

**UNIVERSIDADE DE SANTO AMARO**  
**Curso de Medicina Veterinária**

**Lucas de Oliveira Feijó**

**Estudo retrospectivo de cães infectados por *Ehrlichia canis***

**São Paulo**

**2017**

**Lucas de Oliveira Feijó**

**Estudo retrospectivo de cães infectados por *Ehrlichia canis***

Trabalho de Conclusão apresentado ao curso de Medicina Veterinária na Universidade de Santo Amaro – UNISA, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Medicina Veterinária.

Orientadora: Prof. Dr<sup>a</sup> Simone Gonçalves Rodrigues Gomes

**São Paulo**

**2017**

## **Agradecimentos**

Agradeço primeiramente minha mãe, Maria Helena por sempre me apoiar em minhas decisões e escolhas. Por ser um exemplo de esforço, dedicação e caráter.

Minhas irmãs Helaine e Bruna por sempre acreditarem em mim.

Familiares e amigos pelo apoio e companheirismo durante essa difícil jornada.

Ao meu pai Antônio Carlos e minha Vó Vera que foram os grandes responsáveis por me mostrarem o verdadeiro amor pelos animais ainda quando criança, criando em mim a vontade de me tornar médico veterinário.

A minha namorada e amiga Aline, por sempre acreditar no meu potencial, principalmente no início da graduação e sempre me apoia em momentos difíceis.

Aos médicos veterinários em que me proporcionaram muitos aprendizados fora do ambiente acadêmico. Sempre sendo solícitos e companheiros.

Aos professores pela paciência e aprendizado.

Aos animais por serem os principais responsáveis para a existência desse sonho.

**Lucas de Oliveira Feijó**

**Estudo retrospectivo de cães infectados por *Ehrlichia canis***

Trabalho de Conclusão apresentado ao Curso de Medicina Veterinária da Universidade de Santo Amaro – UNISA, como requisito parcial para obtenção do título Bacharel em Medicina Veterinária.

Orientador: Prof. Dr<sup>a</sup>. Simone Gonçalves Rodrigues Gomes

São Paulo, de 2017.

Banca Examinadora

.....

Prof. Dr.....

.....

Prof. Dr.....

## RESUMO

A *Ehrlichia canis* é uma hemoparasitose comum na rotina de clínica de pequenos animais na cidade de São Paulo. Trata-se de uma enfermidade multifatorial, que pode ocasionar manifestações clínicas agudas ou crônicas em decorrência de anemia, trombocitopenia, leucopenia, alterações oculares como uveíte e até mesmo permanecer assintomático por anos. Realizou-se um estudo retrospectivo de 142 cães atendidos com erliquiose canina positivos na sorologia e/ou PCR documentando a epidemiologia e as principais alterações clínicas e laboratoriais. Os cães sem raça definida foram os mais acometidos com idade média de 7 anos com proporção ligeiramente maior de fêmeas. As principais manifestações clínicas observadas foram: disorexia (43%), mucosas palidas (30%) e apatia (25%). As principais alterações laboratoriais observadas no eritrograma foram trombocitopenia (53%) e anemia (52%). A leucocitose correspondeu a 24,6 % dos casos, a leucopenia foi descrita em 16,9% e a pancitopenia em 7,7%. A hiperproteinemia foi observada em 39% dos cães acometidos.

**Palavras-chave:** erliquiose, *Ehrlichia canis*, cão

## ABSTRACT

*Ehrlichia canis* is a common hemoparasitosis in the clinical routine of small animals in the city of São Paulo. It is a multifactorial disease that can cause acute or chronic clinical manifestations due to anemia, thrombocytopenia, leukopenia, ocular alterations such as uveitis and even to remain asymptomatic for years. A retrospective study of 142 patients seen with canine ehrlichiosis positive in sorology and / or PCR documenting an epidemiology and as clinical and laboratory mainstreaming was carried out. Non-breed dogs defined the most affected with a mean age of 7 years with a slightly higher proportion of females. The main clinical manifestations were: dysorexia (43%), pale mucous membranes (30%) and apathy (25%). As mainstream laboratory in erythrogram observed were thrombocytopenia (53%) and anemia (52%). Leukocytosis corresponded to 24.6% of the cases, a leukopenia was described in 16.9% and pancytopenia in 7.7%. Hyperproteinemia was observed in 39% of the affected dogs.

**Keywords:** Ehrlichiosis, *Ehrlichia canis*, dog

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO .....	8
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	8
2.1 Etiologia .....	8
2.2 Epidemiologia .....	9
2.3 Fisiopatogênia .....	10
2.4 Manifestações clínicas .....	11
2.5 Alterações laboratoriais .....	13
2.5.1 Alterações hematológicas .....	13
2.5.2 Alterações bioquímicas .....	14
2.6 Métodos diagnósticos.....	15
2.6.1 Sorologia .....	15
2.6.2 PCR .....	16
2.6.3 Citologia .....	16
2.6.3 Isolamento .....	16
2.7 Tratamento .....	16
2.8 Prognóstico .....	18
3. OBJETIVO .....	18
4. MATERIAIS E MÉTODOS .....	18
5. RESULTADOS .....	18
5.1 Epidemiologia .....	18
5.2 Manifestações clínicas .....	19
5.3 Alterações laboratoriais .....	21
5.3.1 Hematologia .....	21
5.3.2 Bioquímicos .....	23
5.4 Métodos diagnósticos .....	23
6. DISCUSSÃO .....	23
7. CONCLUSÃO .....	25
8. REFERÊNCIAS BLIOGRÁFICAS .....	26

## 1 INTRODUÇÃO

. A EMC foi descrita pela primeira por Donatien e Letosquard em 1935, em cães da Argélia<sup>(7)</sup>. Porém, a doença só foi considerada uma infecção canina após centenas de cães militares morrerem devido à doença durante a guerra do Vietnã em 1963<sup>(5,8)</sup>. No Brasil seu primeiro relato ocorreu em 1973, na cidade de Belo Horizonte, Minas Gerais<sup>(2)</sup>. Tem distribuição endêmica no Brasil, devido ao clima tropical e a disseminação do vetor<sup>(3)</sup>.

A ocorrência da enfermidade é descrita de 23,3% a 40% dos atendimentos em hospitais veterinários<sup>(4,25)</sup>.

A *E. canis* possui distribuição mundial através do carrapato marrom (*Rhipicephalus sanguineus*) e já foi relatada em cães da Ásia, África, Europa e nas Américas<sup>(12)</sup>. Já no continente Australiano não há relatos do isolamento do agente, apesar de que já foi ocasionalmente identificado cães sororreativos<sup>(12)</sup>.

No Brasil, a *Ehrlichia canis* é uma das principais doenças infecciosas dentro da rotina de clínica médica de pequenos animais e considerada endêmica em muitas regiões do país<sup>(4,7)</sup>. Suas alterações clínicas e laboratoriais são inespecíficas<sup>(6)</sup>, que pode tornar seu diagnóstico desafiador.

Objetivou-se com este estudo documentar a epidemiologia e as principais alterações clínicas e laboratoriais dos cães atendidos com erliquiose canina do Hovet UNISA e laboratório Hemovet.

