

ERLIQUIOSE CANINA EM CAMPOS DOS GOYTACAZES, RIO DE JANEIRO, BRASIL

ANTONIO PEIXOTO ALBERNAZ,¹ FARLEN JOSÉ BEBBER MIRANDA,² ORLANDO AUGUSTO MELO JR.,³ JOSIAS ALVES MACHADO³ E HUGO VIEIRA FAJARDO⁴

1. Professor associado – Clínica Médica dos Pequenos Animais – Laboratório de Sanidade Animal / Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias / Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Av. Alberto Lamego, 2000, CEP 28013-600, Campos dos Goytacazes, RJ.

E-mail: albernaz@uol.com.br

2. Mestrando UENF. Bolsista CAPES.

3. Técnicos de Laboratório

4. Estagiário

RESUMO

Com o propósito de pesquisar a positividade e analisar os aspectos hematológicos de cães infectados com *Ehrlichia* spp. na cidade de Campos dos Goytacazes, avaliaram-se 1.576 cães. Realizaram-se pesquisa de hemocitozóários e hemograma para se determinar a ocorrência e os aspectos hematológicos dos cães infectados por *Ehr-*

lichia spp. Baseou-se o diagnóstico no achado de mórulas de *Ehrlichia* spp. nos leucócitos, em sua maioria nos monócitos, sendo considerados infectados 219 (13.89%) cães. Anemia, trombocitopenia, DNNE leve, eosinopenia e monocitopenia absolutas foram as alterações hematológicas mais observadas.

PALAVRAS-CHAVES: Esfregaço sangüíneo, hematologia, *Ehrlichia* spp.

ABSTRACT

CANINE EHRLICHIOSIS IN CAMPOS DOS GOYTACAZES, RIO DE JANEIRO, BRAZIL

It was evaluated 1.576 dogs with the intention to search positivity and to analyze hematological aspects of dogs infected with *Ehrlichia* spp. in Campos dos Goytacazes. The research of blood-parasites and complete blood counts had been carried out, to determine the occurrence and hematological aspects of dogs infected for *Ehrlichia* spp.

KEY-WORDS: Blood smears, *Ehrlichia* spp., hematology.

The diagnosis was based by visualization of the *Ehrlichia* spp. morulae in the leukocytes, its great majority was in monocyte, being considered infected 219 (13,89%) dogs. Anemia, thrombocytopenia, nuclear left deviation neutrophils, eosinopenia and absolute monocytopenia was been the most hematological alterations found.

INTRODUÇÃO

As erliquioses são causadas por bactérias pleomórficas Gram negativas intracelulares obrigatórias que parasitam leucócitos de muitas espécies de animais, inclusive o homem (McDADE, 1990; GALVÃO et al., 2002; SILVA & GAL-

VÃO, 2004). Em caninos, a *Ehrlichia canis* e o *Anaplasma platys* são os organismos riquetsiais mais importantes. A *E. canis* comumente parasita leucócitos e plaquetas, e o *A. platys* parasita plaquetas, o que poderia eventualmente dificultar o diagnóstico, principalmente por existir a possibilidade de infecções concomitantes, tendo

inclusive o mesmo vetor (SMITH et al., 1975; LABRUNA & PEREIRA, 2001). O carrapato ixodídeo *Rhipicephalus sanguineus* ou carrapato-vermelho do cão é o principal responsável pela transmissão da erliquiose canina através de sua secreção salivar (SMITH et al., 1975). Esse artrópode habita ambientes urbanos e tem hábitos nidícolas, vivendo em tocas, ninhos, e até mesmo em esconderijos nos canis. Preferem se fixar nas regiões do pescoço, orelhas, espaços interdigitais e dorso (LABRUNA & PEREIRA, 2001).

A patogenicidade das erliquioses se dá em grande parte pela intensa vasculite que pode ser causada. Assim, nefrite intersticial, meningo-encefalite não supurativa, esplenomegalia, hiperplasia de cordões medulares e inflamação perivascular no fígado com presença de degeneração hidrópica podem ser algumas consequências da erliquiose aguda (CASTRO et al., 2004).

