLUSÃO

No caso clínico estudado, conclui-se que a análise citológica e a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) do líquido sinovial são eficazes na elucidação do diagnóstico de erliquiose em cães.

Em casos de artrite unilateral em cães idosos, deve-se suspeitar de artrite infecciosa, sendo a *Ehrlichia* uma das possibilidades etiológicas.

REFERÊNCIAS

- 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. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo>. Acesso em: 02 de fevereiro de 2016.
- ALMOSNY, N. R. P. **Hemoparasitoses em Pequenos Animais Domésticos e como Zoonoses**. 1 ed. Rio de Janeiro: L.F Livros de Veterinária, 2002. 135p.
- ALVES, L. M.; CHAVES, N. S. T.; LINHARES, G. F. C.; CORREA, W. G.; MARTINS, A. P.; MENDONÇA, A. C. Comparação das técnicas da reação em cadeia da polimerase (PCR) e do esfregaço sanguíneo para o diagnostic de *Ehlichia canis*. In: Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária, 29, **Anais**. Gramado, 2002. 1CD-Rom.
- ANDEREG, P. I.; PASSOS, L. M. F. **Erliquiose canina – revisão**. Clínica Veterinária, v.4, n.18, p. 31-38, 1999.
- ANDRADE, S. F. **Manual de Terapêutica Veterinária**. 3. Ed. São Paulo Editora: Roca, 2008. 936p.
- BARTSCH, R. C.; GREENE, R. T. **Post-Therapy antibody titers in dogs with Ehrlichiosis: Follow-up study on 68 patients treated primarily with tetracycline and/or doxycycline**. Journal of Veterinary Internal Medicine, vol. 10 n.4, p.271-274, 1996.
- BELLA, J. R.; SHULL, R. M; SELCER, E. V. ***Ehrlichia canis*-related polyarthritis in a dog**. Journal of the American Veterinary Medical Associaton. 1986. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3533872>> Acesso em: 22 de fevereiro de 2016.
- BIRCHARD, S J.; SHERDING, R G. Manual Saunders - **Clínica de Pequenos Animais** . 3. ed. São Paulo Editora: Roca, 2008. 2071p.
- BIRGEL, E. H.; BENESI, F. J. **Patologia Clínica Veterinária**. São Paulo: Sociedade Paulista de Medicina Veterinária, p.2-68. São Paulo. 1982.
- BORIN, S.; CRIVELENTI, L. Z.; FERREIRA, F. A. **Aspectos epidemiológicos, clínicos e hematológicos de 251 cães portadores de mórulas de *Ehrlichia spp.* naturalmente infectados**. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia. Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária, v. 61, n. 3, p. 566-571, 2009. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/28655>> Acesso em: 03 de março de 2016.
- BREITSCHWERDT, E. B. **As Riquetsioses**. In: ETTINGER, S.J.; FELDMAN, E.C. (Eds). Tratado de Medicina Interna Veterinária. 4ª ed. 1997. São Paulo: Manole. Seção IV. Moléstias Infeciosas. p. 546-548
- BREITSCHWERDT, E. B. **Riquetisioses**. In: ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. Tratado de medicina interna veterinária. V.1, 5ª ed. São Paulo: Manole, 2004. Cap. 86, p. 422-429.

BREMER, W. G.; SCHAEFER J. J.; WAGNER, E. R.; EWING, S. A.; RIKIHISA, Y.; NEEDHAM, G. R.; JITTAPALAPONG, S.; MOORE, D. L.; STICH, R. W.

Transstadial and intrastadial experimental transmission of *Ehrlichia canis* by male *Rhipicephalus sanguineus*. *Veterinary Parasitology*, v. 131, n. 1-2, p. 95-105, 2005.

BRITO, R. L. L. **Prevalência de anticorpos Anti-*Ehrlichia canis* em cães nos municípios de Ilhéus e Itabuna, Bahia.** XII Seminário de Iniciação Científica da UESC. Salvador – Bahia, 2006.