## 2. Revisão bibliográfica

### 2.1 Etiologia

A *Ehrlichia canis* é uma bactéria gram negativa que pertence à família *Anaplasmataceae*, é intracelular obrigatório de células mononucleares formando mórulas em seu interior. É o agente etiológico causador da erliquiose monocítica canina (EMC)<sup>(12,21,23)</sup>. Existem diferentes cepas que pode variar com sua virulência<sup>(12)</sup>, o que pode causar uma variação na evolução da doença.

A atividade metabólica do gênero *Ehrlichia* spp. tem característica aeróbica e assacarolítica para a produção de ATP, que tem uma preferência maior na utilização de glutamato com o objetivo energético e glutamina para penetrar no fagossomo<sup>(21)</sup>.

A EMC é transmitida principalmente pelo carrapato da espécie *Rhipicephalus sanguineus*, que ao se alimentar do hospedeiro, inocula juntamente com a saliva, os microrganismos<sup>(3)</sup>. A transmissão através da transfusão sanguínea também pode ocorrer<sup>(13)</sup>.

## 2.2 Epidemiologia

A EMC é considerada endêmica em várias regiões do Brasil<sup>(7)</sup>. Ela possui uma prevalência maior em regiões tropicais e subtropicais e está intimamente relacionada à abundância do vetor<sup>(16,20)</sup>. Devido à variação da fase assintomática, não há período sazonal que aumente a prevalência da doença, porém, a frequência da fase aguda tende à ser maior nas estações de primavera e verão devido os vetores estarem mais ativos<sup>(23)</sup>.

Estudos epidemiológicos em algumas regiões do Brasil foram realizados a fim de identificar a prevalência na rotina da clínica médica veterinária, assim como métodos diagnósticos.

No levantamento realizado no hospital veterinário do Mato Grosso Sul em 2009, foi identificado uma prevalência de 23,3% de animais positivos na PCR para *Ehrlichia canis*<sup>(25)</sup>. Já no levantamento realizado no hospital veterinário de Botucatu entre 2001 e 2002, foi relatado uma prevalência de 40% através do método diagnóstico de PCR, de 70 cães avaliados com sinais clínicos compatíveis com EMC<sup>(4)</sup>. No estudo epidemiológico realizado pela Universidade Federal da Bahia em dois distritos sanitários do nordeste (Cajazeiras e Itapuã), houve uma prevalência de 35,6%(168/472) de animais positivos por sorologia (RIFI) sendo que dos cães positivos na sorologia, 58 (34,5%) deram positivos também pelo método molecular de PCR<sup>(26)</sup>.

Todas as raças são propensas á infecção, não havendo predisposição racial.<sup>1,6</sup> Cães da raça pastor alemão tendem a ter uma evolução e prognóstico pior em relação às outras raças<sup>(14,20)</sup>.

Não há predisposição de faixa etária,<sup>(6)</sup> havendo relatos das mais variadas idades. Porém, cães mais velhos tendem a ter uma probabilidade maior de contrair a doença, devido ao tempo maior de exposição frente ao agente, comparado aos cães mais jovens<sup>(13)</sup>. Alguns estudos sugerem que cães de até 12 meses de idade tendem

a ter mais chances de apresentar o agente na circulação sanguínea, apresentando a forma aguda da doença<sup>(4,25)</sup>.

Não há predisposição sexual, porém por características comportamentais, cães machos tendem a ter uma exposição maior frente ao vetor em comparação às fêmeas, aumentando a probabilidade à uma possível infecção<sup>(6,13)</sup>.

### 2.3 Fisiopatogenia

A EMC é caracterizada por ser multisistêmica, sintomatologia inespecífica e que pode variar de acordo com a fase em que a doença se encontra<sup>(2,4,6)</sup>. Após a picada do carrapato infectado, ocorre o período de incubação, que pode variar de 8 a 20 dias e após esse período segue-se para as fases aguda, subclínica (assintomática) e crônica<sup>(2,10)</sup>. Os microorganismos infectam as células mononucleares e no interior dos vacúolos dos fagócitos se multiplicam por fissão binária, causam ruptura celular e conseqüentemente infectam novas células<sup>(12)</sup>.

Após o período de incubação, o animal pode evoluir para a fase aguda, que tem duração de 2 a 4 semanas e os sinais clínicos podem variar e podem desaparecer espontaneamente, mesmo sem tratamento<sup>(13)</sup>. Animais imunocompetentes ocasionalmente podem eliminar o agente<sup>(4)</sup>. Na fase aguda, os monócitos parasitados em contato com células endoteliais, provoca um quadro de vasculite, que juntamente com a diminuição da função plaquetária, pode causar sangramentos espontâneos, mesmo diante de trombocitopenia sem relevância<sup>(2,18)</sup>.

A EMC tem característica de causar desarranjos imunológicos, prejudicando na resposta celular e humoral do hospedeiro<sup>(2)</sup>. A *Ehrlichia canis* ativa a produção de IL-12 por células apresentadoras de antígenos, induzindo o desenvolvimento da resposta Th1 e secreção de IFN- $\gamma$  pelas células T CD4+, o que determina a resistência do hospedeiro à infecção, além de uma diminuição importante na expressão de moléculas do complexo de histocompatibilidade principal de classe II (MHCII)<sup>(21,23)</sup>.

Durante a infecção ocorrem diversas alterações imunológicas e inflamatórias, resultando em hemaglutinação, hipergamaglobulinemia, infiltração leucocitária de órgãos parenquimatosos, manguitos perivasculares em diversos locais, como rins, baço, meninges, pulmões, olhos, baço além de anticorpos antiplaquetários<sup>(2,22)</sup>.

Após a fase aguda alguns cães podem eliminar espontaneamente a infecção ou permanecer na fase subclínica (assintomática) da doença, podendo persistir de meses a anos.<sup>(12)</sup>

Na fase assintomática e crônica há uma produção exacerbada de anticorpos, fazendo com que o patógeno permaneça ausente da circulação sistêmica e fique alojado em órgãos como baço, linfonodo e medula óssea<sup>(5,21)</sup>.

Na fase crônica as manifestações clínicas estão associadas às reações imunomediadas desencadeadas pelo próprio organismo afim de combater o patógeno<sup>(23)</sup>. Pode ocorrer lesão renal por deposição de imunocomplexos, pode-se desenvolver supressão de medula óssea por destruição crônica de plaquetas e hemácias e liberação de fator necrose tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), decorrente da inversão das células CD4/CD8, além de estimular o catabolismo das células dos músculos e fígado, causando o emagrecimento progressivo e anemia<sup>(2)</sup>.

## **2.4 Manifestações clínicas**

A EMC tem característica de causar manifestações clínicas inespecíficas e multisistêmicas que pode variar de acordo com a fase da doença (aguda ou crônica), co-infecções e resposta imunológica do hospedeiro<sup>(4,6,23)</sup>.

As manifestações clínicas na fase aguda podem ser: febre, fraqueza, letargia, apatia, disorexia, linfadenomegalia, esplenomegalia, hepatomegalia e perda de peso. Outros sinais também foram descritos, incluindo vômitos, diarreia, dor, intolerância ao exercício, edema (de membros pélvicos, cauda ou escroto), tosse e/ou dispneia, secreção oculonasal serosa ou mucopurulenta, aborto ou morte neonatal e úlceras na pele<sup>(6,13,18,23,27)</sup>. A distinção dos sinais clínicos de fase aguda ou crônica é de difícil detecção devido à semelhança dos sintomas, porém, animais de fase crônica tendem a ter os sinais clínicos mais graves e evidentes<sup>(13)</sup>.