A erliquiose é uma infecção que se caracteriza por diferentes alterações clínicas, distribuindo-se nas fases aguda, subclínica e crônica. Os sinais clínicos geralmente são oriundos de hiperplasia linforreticular disseminada e das alterações hematológicas, muitas vezes com hipoplasia medular na fase crônica (MOREIRA et al., 2003; MORAES et al., 2004).

As anormalidades hematológicas mais frequentemente observadas em infecções naturais são anemia não regenerativa, trombocitopenia e leucopenia (ALMOSNY et al., 2000). O número de leucócitos comumente varia durante a fase aguda, podendo diminuir em decorrência da indução ao seqüestro destes por mecanismos imunológicos (MOREIRA et al., 2003) e, nesse caso, a linfocitopenia e eosinopenia são consequências diretas (WADDLE & LITTMAN, 1987). O número de monócitos pode variar consideravelmente, sendo um achado freqüente e indicativo da possibilidade de erliquiose, mesmo antes da observação de mórulas (PAGANI et al., 2000).

Assim como nas infecções naturais (ALMOSNY et al., 2000), nas infecções experimentais por *E. canis* os achados hematológicos mais comuns são anemia arregenerativa, leucopenia e trombocitopenia, sendo a anemia normocítica normocrômica observada na segunda semana

pós-inoculação e agravada na terceira semana (CASTRO et al., 2004), e a trombocitopenia encontrada em todas as fases da doença (OLIVEIRA et al., 2000). Pode haver leucopenia entre três a quatro semanas pós-inoculação, com queda no número de neutrófilos segmentados, eosinófilos e linfócitos, com discreto aumento de monócitos (CASTRO et al., 2004).

As alterações clínicas são importantes para se chegar a um diagnóstico e certamente são ferramentas para o clínico, pois, mesmo sendo inespecíficas (MOREIRA et al., 2003; MORAES et al., 2004; ORIÁ et al., 2004), são sugestivas para erliquiose. Apesar de ser confirmatório, o exame de hemocitozoários apresenta limitações importantes pela baixa sensibilidade, já que nas fases subaguda e crônica a visualização de corpúsculos e mórulas pode ficar dificultada, em virtude de baixa parasitemia (MOREIRA et al., 2005). Nesse caso, os testes sorológicos como a Imunofluorescência Indireta – RIFI – (ORIÁ et al., 2004) e o DOT-ELISA são importantes (BÉLANGER et al., 2002; MACHADO, 2004), além do diagnóstico molecular utilizando-se o *nested*-PCR, capaz de fazer diagnóstico diferencial entre espécies de *Ehrlichia* spp. (DAGNONE et al., 2003).

MATERIAL E MÉTODOS

Utilizaram-se amostras de sangue total e periférico de 1.576 cães, independente de raça, sexo e idade, todos domiciliados, oriundos da cidade de Campos dos Goytacazes, RJ, e atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro.

Os procedimentos relacionados à coleta e ao processamento do sangue e a pesquisa de hemocitozoários seguiram aqueles realizados por MENDONÇA et al. (2005), mas com os diferenciais de terem sido utilizados o contador de células eletrônico MS4® e o Panótico (New Prov®) como corante. Todo o material foi processado no Setor de Patologia Clínica LSA/CCTA/UENF. Os dados obtidos no hemograma dos animais positivos foram tabulados e analisados pelo programa GENES (CRUZ, 2001), disponibilizando-

se as médias e seus respectivos desvios-padrão, valores mínimos e máximos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em 1.576 lâminas avaliadas em pesquisa de hemocitozoários, evidenciaram-se corpúsculos iniciais, elementares ou mórulas em 219 (13,89%),

sendo consideradas positivas para *Ehrlichia* spp. As principais alterações hematológicas encontradas nos cães infectados foram trombocitopenia, anemia normocítica normocrômica e o desvio nuclear de neutrófilos à esquerda (DNNE) leve, além de linfocitopenia e eosinopenia absolutas, conforme Tabela 1.