BULLA, C.; TAKAHIRA, R. K.; ARAUJO, JR. J. P.; CUSTODIO, M.; LOPES, R. S. **Associação de *Ehrlichia platys* com *E. canis* em cães de regiões endêmicas.** In: Mostra Científica da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Unesp/Botucatu, 6°, 2002 a. p.31.

COLE, R. T.; MASOUMI, A.; TRIPOSKIADIS, F.; GIAMOUZIS, G.; GEORGIOPOULOU, V.; KALOGEROPOULOS, A.; BUTLER, J. **Renal dysfunction in heart failure.** *Medical Clinics of North America*, Philadelphia, v. 96, p. 955–974, 2012.

CORREIA, W. M.; CORREA, C. N. M. **Enfermidades Infeciosas dos Mamíferos Domésticos.** 2 ed. Rio de Janeiro: Medsi, 1992, p. 477- 486.

COSTA, J. O.; BATISTA, J. A. Jr.; SILVA, M.; GUIMARAES, M. P. ***Ehrlichia canis* infections in dog in Belo Horizonte –Brazil.** *Arquivo da Escola Superior de Veterinária da Universidade de Minas Gerais*. v. 25, n. 2, p. 185-197, 1973.

COUTO, C. G. Doenças riquetsiais. In: BIRCHARD, S. J.; SHERDING, R. G. **Manual Saunders Clínica de Pequenos Animais.** 2 ed. São Paulo: Roca. p. 138 – 143, 2003.

COWELL, R. L.; TYLER, R. D.; CLINKENBEARD, K. D.; MEINKOTH, J. H. **Ehrlichiosis and polyarthritis in three dogs.** *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 1988. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3372339>> Acesso em 22 de fevereiro de 2016.

DAGNONE, A. S.; DE MORAIS, H. S.; VIODOTTO, M. C.; JOJIMA, F. S.; VIODOTTO, 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.

DOYLE, C. K.; LABRUNA, M. B.; BREITSCHWERDT, E. B.; TANG, Y. W.; CORSTVET, R. E.; HEGARTY, B. C.; BLOCH, K. C.; LI, P.; WALKER, D. H.; MCBRIDE, J. W. **Detection of medically important *Ehrlichia* by Quantitative Multicolor TaqMan Real-time polymerase chain reaction of the dsb Gene.** *Journal of Molecular Diagnostics*, v. 7, n. 4, p. 504-510, 2005. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1888493/>> Acesso em: 28 de maio de 2014.

DUNN, J. K. **Tratado de Medicina de Pequenos Animais.** 1. Ed. São Paulo Editora: Roca, 2001. 1075p.

ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. **Textbook of Veterinary Internal Medicine**. 7. ed. Editora: Saunders Elsevier, 2010. 2208p.

FARIA, J. L. M.; DAGNONE, A. S.; MUNHOZ, T. D.; JOAO, C. F.; PEREIRA, W. A. B.; MACHADO, R. Z.; TINUCCI-COSTA, M. **Ehrlichia canis morulae and DNA detection in whole blood and spleen aspiration samples**. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária Jaboticabal v. 19, n.2, p. 98-102, abr/jun 2010.

FEITOSA, F. L. F. **Semiologia Veterinária: a arte do diagnóstico**. 2 ed., São Paulo: Roca, 2008. 735p.

FUJII, K. Y. **Erliquiose canina- Revisão de Literatura**. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2009.

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. P. 404-414, 1990.

HARRUS, S.; WANER, T.; JONGEJAN, F.; CORNELISSEN, A. W. **Recent advances in determining the pathogenesis of canine monocytic ehrlichiosis**. Journal of Clinical Microbiology., v. 37, n. 9, p. 2745-2749, 1999. Disponível em: <<http://jcm.asm.org/content/37/9/2745.full>> Acesso em: 12 de junho de 2014.