Na fase aguda os cães podem desenvolver a linfadenopatia, esplenomegalia e hepatomegalia, devido à multiplicação do patógeno nos fagócitos mononucleares<sup>(21)</sup>.

Manifestações clínicas relacionadas à distúrbios hematológicos também podem ocorrer como mucosas pálidas devido ao quadro de anemia, sangramentos espontâneos como epistaxe, equimoses e petéquias devido à trombocitopenia,

vasculite e/ou diminuição da função plaquetária, além de causar hemorragias mais prolongadas no período de estro e gastroenterites hemorrágicas<sup>(6,13,23,27)</sup>.

Manifestações oculares são comuns, muitas vezes isoladas sem outros sinais ou sintomas, sendo a uveíte posterior e anterior as mais comuns<sup>(1,13)</sup>. A secreção ocular, blefarite, conjuntivite, ulcera de córnea, esclerite necrótica dolorosa, glaucoma secundário, hemorragia de retina, descolamento de retina e cegueira súbita também podem ocorrer<sup>(1,13,28)</sup>. Alterações oftálmicas com correlação à inflamação intraocular podem ocorrer devido a distúrbios imunomediados e/ou distúrbios de coagulação<sup>(28)</sup>. A EMC deve ser um diferencial importante nos distúrbios oftálmicos em cães de regiões consideradas endêmicas<sup>(23)</sup>.

Na fase crônica, o animal pode apresentar poliúria, polidipsia e proteinúria devido à um desenvolvimento de insuficiência renal causado pela estimulação antigênica crônica e deposição de imunocomplexos nos glomérulos<sup>(6,12,13,23)</sup>.

Cães na fase crônica tendem a apresentar com maior frequência distúrbios vasculares, devido a quadros intensos de trombocitopenia, que é característico dessa fase<sup>(4)</sup>.

Pode ocorrer alterações neurológicas devido ao quadro de meningoencefalite não supurativa multifocal<sup>(27)</sup>. Os sinais clínicos relacionados são: ataxia, disfunção vestibular, alteração medular e convulsão<sup>(1,12,19)</sup>. Os distúrbios neurológicos são causados possivelmente por hemorragia no parênquima cerebral ou medula e/ou infiltração de células plasmáticas em meninges.<sup>(31,32)</sup>

Em alguns animais podem ocorrer alterações locomotoras como: rigidez, edema e/ou dor em articulação, intolerância ao exercício e claudicação devido a quadros de poliartrite<sup>(1,12)</sup>. Porém, atualmente não há estudos que comprovem a real relação entre a EMC e a poliartrite<sup>(1,13)</sup>. O que é preconizado nesses casos onde ocorre casos de claudicação e/ou poliartrite é a investigação de outros agentes como *A. phagocytophilum* ou *B. burgdorferi*<sup>(13)</sup>. Cães com EMC não apresentam alteração de cálcio sérico e nem lesão óssea<sup>(23)</sup>.

Alguns animais podem desenvolver alterações pulmonares, apesar de não ser tão comum, ao contrário da erliquiose monocítica humana<sup>(33)</sup>. Pode ocorrer edema alveolar intersticial secundária à inflamação, hemorragia em parênquima pulmonar secundário às vasculites e pneumonia devido ao quadro de neutropenia<sup>(23,33)</sup>. Esses quadros de pneumonia podem acompanhar um quadro de dispneia. O quadro de

pneumonia intersticial pode causar um quadro de hipertensão pulmonar, devido à dificuldade da troca gasosa e vasoconstrição local<sup>(33)</sup>.

Cães na fase crônica podem desenvolver lesões no miocárdio, devido ao aumento das substâncias CKMB (cratinoquinase MB) e Troponina Cardíaca I. Eles também possuem uma alta prevalência de arritmias de origem supraventricular e ventricular, isoladas e sustentadas e possui um predomínio do sistema simpático na frequência cardíaca<sup>(34)</sup>.

## **2.5 Alterações laboratoriais**

Os achados laboratoriais da EMC são variáveis e inespecíficos<sup>(6,13)</sup> o que pode tornar seu diagnóstico desafiador.

### **2.5.1 Alteração hematológica**

Na fase aguda é normal o animal desenvolver trombocitopenia leve, neutropenia e anemia não regenerativa, sendo que a trombocitopenia pode persistir até a fase subclínica (assintomática)<sup>(12)</sup>.

A trombocitopenia é a principal alteração hematológica, independente da fase da doença e tendem a apresentar episódios de sangramentos, além de ocorrer diminuição da função plaquetária<sup>(1,2,27)</sup>. A trombocitopenia pode ocorrer devido à quadros de vasculites, destruição imunomediada e sequestro pelo baço<sup>(2)</sup>.

Anormalidades dos leucócitos pode coincidir com respostas inflamatórias simultâneas, estimulação antigênica e estresse<sup>(10)</sup>. A neutropenia é a principal alteração leucocitária encontrada nos cães infectados por EMC e ocorre devido o quadro de vasculite na fase aguda ou na fase crônica devido à supressão da medula óssea<sup>(10,23)</sup>. A leucocitose também pode ocorrer, apesar de ser pouco descrita. A estimulação crônica do sistema imunológico pode causar quadros de linfocitose e monocitose<sup>(23)</sup>. Em cães infectados naturalmente pode ocorrer leucocitose por neutrofilia devido a processos inflamatórios e/ou processos infecciosos simultâneos à infecção por *Ehrlichia canis*<sup>(10)</sup>. A virulência da cepa também pode desencadear um processo de neutrofilia, podendo ocorrer desvios à esquerda leves e/ou transitórios<sup>(10)</sup>.

Na fase aguda apesar de ocorrer anemia não regenerativa, os valores do hematócrito tendem a voltar ao normal dentro de poucas semanas após início dos sintomas<sup>(2)</sup>. O quadro de anemia regenerativa também pode ser observada durante a fase aguda ou crônica devido às perdas<sup>(23)</sup>. A anemia normocítica, normocromica e não regenerativa é caracterizada pela fase crônica da doença, causada pela supressão da medula óssea<sup>(23)</sup>.

A *Ehrlichia canis* tem uma alta prevalência de anemia hemolítica imunomediada (AIHM) com intensa anemia regenerativa em áreas consideradas endêmicas.<sup>35</sup> Além disso, cães anêmicos, em que a causa é a *Ehrlichia canis*, pode ocorrer quadros tromboembólicos, provavelmente por ação imunomediada<sup>(35)</sup>.

A fase crônica é caracterizada por pancitopenia (anemia, neutropenia e trombocitopenia), que é causada devido a supressão da medula óssea<sup>(23)</sup>. Além disso, a supressão de medula óssea está associada à hipoplasia de medula, anemia grave e sangramentos e possui uma alta taxa de mortalidade<sup>(29)</sup>. Animais pancitopênicos tendem a ser mais susceptíveis às infecções secundárias<sup>(15)</sup>.

## 2.5.2 Bioquímicos

Em qualquer fase da doença pode correr hipoalbuminemia e hiperproteinemia por hiperglobulinemia<sup>(2)</sup>.