TABELA 1. Achados hematológicos observados nos 219 cães positivos para erliquiose na cidade de Campos dos Goytacazes, RJ.

Itens avaliados	Média	Desvio-padrão	Mínimo	Máximo	Valor de referência*
Hemácias x10 ⁶ / µL	4,63	1,31	0,63	7,39	5,5-8,5
Volume Globular (%)	33,4	10,0	5,5	56,6	37-55
VCM (fL)	71,9	6,4	2,4	18,1	60-77
Hgb (g/dL)	11,2	4,8	33	88,7	12-18
CHCM (%)	32,6	2,3	27,0	36,0	32-36
Leucócitos x10 ³ / µL	10,7 ± 7,8	7,8	2.200	57.300	6.000-17.000
Basófilo / µL	0	0	0	0	Raros
Eosinófilo / µL	307	0,369	0	2.184	100-1.250
Bastonetes / µL	290	0,760	0	9.741	0-300
Neutrófilos / µL	7.680	6,194	621	41.256	3.000-11.500
Linfócito / µL	1.739	1,516	128	10.868	1.000-4.800
Monócito / µL	622	0,715	28	5.330	150-1.350
Plaquetas x 10 ³ / µL	140,1	201,8	5.000	179.8000	200.000-500.000

*MEINKOTH & CLINKENBEARD (2000).

Observou-se anemia em 133 (60,73%) dos 219 cães infectados, confirmando achados de MOREIRA et al. (2003), cujo índice foi 70,3% nos cães pesquisados. Houve predominância de anemia normocítica normocrômica em 90 casos (41,1%), uma alteração eritrocitária comum na erliquiose canina (ALMOSNY et al., 2000; MACHADO, 2004). Verificou-se ainda presença de anemia normocítica hipocrômica em 25 casos (11,4%), anemia macrocítica normocrômica em cinco (2,3%) e anemia macrocítica hipocrômica em 13 animais (5,9%). A contagem média eritrocitária ficou abaixo dos valores de normalidade (MEINKOTH & CLINKENBEARD, 2000) enquanto os valores de volume corpuscular médio (VCM) e da concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) se mantiveram nos

padrões de normalidade, solidificando a anemia normocítica normocrômica como um importante achado deste trabalho.

Os quadros anêmicos observados na erliquiose canina tendem a ser arregenerativos, com diminuição da resposta medular diante dos estímulos eritropoiéticos (ALMOSNY et al., 2000; PAGANI et al., 2000). Isso ficou demonstrado neste estudo, ao se observar anemia arregenerativa em 118 cães (53,8%), provavelmente em decorrência de comprometimento orgânico importante, com diminuição acentuada da resposta medular, mesmo diante dos estímulos eritropoiéticos (OLIVEIRA et al., 2000).

Observaram-se, nos casos positivos, 0,91% de leucocitose, 10,05% de leucopenia e 89,04% dos casos sem alteração na leucometria global.

OLIVEIRA et al. (2000) e MOREIRA et al. (2003) relataram a leucopenia como achado importante, com, respectivamente, 32,69% e 30% em suas pesquisas, citando-a como uma alteração hematológica característica de fase aguda, apesar de não ter sido descrita por WADDLE & LITTMAN (1987). No entanto, os valores leucométricos médios situaram-se dentro do valor de normalidade (MEINKOTH & CLINKENBEARD, 2000), com considerável amplitude de variação, a exemplo do observado por MENDONÇA et al. (2005). Alterações leucocitárias podem não ser bem evidenciadas até a quarta semana de infecção, quando a leucopenia começa a ser uma alteração hematológica importante (CASTRO et al., 2004), em virtude de supressão medular (OLIVEIRA et al., 2000).

Observou-se eosinofilia em 3,65% dos cães infectados e eosinopenia em 24,20%, proporção inferior aos 63% de cães observados por WADDLE & LITTMAN (1987) e 55,77% por OLIVEIRA et al. (2000), mas corroborando com CASTRO et al. (2004), que relataram a eosinopenia como característica hematológica importante da erliquiose canina, particularmente da fase aguda.