HARRUS, S.; DAY, M. J.; WANER, T.; BARK, H. **Presence of immune-complexes and absence of antinuclear antibodies, in sera of dogs naturally and experimentally infected with Ehrlichia canis**. Veterinary Microbiology, v. 83, n. 4, p. 343-349, 2001. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11600268>> Acesso em: 30 de maio de 2014.

HARRUS, S.; WANER, T. **Diagnosis of canine monocytotropic ehrlichiosis (Ehrlichia canis): an overview**. The Veterinary Journal, London, v.187, p. 292-296, 2011. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20226700>> Acesso em: 06 de junho de 2014.

HUXSOLL, D. L.; AMYX, H. L.; HEMELT, I. E.; HILDEBRANDT, P. K.; NIMS, R. M.; GOCHENOUR JR, W. S. **Laboratory studies of tropical canine pancytopenia**. Exp. Parasitol., San Diego, v. 31, p.53-59, 1972.

ISMAIL, N.; WALKER, D. **Balancing Protective Immunity and Immunopathology: A Unifying Model of Monocytotropic Ehrlichiosis**. Journal of Clinical Microbiology, v.39, 2005. 1881-1889 p. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16481546>> Acesso em: 02 de junho de 2014.

KAKOMA, I.; SAINZ, A.; TESOURO, M.; AMUSATEGUI, I.; KIM, C. H.; BIGGERSTAFF, J.; MCPEARK, J.; LEVY, M. G. **Standardization of the diagnostic criteria for canine ehrlichiosis: towards a universal case definition**. Ann. New York Academy of Sciences, New York, v. 916, p. 396-403, 2000. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11193652>> Acesso em: 5 de junho de 2014.

- KUEHN, N. F.; GAUNT, S. D. **Clinical and hematologic findings in canine ehrlichiosis**. J. Am. Vet Med. Assoc., v. 186, p.355-358, 1985.
- LABRUNA, M. B.; MCBRIDE, J. W.; CAMARGO, L. M.; AGUIAR, D. M.; YABSLEY, M. J.; DAVIDSON, W. R.; STROMDAHL, E. Y.; WILLIAMSON, P. C.; STICH, R. W.; LONG, S. W.; CAMARGO, E. P.; WALKER, D. H. **A preliminary investigation of *Ehrlichia* species in ticks, humans, dogs, and capybaras from Brazil**. Veterinary Parasitology, v. 143, n. 2, p. 189-195, 2007.
- LANZA-PEREA, M.; KUMTHEKAR, S. M.; SABARINATH, A.; KARPATY, S. E.; SHARMA, R. N.; STONE, D. M. **Doxycycline treatment of asymptomatic dogs seropositive for *Ehrlichia canis***. West Indian Veterinary Journal 2009; 9:11-13.
Disponível em: <<http://sta.uwi.edu/fms/vet/documents/doxycycline.pdf>> Acesso em: 13 de junho de 2014.
- LEGATZKI, K.; JORGE, P. S. **Erliquiose canina** – Clínica Veterinária, São Paulo, ano 5, n 26, mar/abr 2002.
- MACHADO, R. Z. **Erliquiose canina**. In. XIII Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária & I Simpósio Latino-Americano de Rickettsioses. Ouro Preto, Brasil. p.53-57, 2004.
- MONTEIRO, A. L. R.; MACEDO, M. F.; NÉRI, J. B.; SOTO-BLANCO, B.; ALVES, N. D. Estudo comparativo entre três protocolos de tratamento utilizando doxiciclina, oxitetraciclina, azitromicina na erliquiose canina. In: Congresso Brasileiro de Clínicos Veterinários de pequenos animais, 24, 2003. Belo Horizonte. **Anais...Belo Horizonte: ANCLIVEPA-MG, 2003.**
- NEER, T. M.; HARRUS, S. Canine Monocytotropic Ehrlichiosis and Neorickettsiosis (*E. canis*, *E. chaffeensis*, *E. ruminantium*, *N. sennetsu*, and *N. risticii*) infections. In: Greene C. **Infectious Diseases of the Dog and Cat**. Philadelphia: Saunders Company, 2006. p. 203-216.
- NELSON, R. W.; COUTO, C. G. **Medicina Interna de Pequenos Animais**. 3 ed., Rio de Janeiro: Elsevier, 2010. 1323p.
- OLIVEIRA, D.; NISHIMORI, C. T.; COSTA, M. T.; MACHADO, R. Z.; CASTRO, M. B. **Deteção de anticorpos anti-*Ehrlichia canis* em cães naturalmente infectados através do ‘DOT-ELISA’**. Revista Brasileira de Parasitologia veterinária, v.09, n.1, p.1-6, 2000.
- ORIÁ, A. P. **Uveítes em cães infectados com *Ehrlichia canis***. Ciência Rural, v. 34, p.1289-1295, 2004.
- RIKIHISA, Y.; EWING, S. A.; FOX, J. C.; SIREGAR, A. G.; PASSARIBU, F. H.; MALOLE, M. B. **Analyses of *Ehrlichia canis* and a canine granulocytic *Ehrlichia* infection**. Journal of Clinical Microbiology, v.30, (1), p. 143-148, 1991. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC265010/>> Acesso: em 02 de junho de 2014.