A hipoalbuminemia pode ser ocasionada por sequestro decorrente de vasculite na fase aguda ou por perda glomerular na fase crônica<sup>(15)</sup>. Ela também pode ser justificada por conta de baixa ingestão proteica e diminuição de produção devido à alteração hepática<sup>(15)</sup>.

A hiperproteinemia é causada pelo o aumento das globulinas beta e gama, sendo a gamopatia monoclonal ou policlonal<sup>(15)</sup>. A hiperglobulinemia e a hipoalbuminemia podem ser persistentes durante a fase assintomático<sup>(23)</sup>. Os títulos de IgM começam a aparecer na circulação por volta de 7 dias e IgG por volta de 15 dias, sendo que os títulos iniciais de IgG podem ser baixos, porém, ele aumenta conforme a progressão da infecção<sup>(37)</sup>.

Cães não pancitopênicos tendem a ter proteínas mais elevadas quando comparados aos cães que apresentam pancitopenia<sup>(15)</sup>. Em cães com pancitopenia

ocorre uma diminuição de gamaglobulina, que ocorre devido ao quadro acentuado de leucopenia<sup>(15)</sup>.

Alguns animais podem apresentar aumento das atividades de fosfatase alcalina (FA) e alanina aminotransferase (ALT) devido à lesão hepática<sup>(2,12)</sup>.

A *Ehrlichia canis* também pode causar alteração renal devido a deposição de imunocomplexos na fase crônica.<sup>23</sup> Pode causar azotemia pré renal e proteinúria<sup>(12,23)</sup>.

## **2.6 Métodos diagnósticos**

### **2.6.1 Sorologia**

A *Ehrlichia canis* pode ser diagnosticada por sorologia, através das técnicas de ELISA e imunofluorescência indireta (RIFI). A vantagem desse meio diagnóstico é que permite determinar os níveis de anticorpos e suas mudanças ao longo do tempo, porém, resultado positivo nem sempre indica que o animal esteja doente uma vez que existe soroprevalência em regiões endêmicas<sup>(13,36)</sup>.

O teste de ELISA é rápido e qualitativo, que tem como objetivo apenas apontar se o animal é positivo ou negativo, sem fornecer a informação relacionada com os níveis séricos de anticorpos<sup>(13)</sup>.

A RIFI é considerada o padrão ouro para o diagnóstico de *Ehrlichia canis*, podendo ser detectada a partir de 7 a 28 dias após a infecção<sup>(12)</sup>. Cães em fase aguda podem apresentar falso negativo, devido ao baixo número de anticorpos nesta fase<sup>(12)</sup>. A RIFI fornece títulos quantitativos, ou seja, altos ou baixos positivos<sup>(13)</sup>. Cães na diluição 1:40 são considerados positivos e o aumento significativo dos títulos de anticorpos pode indicar a infecção ativa e não há correlação entre títulos de anticorpos e gravidade da doença<sup>(2)</sup>. Sugere-se que animais com suspeita de EMC realize a RIFI no mínimo duas vezes no intervalo de 2 a 4 semanas, para se avaliar a cinética dos anticorpos e identificar a fase da doença<sup>(13)</sup>. Preconiza-se a realização do exame molecular em caso de sorologia positiva, para identificação de uma possível infecção ativa<sup>(13)</sup>. Em áreas endêmicas, altos títulos de anticorpos nem sempre se condiz com os sinais clínicos da doença<sup>(2)</sup>.

A RIFI é importante para o monitoramento da terapia contra a EMC<sup>(30)</sup>. O declínio de anticorpos pode ocorrer rapidamente, tornando o cão negativo 6 a 9

meses após o tratamento<sup>(37)</sup> A persistência de altos títulos ou valores parecidos no momento do diagnóstico, indica persistência da infecção, mesmo o exame molecular apontando negativo<sup>(37)</sup>. A reinfecção é caracterizada por uma rápida ascensão de anticorpos<sup>(37)</sup>,

Reação cruzada pode ocorrer por *E.chaffeensis*, *E.ewingii* e *E.ruminantium*<sup>(2)</sup>.

### **2.6.2 PCR**

O exame de PCR é um exame específico e sensível para o diagnóstico de EMC, pois detecta o agente em pequenas quantidades no sangue, antes da formação de mórulas e antes da produção de anticorpos<sup>(2)</sup>. Ele demonstra uma sensibilidade maior para o diagnóstico na fase aguda da doença, quando comparado ao teste de ELISA e RIFI<sup>(12)</sup>

As amostras de PCR podem ser coletadas do sangue periférico, por aspiração de linfonodo, aspiração esplênica e medula óssea<sup>(12)</sup>.

Os cães positivos no PCR podem estar na fase aguda ou na fase crônica em que ocorre recrudescência da doença<sup>(4)</sup>. Na fase crônica ou assintomática da doença a sensibilidade tende a cair, devido a ausência da bactéria na circulação.<sup>(2)</sup>

### **2.6.3 Citologia**

Apesar de ser um exame específico, a citologia pode ser considerada um exame de baixa sensibilidade, principalmente se o animal estiver na fase assintomática ou crônica da doença. Essa técnica frequentemente resulta em falsos negativos<sup>(2)</sup>.

Os lugares mais indicados com maior probabilidade de observação da mórula é esfregaço de ponta de orelha e papa leucocitária, porém, podem ser encontradas em amostras de linfonodos e medula óssea<sup>(2)</sup>.

As mórulas podem ser confundidas com plaquetas, grânulos citoplasmáticos, material nuclear fagocitado e corpúsculos linfoglandulares<sup>(12)</sup>.

### **2.6.4 Cultura celular**

Apesar de ser considerado o método mais sensível para o diagnóstico definitivo para EMC, é um exame considerado caro e que demora por volta de 30 dias para se obter o resultado<sup>(2)</sup>, tendo assim pouca aplicabilidade na rotina clínica. Atualmente é considerada uma ferramenta de pesquisa<sup>(38)</sup>.

## 2.7 Tratamento

O tratamento para a EMC é realizado com antibiótico da família das tetraciclinas<sup>(2,13)</sup>. O tratamento de escolha são as tetraciclinas sendo a doxiciclina o de eleição, sendo um antibiótico semissintético, lipossolúvel e que inibe a síntese proteica das bactérias<sup>(2)</sup>. É considerada uma droga segura devido a sua baixa toxicidade, possui boa absorção intestinal e tem alta concentração celular<sup>(2)</sup>. De acordo com o último consenso de doenças infecciosas preconiza-se o tratamento por no mínimo 28 dias, 10mg/kg a cada 24 horas<sup>(17)</sup>. Os cães que apresentarem a fase aguda ou a fase crônica leve, já podem apresentar melhora dentro de 24 a 48 horas após o início da terapia com a doxiciclina<sup>(17)</sup>. Um dos efeitos colaterais da doxiciclina é o vômito, porém, ele pode ser evitado ao dividir a dose (5mg/kg a cada 12 horas) ou administrando após a alimentação<sup>(13)</sup>. Cães na fase crônica grave podem não responder a terapia<sup>(12)</sup>. As citopenias podem permanecer ou se resolver ou se resolver no período de vários meses<sup>(12)</sup>.