Em relação aos neutrófilos, registraram-se neutrofilia em 5,02% e neutropenia em 5,48% dos cães positivos. Um animal apresentou leucocitose neutrofílica com DNNE moderado. DNNE leve sem leucocitose ocorreu em 15,98% dos casos. Alteração na contagem neutrofílica pode ser influenciada pela fase da doença, sendo normalmente observada neutropenia na fase aguda (CASTRO et al., 2004). O DNNE pode estar relacionado a infecções secundárias determinantes no hemograma, além de migração, seqüestro e destruição de neutrófilos em órgãos em que ocorrem multiplicação do microorganismo, vasculites e inflamação (MOREIRA et al., 2003).

Dos cães, 3,19% apresentaram linfocitose e 17,35% linfocitopenia. Esta última tem sido descrita como uma alteração hematológica importante da erliquiose canina, particularmente em relação à fase aguda (WADDLE & LITTMAN, 1987; OLIVEIRA et al., 2000; CASTRO et al., 2004). A linfocitopenia, observada nos casos de

erliquiose canina, pode ser uma decorrência de linfocitólise e/ou seqüestro de grande quantidade dessas células nos tecidos, particularmente nos linfóides (MENDONÇA et al., 2005).

Evidenciou-se monocitose em 10,05% dos cães e amonocitopenia em 28%. OLIVEIRA et al. (2000) relataram monocitopenia em 80,77% dos cães infectados, enquanto WADDLE & LITTMAN (1987) relataram 51% em suas pesquisas, apesar de CASTRO et al. (2004) não considerarem a monocitose como um achado expressivo. A contagem de monócitos pode variar no transcorrer da doença e estar consideravelmente aumentada na fase crônica da doença (STILES, 2000).

Em relação ao número de plaquetas observou-se prevalência de trombocitopenia em 76,71%, trombocitose em 1,82% e 21,46% dos casos positivos sem alterações na plaquetometria. A plaquetopenia observada foi superior aos 23% encontrados por ALMOSNY et al. (2000) e por OLIVEIRA et al. (2000), sendo o presente trabalho diferenciado dos citados, por ter sido executado através de diagnóstico celular e de utilizar animais naturalmente infetados, respectivamente. No entanto, raça, fase da doença e diferentes cepas do microorganismo podem ser fatores a se considerar quando comparados resultados de plaquetometria em estudos diferentes (MACHADO, 2004). A trombocitopenia é o principal achado hematológico observado em todas as fases da erliquiose canina (ALMOSNY et al., 2000; PAGANI et al., 2000; MOREIRA et al., 2003), sendo relacionada principalmente à destruição de plaquetas por mecanismos auto-ímmunes (WEISER et al., 1991), com diminuição da sobrevivência e da capacidade de agregação (MENDONÇA et al., 2005). É possível ainda a trombocitopenia como produto da ação de linfócitos T citotóxicos destruindo plaquetas (KAKOMA et al., 1980), além da inibição da liberação de fator plaquetário 3 (FP-3) pelas plaquetas (PIERCE et al., 1977).

Pancitopenia se fez presente em 22 casos, ou seja, em 10,1% dos 219 animais infectados, o que pode ser explicado pela importante supressão medular, em casos de erliquiose canina (SAINZ et al., 1999; OLIVEIRA et al., 2000), a qual é raramente encontrada na fase aguda da doença

(STILES, 2000). A pancitopenia, segundo HARRUS et al. (1997), é característica da fase crônica da doença e pode ser conseqüente da supressão de medula óssea, com falha na produção de células sangüíneas, bem como da diminuição de sua capacidade de resposta perante os estímulos eritropoiéticos.