SAITO, M.E. **Isolamento e identificação de *Ehrlichia canis* em cultura de monócitos de sangue periférico canino.** 68 p, 2003. Dissertação (Mestrado em Clínica Veterinária). FMVZ-USP, S. Paulo, 2003.

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, UDESC, Florianópolis, 2004.

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

TAKAHIRA, R. K.; LOPES, R. S.; COSTA, C. L.; GONDIM, L. F. P.; SARTOR, L. F.; LOURENÇO, M. L. G. **Detecção de anticorpos contra *Ehrlichia platys* e *Ehrlichia canis* em cães** – Revista Nosso Clínico, ano 6, n. 32, p. 34-38, 2003.

TARELLO, W. **Canine granulocytic ehrlichiosis.** Acta Veterinaria Hungarica, v. 51, n. 1, p. 73-90, 2003.

TILLEY, P., GOODWIN, J.K. **Manual de cardiologia para cães e gatos.** 3 ed. São Paulo: Roca, p. 323-347, 2002.

TROY, G. C.; FORRESTER, S. D. **Canine Ehrlichiosis. Infection Disease of Dog and Cat.** Philadelphia: W. B. Saunders, 1990. Cap 37, p.404-14.

UENO, T. E. H.; AGUIAR, D. M.; PACHECO, R. C.; RICHTZENHAIN, L. J.; RIBEIRO, M. G.; PAES, A. C.; MEGID, J.; LABRUNA, M. B. ***Ehrlichia canis* em cães atendidos em hospital veterinário de Botucatu, Estado de São Paulo, Brasil.** Rev. Bras. Parasitol. Vet., Jaboticabal, v. 18, n. 3, p. 57-61, 2009.

VIEIRA, R. F.; BIONDO, A. W.; GUIMARAES, A. M.; DOS SANTOS, A. P.; DUTRA, L. H.; DINIZ, P. P.; DE MORAIS, H. A.; MESSICK, J. B.; LABRUNA, M. B.; VIDOTTO, O. **Ehrlichiosis in Brazil** – Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, Jaboticabal, v. 20, n.1, p. 1-12 jan/mar 2011.

WANER, T.; HARRUS, S. **Canine monocytic ehrlichiosis.** In: Recent advances in canine infectious diseases. Ithaca: L. E. Carmichael, 2000.

WEISER, M. G.; THRALL, M.; FULTON, R. R. **Granular lymphocytosis and hyperproteinemia in dogs with chronic ehrlichiosis.** Journal of the American Animal Hospital Association, v. 27, n. 1, 1991. 84-88 p. Disponível em: <<http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US9159361>> Acesso em: 05 de junho de 2014.

WOODY, B. J.; HOSKINS, J. D. **Ehrlichial diseases of dogs.** Vet Clin. N. Am: Small Anim. Pract., v.21, p.75-98, 1991.