O clorofenicol (15 a 20 mg/kg à cada 8 horas) pode ser administrado como segunda opção, em caso de resistência da doxiciclina e em casos de vômitos e complicações gástricas causadas pela doxiciclina<sup>(2)</sup>. Em caso de aplasia de medula, esse fármaco deve ser evitado<sup>(2)</sup>.

A terapia com dipropionato de imidocarb só é recomendada em casos de co-infecções por *Babesia sp* ou *Hepatozoon canis*<sup>(12,13)</sup>.

Em caso de reações imunomediadas, a terapia com corticoide pode ser instituída em doses de 0,5 à 2mg/kg de prednisona<sup>(1)</sup>. Deve-se administrar com cautela em animais que já estão imunossuprimidos.

A terapia com imunomoduladores associada com antibiótico em animais leucopenicos pode ser considerada. A administração de levamisol associado à antibioticoterapia aumenta significativamente o número global de leucócitos, linfócitos e monócitos em cães com erliquiose leucopênicos, além de apresentar

melhora clínica mais acentuada em comparação com os animais que se administra apenas antibiótico<sup>(21)</sup>.

Em animais pancitopênicos ou em fase crônica da EMC que apresente mielosupressão, sugere-se a administração de eritropoetina, para estimulação de crescimento hematopoético<sup>(2)</sup>. Em casos de anemias arregenerativas, também pode-se realizar a suplementação com ferro<sup>(2)</sup>.

A administração de filgrastin em caso de mielossupressão grave também pode ser instituído e comparado com o tratamento convencional mostrou uma melhor evolução clínica<sup>(19)</sup>. O filgrastin deve ser administrado em altas doses para se obter o resultado desejado, porém, deve-se observar os efeitos colaterais que podem ser: piora transitória da trombocitopenia, aumento do risco de hemorragias e dor óssea<sup>(19)</sup>. Palacios et al<sup>(19)</sup> propuseram um protocolo para tratamento de EMC pancitopênica mielossupressora: filgrastin (50 µg/kg, SC, a 48 horas em 3 doses), eritropoietina (100 UI/kg, SC, à cada 3 dias) Sulfato de ferro (100 mg/kg, PO, à cada 24 horas) e folato (5 mg/kg à cada 24 horas), doxiciclina (10 mg/kg, à cada 24 horas durante 28 dias), imidocarb (5 mg/kg, SC, à cada 14 dias) corticoide (2 mg/kg à cada 24 horas durante 28 dias com retirada gradual durante a última semana de tratamento) em caso de reação imunomediada e omeprazol (0,5 mg/kg à cada 24 horas)<sup>(19)</sup>.

## **2.8 Prognóstico**

O prognóstico é bom para cães jovens em fase aguda e pode ser variável naqueles que apresentam a fase crônica<sup>(23)</sup>.

## **3 OBJETIVO**

Documentar os principais aspectos epidemiológicos, clínicos e laboratoriais de 142 cães atendidos com erliquiose canina, no período de 2013 a 2016, no Hovet-Unisa e no Hemovet. Os critérios de inclusão foram cães positivos na sorologia e/ou PCR para *E. canis*.

## **4 MATERIAIS E MÉTODOS**

Foram analisados os prontuários dos cães atendidos no hospital veterinário UNISA e laboratório Hemovet positivos para *Ehrlichia canis* pelo método de sorologia e/ou PCR. O estudo retrospectivo foi documentado de acordo com os dados do primeiro atendimento. Foram considerados: a epidemiologia, manifestações clínicas e alterações laboratoriais.

## **5 RESULTADOS**

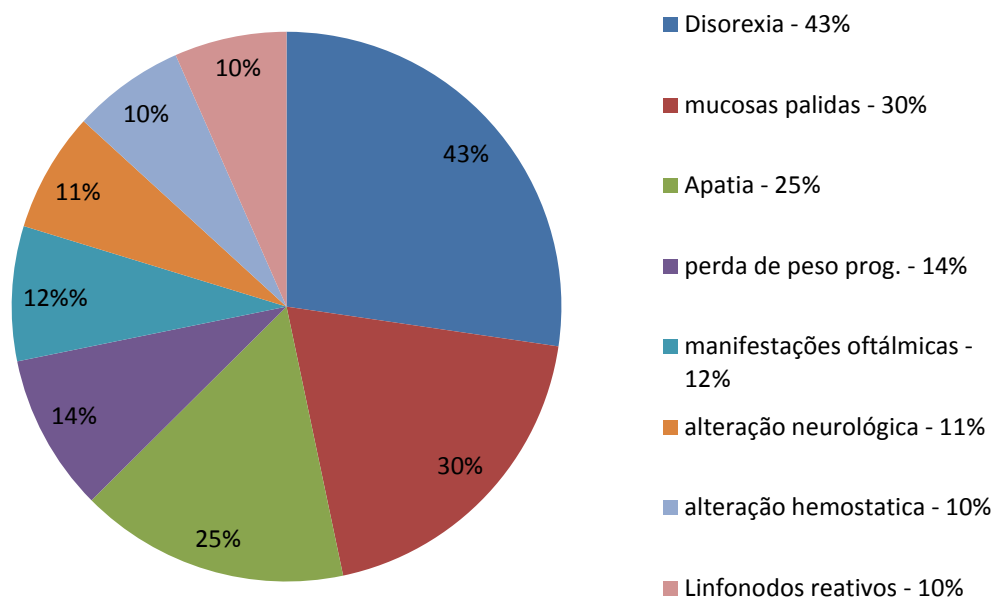
### **5.1 Epidemiologia**

Os cães sem raça definida foram os mais acometidos, correspondendo a 62% (89/142) do atendimento. Dentre as raças atendidas, o poodle foi o mais documentado (21%), seguido do yorkshire 12% e labrador 8%.

A idade média foi de 7 anos, variando dos 4 meses de idade até os 16 anos e houve uma proporção ligeiramente maior de fêmeas, 51% (73/142) em relação aos machos.

### **5.2 Manifestações clínicas**

As principais manifestações clínicas observadas foram: alteração de apetite (43% - 62/142), mucosas palidas (30% - 44/142) e apatia (25% - 36/142). Houve outras alterações em menor proporção como perda de peso progressiva, manifestações oculares, neurológicas e hemostáticas, conforme a descrição do gráfico 1.



**Gráfico 1 – principais manifestações clínicas dos cães positivos para *E. canis* por sorologia e PCR atendidos no HOVET – UNISA e HEMOVET no período de 2013 a 2016.**

Nos animais em que foram descritos com alteração de apetite, observou-se que 62% tinham hiporexia e 29% com anorexia.

Dos 44 animais em que se observaram alterações em mucosas, 70%(31/44) eram hipocoradas, 40%(18/44) perláceas e 6% (3/44) apresentavam icterícia.

As manifestações oculares foram observadas em 11% dos 142 cães. As alterações oculares descritas foram: ceratoconjuntivite seca, uveíte, secreção ocular, opacificação de retina, congestão de vasos episclerais e cegueira súbita.

As manifestações neurológicas foram observadas em 16 (11%) cães dos 142 casos. A principal manifestação neurológica foi convulsão (62%), seguida por ataxia (25%). Outras manifestações em menor proporção foram: andar rígido, dificuldade de transpor obstáculo, nistagmo, hipermetria e andar compulsivamente.