Verificaram-se ainda as seguintes alterações: anisopoiquilocitose em cinco casos (2,28%), anisocitose em 14 casos (6,39%), presença de corpúsculos de Howell-Jolly em dois casos (0,91%), policromasia em quatro casos (1,82%) e presença de metarrubricitos em nove casos (4,11%). Tais achados possivelmente são relacionados a processos regenerativos, com liberação de hemácias jovens na circulação (MENDONÇA et al., 2005). Houve presença de linfócitos atípicos em quatro casos (1,82%), que geralmente são observados em processos imunes importantes e associados a grande formação de linfócitos B, com finalidade de produção de anticorpos específicos (KAKOMA et al., 1980). Registraram-se macroplaquetas em dois casos (0,91%), o que pode estar relacionado à liberação medular de plaquetas jovens após uma importante perda (HILDERBRANDT et al., 1973).

CONCLUSÕES

Este estudo confirmou a ocorrência da erliquiose canina na cidade de Campos dos Goytacazes, e permitiu observar alterações hematológicas importantes e clássicas como trombocitopenia e anemia, sendo particularmente observada a anemia normocítica normocrômica.

REFERÊNCIAS

- ALMOSNY, N.R.P.; MASSARD, C.L.; SILVA, G.V.O.; RODRIGUES, L.M.; XAVIER, M.S. Avaliação hematológica de cães infectados experimentalmente por *Ehrlichia canis*. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, Rio de Janeiro, v. 7, n. suplemento, p. 111-111, 2000.
- BÉLANGER, M.; SORENSON, H.L.; FRANCE, M.K.; BOWIE, M.V.; BARBET, A.F.; BREITSCHWERDT, E.B.; ALLEMAN, A.R. Comparison of serological detection methods for diagnosis of *Ehrlichia canis* infection in dogs. **Journal of Clinical Hematology**, v. 40, n. 9, p. 3560-3508, 2002.
- CASTRO, M.B.; MACHADO, R.Z.; AQUINO, L.P.C.T.; ALESSI, A.C.; COSTA, M.T. Experimental acute canine monocytic ehrlichiosis: clinicopathological and immunopathological findings. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 119, p. 73-86, 2004.
- CRUZ, C.D. **Programa GENES**. Viçosa: Editora UFV – Imprensa Universitária, 2001. 648 p.
- DAGNONE, A.S.; MORAIS, H.S.A.; VIDOTTO, M.C.; JOJIMA, F.S.; VIDOTTO, O. Ehrlichiosis in anemic, thrombocytopenic, or tick-infested dogs from a hospital population in south Brazil. **Veterinary Parasitology**, Estados Unidos, v. 117, p. 285-290, 2003.
- GALVÃO, M.A.M.; LAMOUNIER, J.A.; BONOMO, E.; TROPIA, M.S.; REZENDE, E.G.; CALIC, S.B.; CHAMONE, C.B.; MACHADO, M.C.; OTONI, M.E.A.; LEITE, R.C.; CARAM, C.; MAFRA, C.L.; WALKER, D.H. Rickettsioses emergentes e reemergentes numa região endêmica do Estado de Minas Gerais, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 18, n. 6, p. 1593-1597, 2002.
- HARRUS, S.; BARK, H.; WANER, T. Canine monocytic ehrlichiosis: an update. **Parasitology**, n. 19, p. 431-441, 1997.
- HILDERBRANDT, P.K.; HUXSOLL, D.L.; WALKER, J.S.; NIMS, R.M.; TAYLOR, R.; ANDREWS, M. Pathology of canine ehrlichiosis (Tropical Canine Pancytopenia). **American Journal of Veterinary Research**, v. 34, n. 10, p. 1309-1320, 1973.
- KAKOMA, I.; CARSON, C.A.; RISTIC, M. Direct and indirect lymphocyte participation in the immunity and immunopathology of tropical

canine pancytopenia: a review. **Comparative Immunology Microbiology Infections Diseases**, v. 3, n. 1, p. 291-298, 1980.

LABRUNA, M.B.; PEREIRA, M.C. Carrapatos em cães no Brasil. **Clínica Veterinária**, n. 30, p. 24-32, 2001.

MACHADO, R.Z. Erliquiose canina. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Belo Horizonte, v. 13, n. suplemento, p. 53-57, 2004.

McDADE, J.E. Ehrlichiosis: a disease of animals and humans. **The Journal of Infectious Diseases**, v.161, p. 609-617, 1990.