As alterações hemostáticas foram descritas em 10% (15/142) dos casos, sendo que as petéquias foram observadas em 7 cães. Outra alteração encontrada foi hematomas, em 3 animais com alterações hemostáticas. Equimoses (1), epistaxe(1) e sangramento oral(1) também foram observadas.

Dos 142 cães do estudo, 54 realizaram o exame de ultrassonografia. Desses 54 cães, 44% (24/54) apresentaram somente esplenomegalia, outros 14% (8/54) apenas hepatomegalia e 18% (10/54) apresentaram esplenomegalia e

hepatomegalia simultaneamente. Em 24% (13/54) não tiveram alterações no exame de ultrassom.

Observou-se 12 cães (8%) totalmente assintomáticos e sem queixa principal pelo tutor e sem anormalidade ao exame físico. Esses cães realizaram hemograma, onde houve alteração sugestiva para *Erlichia canis*, e conseqüentemente realizaram outro exame específico. Dos animais assintomáticos, 4 cães foram diagnosticados devido a exames pré anestésico, 1 no pós cirúrgico e 1 por ser o doador de sangue.

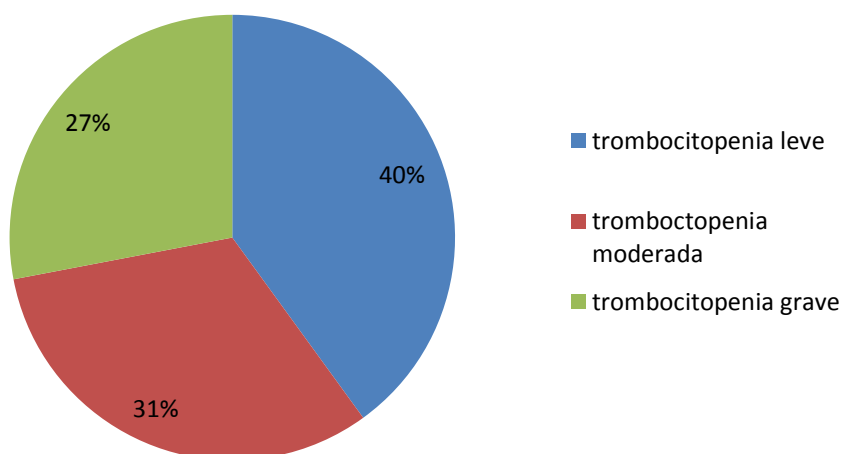
### 5.3 Alterações laboratoriais

#### 5.3.1 Hematologia

As principais alterações observadas no hemograma foram trombocitopenia (79/142 - 53%) e anemia (77/142 - 52%). Já os animais que apresentaram as duas alterações conjuntas (anemia e trombocitopenia) foram 30%.

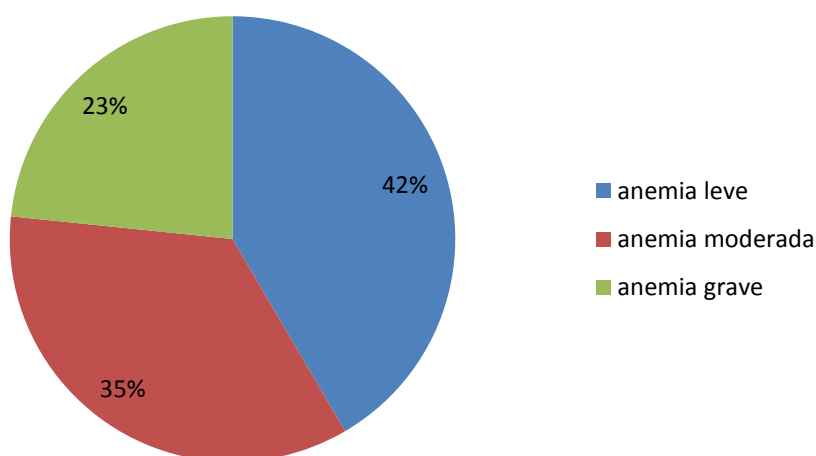
Foram observados diferentes graus de trombocitopenia e anemia, que são classificadas como leve, moderada e grave.

Dos 79 animais que apresentaram trombocitopenia: 40% (32/79) apresentaram o grau leve (100.000 a 200.000 plaquetas/mm<sup>3</sup>), 31%(25/79) grau moderado (50.000 a 100.000 plaquetas/mm<sup>3</sup>) e 27% (22/79) dos cães apresentaram o grau grave (< 50.000 plaquetas/ mm<sup>3</sup>) conforme descrito no gráfico 2.



**Gráfico 2 – Magnitude da trombocitopenia dos cães positivos para *E. canis* por sorologia e PCR atendidos no HOVET – UNISA e HEMOVET no período de 2013 a 2016 (79 de 142 cães)**

Dos 77 animais que apresentaram anemia, 42% (32/77) tiveram um grau leve (hematócrito entre 30 – 36%), 35% (27/77) moderado (hematócrito entre 18 – 29%) e 23%(18/77) dos cães observou-se anemia grave (hematócrito < 18%) demonstrado no gráfico 3.



**Gráfico 3 – Magnitude da anemia dos cães positivos para *E. canis* atendidos no período de 2013 a 2016 (77 de 142 cães)**

Em relação ao leucograma, 58% (82/140) dos cães permaneceram dentro dos valores de referência. A alteração mais observada foi a leucocitose com 25% (35/142), sendo que 9% tiveram neutrofilia com desvio à esquerda. leucocitose correspondeu a 24,6% dos casos (35/142), 9% (13/142) com desvio a esquerda. Apenas 5,63 % (8/142) dos cães apresentaram linfocitose e monocitose. A leucopenia foi descrita em 16,9% (24/142) dos casos.

A pancitopenia foi observada em observou-se em 7,7% dos casos positivos (11/ 142).

### 5.3.1 Bioquímicos

Em torno de 39% (56 cães) dos 142 cães que realizaram o exame de proteína total apresentaram hiperproteïnemia e apenas 5% (7 cães) apresentou hipoproteïnemia (Proteína total do plasma (g/dl) 6,0 – 8,0).

A dosagem de albumina foi realizada em apenas 37 dos 142 cães avaliados. A hipoalbuminemia foi observada em 78% (29/37) dos cães e os outros 22% permaneceram com o nível de albumina na circulação dentro do valor de referência.

A dosagem de fosfatase alcalina (FA) foi realizada em 52 pacientes e observou-se uma elevação desta enzima em 32% dos cães (17/52). Nenhum cão apresentou FA abaixo do valor de referência (20 – 156 UI/L). A dosagem de ALT foi realizada em 54 cães cuja elevação foi observada em 40% (22/54) dos casos (20 – 156 UI/L).

#### **5.4 Métodos diagnósticos**

Os exames usados para o diagnóstico foram: sorologia (ELISA e RIFI) e PCR. Do levantamento referido, a sorologia foi positiva em 120 cães de 126 realizados (95%). As PCRs foram realizadas em 17 cães, sendo que em 12 o resultado foi positivo (70%). Em 3 cães foram realizados PCR e sorologia simultaneamente, sendo que em 2 cães o resultado do PCR foi negativo e 1 cão ambos foram positivos.