MEINKOTH, J.H.; CLINKENBEARD, K.D. Normal Hematology of the dog. In: FELDMAN, B.F.; ZINKEL, J.G.; JAIN, N.C. **Schalm's veterinary hematology**. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000. p. 1055-1063.

MENDONÇA, C.S.; MUNDIM, A.V.; COSTA, A.S.; MORO, T.V. Erliquiose canina: alterações hematológicas em cães domésticos naturalmente infectados. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 21, n. 1, p. 167-174, 2005.

MORAES, H.A.; HOSKINS, J.; ALMOSNY, N. R. P.; LABARTHE, N. V. Diretrizes gerais para diagnóstico e manejo de cães infectados por *Ehrlichia* spp. **Clínica Veterinária**, São Paulo, v. 9, n. 48, p. 28-30, 2004.

MOREIRA, S.M.; BASTOS, C.V.; ARAÚJO, R.B.; SANTOS, M.; PASSOS, L. M. F. Retrospective study (1998-2001) on canine ehrlichiosis in Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 55, n. 2, p. 141-147, 2003.

MOREIRA, S.M.; MACHADO, R.; PASSOS, L.F. Detection of *Ehrlichia canis* in bone marrow aspirates of experimentally infected dogs. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 4, p. 958-960, 2005.

OLIVEIRA, D.; NISHIMORI, C.T.; COSTA, M.T.; MACHADO, R.Z.; CASTRO, M.B. Anti-*Ehrlichia canis* antibodies detection by "DOT ELISA" in naturally infected dogs. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 9, n.1, p.1-6, 2000.

ORÍÁ, A.P.; PEREIRA, P.M.; LAUS, J.L. Uveitis in dogs infected with *Ehrlichia canis*. **Ciência Rural**, v. 34, n. 4, p. 1289-1295, 2004.

PAGANI, F.; RODRIGUES, L.M.; PINTO, A.R.S.; GOMES, F.A.; MENDONÇA, R. B.; ALMOSNY, N.R.P. Alterações hematológicas observadas em casos de *Ehrlichiose* canina: estudo retrospectivo. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, Rio de Janeiro, v. 7, n. suplemento, p. 108-108, 2000.

PIERCE, K.R.; MARRS, G.E.; HIGHTOWER, D. Acute canine ehrlichiosis: platelet survival and factor 3 assay. **American Journal Veterinary Research**, Schaumburg, v. 38, n. 11, p. 1821-1825, 1977.

SAINZ, A.; AMUSATEGUI, I.; TESOURO, M.A. *Ehrlichia platys* infection and disease in dogs in Spain. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 11, n. 4, p. 382-384, 1999.

SILVA, L.J.; GALVÃO, M.A.A. Epidemiologia das riquetsioses do gênero *Rickettsia* no Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Belo Horizonte, v. 13, n. suplemento, 197-198, 2004.

SMITH, R.D.; SELLS, D.M.; STEPHENSON, E.H.; RISTIC, M.; HUXSOLL, D.L. Development of *Ehrlichia canis*, causative agent of canine ehrlichiosis, in the tick *Rhipicephalus sanguineus* and its differentiation from a symbiotic rickettsia. **American Journal of Veterinary Research**, v. 37, n. 2, p. 71-72, 1975.

STILES, J. Canine rickettsial infections. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, Saint Louis, v. 30, n. 5, p. 1135-1150, 2000.

WADDLE, J.R.; LITTMAN, M.P. A retrospective study of 27 cases of naturally occurring canine ehrlichiosis. **Journal of American Animal Hospital Association**, v. 24, n. 6, p. 615-620, 1987.

J.L. Granular lymphocytosis and hyperproteinemia in dogs with chronic ehrlichiosis. **Journal of American Animal Hospital Association**, v. 27, n. 1, p. 84-88, 1991.

WEISER, M.G.; THRALL, M.A.; FULTON, R.; BECK, E.R.; WISE, L.A.; VAN STEENHOUSE,

Protocolado em: 6 set. 2006. Aprovado em: 31 jan. 2007.