## **6 DISCUSSÃO**

No atual estudo retrospectivo, podemos observar que houve um discreto acometimento maior nas fêmeas (51%) do que nos machos (49%). Dado também constatado de acordo com o levantamento de Borin et al<sup>(9)</sup>, que em 203 cães positivos para a *Ehrlichia canis*, 61% eram fêmeas e com dados de Moreira et al<sup>(11)</sup>, em um estudo nacional. Já no levantamento realizado por Manoel<sup>(37)</sup>, houve um maior acometimento de machos, em torno de 56%.

Em relação à idade, a média foi de 7 anos, em concordância com outro estudos na literatura em que cães mais velhos são mais susceptíveis à infecção por *Ehrlichia canis*. A idade média também foi similar ao levantamento realizado por Manoel<sup>(37)</sup>.

Os cães sem raça definida foram os mais acometidos, correspondendo a 62% (89/142) do atendimento concordando com os estudos realizados por Sousa et al<sup>(6)</sup> e Manoel<sup>(37)</sup>. Dentre as raças atendidas, o poodle foi o mais documentado (21%) no nosso estudo, dado semelhante encontrado por Borin et al<sup>(9)</sup>.

As principais manifestações clínicas observadas no nosso levantamento foram disorexia com (43%), seguido por mucosas pálidas (30%) e apatia (25%). O levantamento realizado se assemelhou com os estudos realizados por Borin et al<sup>(9)</sup> e Manoel<sup>(37)</sup>. Entretanto, foram discordantes do estudo realizado por Sousa et al<sup>(6)</sup> cujos principais sinais clínicos observados em 48 cães foram a linfadenopatia (18), distúrbios oftálmicos (14) e apatia (12). Já no levantamento realizado por Moreira et. al<sup>(11)</sup>, o principal sinal clínico foi a febre.

Trombocitopenia e anemia foram as alterações laboratoriais mais observadas em proporção semelhante. Dagnone et al<sup>(24)</sup> cita a trombocitopenia como a alteração mais frequente da doença e pode ocorrer em até 80% dos casos, independente da fase da doença<sup>(1)</sup>. Já no levantamento realizado por Borin et al<sup>(9)</sup>, a principal alteração no eritograma foi a anemia em 82,3% dos cães e no estudo de Sousa et. al<sup>(6)</sup> de 48 cães que possuíam a mórula de *Ehrlichia* sp., 20 tinha presença de anemia e 14 trombocitopenia.

No leucograma, observamos que 58% dos cães se mantiveram dentro dos valores de referencia semelhante ao obtido por Borin et al<sup>(9)</sup> com 55%. Já a principal alteração encontrada foi a leucocitose, o que difere de Borin et al<sup>(9)</sup>, Sousa et. al<sup>(6)</sup> e Moreira et al<sup>(11)</sup>, que foi a leucopenia. Como no levantamento atual não se foi analisado doenças concomitantes, o quadro de leucocitose pode ter ocorrido devido a outros processos patológicos e/ou inflamatórios simultaneamente<sup>(10)</sup>. Lanopoulos et al<sup>(10)</sup> comparou os leucócitos em dois grupos de cães. Um grupo infectado naturalmente e outro grupo infectado experimentalmente. O grupo com infecção experimental teve um numero maior de leucopenia, já o grupo infectado naturalmente, a sua maioria teve neutrofilia, sendo que 25% com desvio a esquerda.

A pancitopenia que foi observada em 7,7% dos cães é uma importante alteração laboratorial e é caracterizada por uma supressão difusa da medula óssea de acordo com Moore & Bender<sup>(16)</sup>. Os animais pancitopenicos estão mais susceptíveis às infecções secundárias<sup>(15)</sup>.

Na avaliação bioquímica da proteína total dos 142 exames realizados, observou-se hiperproteinemia em 39% dos casos. A alteração que também foi observada no trabalho realizado por Kataoka et al<sup>(15)</sup> em que houve uma elevação da média de proteína total nos cães do grupo não-pancitopênico, em comparação dos outros dois grupos (grupo controle e grupo pancitopênico). No levantamento realizado por, Sousa et al<sup>(6)</sup>, também observou-se hiperproteinemia em 20 de cães (20/48).

Dos 37 cães que realizaram a dosagem de albumina, 78% tiveram hipoalbuminemia. No levantamento de Sousa et. al<sup>(6)</sup>, a hipoalbuminemia ocorreu em 21 cães de 48 que faziam parte do estudo.

Em três cães que foram realizados PCR e sorologia com titulação em conjunto, em dois o PCR deu negativo, fato que pode ter ocorrido devido o animal se encontrar na fase crônica ou assintomática, visto que o agente encontra-se presente em baço e medula óssea, podendo estar ausente na circulação sanguínea<sup>(5)</sup>. No exame em que ocorreu a sorologia e PCR positivos simultaneamente, é provável que a doença esteja em sua fase de recrudescência<sup>(4)</sup>.

## **7 CONCLUSÃO**

Segundo o levantamento retrospectivo realizado dos cães positivos para *Ehrlichia canis*, as fêmeas foram as mais acometidas e a idade média foi de 7 anos. Disorexia, mucosas pálidas e apatia foram as manifestações clínicas mais comuns. Trombocitopenia e anemia foram as alterações mais observadas no eritrograma. A leucocitose foi a principal alteração no leucograma dado que pode ser condizente com as infecções naturais por *E. canis* além da leucopenia já bem documentada na literatura. Entretanto, sugerem-se novos estudos para melhor esclarecimento desta alteração em cães infectados naturalmente por *E. canis* detalhando outras doenças concomitantes.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - Mylonakis M, Theodorou K. Canine Monocytic Ehrlichiosis: An Update on Diagnosis and Treatment. *Acta Veterinaria*. 2017;67(3):299-317.
- 2 - Jericó M, Kogika M, Andrade Neto J. Tratado de medicina interna de cães e gatos. 1º ed. São Paulo: Grupo Gen - Guanabara Koogan; 2015. 2464p.
- 3 - Silva, I. P. M. (2015). Erliquiose Canina – Revisão De Literatura. *Revista Científica De Medicina Veterinária - Faef*, 24, 1–16.
- 4 - Ueno T, Aguiar D, Pacheco R, Richtzenhain L, Ribeiro M, Paes A et al. *Ehrlichia canis* em cães atendidos em hospital veterinário de Botucatu, Estado de São Paulo, Brasil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*. 2009;18(03):57-61.
- 5 - Rikihisa, Y.; Ewing, S. A.; Fox, J. C.; et al. Analyses of *Ehrlichia canis* and a Canine Granulocytic *Ehrlichia* Infection. *Journal of Clinical Microbiology* 1992., v.30, n.1, p. 143-148.
- 6 - Sousa VR, Almeida AD, Barros LA, Sales KG, Justino CH, Dalcin L & Bomfim T. CB. Avaliação clínica e molecular de cães com erliquiose. *Ciência Rural*, 2010, 40(6), 1309–1313.
- 7 - Vieira, R. F. da C., Biondo, A. W., Guimarães, A. M. S., Dos Santos, A. P., Dos Santos, Vidotto, O. (2011). Ehrlichiosis in Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária = Brazilian Journal of Veterinary Parasitology : Órgão Oficial Do Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária*, 20(1), 1–12.
- 8 - Huxsoll DL, Hildebrandt PK, Nims RM, Walker JS. Tropical canine pancytopenia. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 1970; 157 (11):1627–1632.
- 9 - Borin, S., Crivelenti, L. Z., & Ferreira, F. A. Aspectos epidemiológicos, clínicos e hematológicos de 251 cães portadores de mórula de *Ehrlichia* spp. naturalmente infectados. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria E Zootecnia* 2009, 61(3), 566–571.

- 10 - Gianopoulos A, Mylonakis M, Theodorou K, Christopher M. Quantitative and qualitative leukocyte abnormalities in dogs with experimental and naturally occurring acute canine monocytic ehrlichiosis. *Veterinary Clinical Pathology*. 2016;45(2):281-290.
- 11 - Moreira S.M.; Bastos, C.V.; Araújo, R.B. et al. Estudo retrospectivo (1998 a 2001) da erliquiose canina em Belo Horizonte. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, 2003, v.55, p.141-147.
- 12 – Sykes JE. *Canine and feline infectious diseases*. 1° ed. Elsevier Medicina;2013. 928p.
- 13 - Sainz Á, Roura X, Miró G, Estrada-Peña A, Kohn B, Harrus S et al. Guideline for veterinary practitioners on canine ehrlichiosis and anaplasmosis in Europe. *Parasites & Vectors*. 2015;8(1):75.
- 14 - Nyindo M, Huxsoll DL, Ristic M, Kakoma I, Brown JL, Carson CA, et al. Cell-mediated and humoral immune responses of German Shepherd Dogs and Beagles to experimental infection with *Ehrlichia canis*. *Am J Vet Res*. 1980;41(2):250–254p.
- 15 – Kataoka, A., Santana, A. E., & Seki, M. C. Alterações do proteinograma sérico em cães naturalmente infectados por *Ehrlichia canis*. *Ars Veterinaria*, 2006, 22(2), 98–102.
- 16 – Weiss DJ, Wardrop KJ. *Veterinary hematology*. 6° ed. Wiley-Blackwell. 2010. 1206 p.
- 17 – Neer TM, Breitschwerdt EB, Greene RT, Lappin MR. Consensus statement on ehrlichial disease of small animals from the infectious disease study group of the ACVIM. American College of Veterinary Internal Medicine. *J Vet Intern Med*. 2002;16(3):309–15.
- 18 – Gaunt, S., Beall, M., Stillman, B., Lorentzen, L., Diniz, P., Chandrashekar, R., & Breitschwerdt, E. Experimental infection and co-infection of dogs with *Anaplasma platys* and *Ehrlichia canis*: hematologic, serologic and molecular findings. *Parasites & Vectors*, 2010, 3(1), 33.

- 19 – Palacios, M., Arteaga, R., & Calvo, G. High-Dose Filgrastim Treatment of Nonregenerative Pancytopenia Associated With Chronic Canine Ehrlichiosis. *Topics in Companion Animal Medicine*, 32(1), 28–30.
- 20 – Straube, J. Canine Ehrlichiosis – from Acute Infection to Chronic Disease. *CVBD – Digest (bayer) 2010 (7)*, 1–11.
- 21 – Souza DRD. Efeito do levamisol sobre leucócitos periféricos de cães com erliquiose. [Dissertação] Cuiabá: Universidade Federal de Mato Grosso; 2010. 58p.
- 22 - Kelly P. Canine ehrlichioses : an update : review article. *Journal of the South African Veterinary Association*. 2000;71(2).
- 23 – Nelson RW, Couto CG. *Small animal internal medicine*. 4° Ed. Elsevier. 2010. 1466p.
- 24 - Dagnone, A. S.; Morais, H. S.; Vidotto, M. C.; et al. Ehrlichiosis in anemic, thrombocytopenic, or tick-infested dogs from a hospital population in south Brazil. *Vet. Parasitol.*,2003, v.117, p.285-290.
- 25 - Witter, R., Vecchi, S. N., Dos Anjos Pacheco, T., et al. . Prevalência da erliquiose monocítica canina e anaplasmose trombocítica em cães suspeitos de hemoparasitose em Cuiabá, Mato Grosso. *Seminário Ciências Agrárias, Londrina*, 2013 v. 34, n.6. suplemento 2, p. 3811-3822.
- 26 - Souza B, Leal D, Barboza D, Uzêda R, De Alcântara A, Ferreira F et al. Prevalence of ehrlichial infection among dogs and ticks in Northeastern Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*. 2010;19(02):89-93.
- 27 – McGavin MD, Zachary JF. *Bases da patologia em veterinária*. Tradução de Renata Scavone de Oliveira et al. 5° ed. Rio de Janeiro. Elsevier; 2013. 1324 p.
- 28 - Komnenou A, Mylonakis M, Kouti V, Tendoma L, Leontides L, Skountzou E et al. Ocular manifestations of natural canine monocytic ehrlichiosis (*Ehrlichia canis*): a retrospective study of 90 cases. *Veterinary Ophthalmology*. 2007;10(3):137-142.

- 29 – Mylonakis M, Koutinas A, Breitschwerdt E, Hegarty B, Billinis C, Leontides L et al. Chronic Canine Ehrlichiosis (*Ehrlichia canis*): A Retrospective Study of 19 Natural Cases. *Journal of the American Animal Hospital Association*. 2004;40(3):174-184.
- 30 - Theodorou K, Leontides L, Siarkou V, Petanides T, Tsafas K, Harrus S et al. Synovial fluid cytology in experimental acute canine monocytic ehrlichiosis (*Ehrlichia canis*). *Veterinary Microbiology*. 2015;177(1-2):224-227.
- 31 - Kaewmongkol G, Maneesaay P, Suwanna N, Tiraphut B, Krajarngjang T, Chouybumrung A et al. First Detection of *Ehrlichia canis* in Cerebrospinal Fluid From a Nonthrombocytopenic Dog with Meningoencephalitis By Broad-Range PCR. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 2015;30(1):255-259.
- 32 - Baba K, Itamoto K, Amimoto A, et al. *Ehrlichia canis* infection in two dogs that emigrated from endemic areas. *Journal of Veterinary Medical Science* 2012;74:775–778.
- 33 - Toom M, Dobak T, Broens E, Valtolina C. Interstitial pneumonia and pulmonary hypertension associated with suspected ehrlichiosis in a dog. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 2015;58(1).
- 34 – Filippi MG. Avaliação eletrocardiográfica ambulatorial de cães com ehrliquiose monocítica crônica [Dissertação]. Botucatu: Universidade Estadual Paulista, Faculdade de medicina veterinária e zootecnia; 2016. 158p.
- 35 – Moraes, LF, Takahira RK., Golim MA, & Baggio MS. Avaliação das alterações hemostáticas e do risco tromboembólico em cães com AHIM. *Pesquisa Veterinaria Brasileira* (2016), 36 (5), 405–411.
- 36 - Carlos R, Carvalho F, Wenceslau A, Almosny N, Albuquerque G. Risk factors and clinical disorders of canine ehrlichiosis in the South of Bahia, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*. 2011;20 (3): 210-214.
- 37 – Manoel CS. Alterações clínicas, hematológicas e sorológicas de cães infectados por *Ehrlichia canis* [Dissertação]. Universidade de São Paulo, Faculdade de medicina veterinária e zootecnia;2010. 65p.