

# AVALIAÇÃO DOS SINAIS CLÍNICOS EM CÃES POSITIVOS PARA ERLIQUIOSE, CONFIRMADOS COM PCR

Isabela Ferraro Moreno<sup>1</sup>, Alefe Caliani Carrera<sup>2</sup>, Marcela Baggio Luz<sup>3</sup>, Rodrigo Jesus Paolozzi<sup>4</sup>, Patrícia Campos Paolozzi<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Acadêmica do Curso de Medicina Veterinária, Centro Universitário de Maringá – UNICESUMAR. [isabelaferraro@gmail.com](mailto:isabelaferraro@gmail.com)

<sup>2</sup>Acadêmico do Curso de Medicina Veterinária, Centro Universitário de Maringá – UNICESUMAR. [alefe\\_luiz@hotmail.com](mailto:alefe_luiz@hotmail.com)

<sup>3</sup>Acadêmica do Curso de Medicina Veterinária, Centro Universitário de Maringá – UNICESUMAR. [mbaggioluz@gmail.com](mailto:mbaggioluz@gmail.com)

<sup>4</sup>Orientador. Doutorando. Coordenador do curso de Medicina Veterinária do Centro Universitário de Maringá – UNICESUMAR.

[rodrigo.paolozzi@unicesumar.edu.br](mailto:rodrigo.paolozzi@unicesumar.edu.br)

<sup>5</sup>Co-orientador. Mestranda do Curso de Tecnologias Limpas, Centro Universitário de Maringá – UNICESUMAR.

[pat\\_campos@hotmail.com](mailto:pat_campos@hotmail.com)

## RESUMO

A erliquiose monocítica canina (EMC), causada por *Ehrlichia canis*, parasita intracelular de leucócitos mononucleados, tem como uma das principais manifestações clínicas a trombocitopenia. A região de Maringá, devido as variáveis climatológicas, favorece o ciclo do carrapato principal vetor da *Ehrlichia canis*, com isso a proliferação desse ectoparasita é considerável, predispondo assim a infecção no cão, no entanto, outras causas importantes que promovem a trombocitopenia são deixadas de lado e muitas vezes não são levadas em consideração para obtenção de um diagnóstico correto em cães. O presente projeto tem a finalidade de avaliar animais que apresentam trombocitopenia utilizando o PCR para verificar a porcentagem de *Ehrlichia canis* e novos padrões de acometimento por sinais clínicos da doença. Serão utilizadas 40 amostras de sangue com trombocitopenia coletadas na rotina de atendimento clínico do hospital veterinário da UniCesumar, essas amostras passarão por PCR para *Ehrlichia canis*. As variáveis decorrentes de dados de contagem com distribuição binomial serão avaliadas por percentil, moda de mediana. Os resultados serão expressos em forma de gráfico e tabelas utilizando ferramenta Microsoft Excel do pacote Office 2010.

**PALAVRAS- CHAVE:** Doenças do cão; *Ehrlichia canis*; Sinais e sintomas; Trombocitopenia.

## 1 INTRODUÇÃO

A erliquiose é causada por uma *Rickettsia* do gênero *Ehrlichia spp*, sendo o seu principal vetor o carrapato *Rhipicephalus sanguineus* (BOUZA-MORA et al, 2017), onde, dentre as cinco espécies de *Ehrlichia* já descobertas, no Brasil apenas há relatos de *E. canis* até o presente momento (AZEVEDO et al, 2011) como causador da erliquiose monocítica canina (EMC). É considerada uma zoonose (ISMAIL, BLOCH, MCBRIDE, 2010; BOUZA-MORA et al, 2017) e foi relatada pela primeira vez por Donatien e Lestoquard em 1935, na Argélia (DONATIEN, LESTOQUARD, 1937). É uma bactéria Gram negativa com alta capacidade de mutação (HARRUS, WANER, 2011) e de parasitismo intracelular obrigatório (FONSECA et al, 2017), infectando células hematopoiética, principalmente mononucleados monócitos e linfócitos (WITTER et al, 2013), o que culmina para uma infecção persistente (AGUIAR et al, 2007). Após o período de incubação, que varia de oito a 20 dias (HARRUS, WANER, BARK, 1997), ocorre a fase aguda, que pode perdurar por até três semanas (HARRUS, WANER, BARK, 1997; HARRUS, WANER, NEER, 2012), sendo seguida pela fase subclínica, ou assintomática, havendo recuperação espontânea dos sinais clínicos, onde a sua capacidade imune determinará: possível eliminação do agente; manutenção do agente em fase latente até que seja reativado novamente; ou ocorrência da fase crônico-medular (HARRUS, WANER, BARK, 1997), que leva à supressão da medula óssea, diminuindo ou cessando seu funcionamento (HARRUS, WANER, NEER, 2012).

Referente aos achados laboratoriais, EMC tem principalmente a trombocitopenia em sua fase aguda, relacionada com lesões inflamatórias endoteliais em vasos causadas pela *Ehrlichia*, sequestro esplênico, destruição imunomediada e também por lesões que geram sangramentos. Ainda há diminuição da agregação plaquetária, fatos que culminam com hemorragias (HARRUS et al, 1999). Na fase crônica há pancitopenia devido à falência medular (HARRUS, WANER, NEER, 2012). Dentre as demais alterações em hemograma, há: anemia, leucocitose, neutropenia, linfopenia e eosinofilia. Em exames bioquímicos,

aumento nos níveis de AST, ALT e FA, além de hiperbilirrubinemia, aumento de uréia e creatinina. Há também hiperglobulinemia e hipoalbuminemia (WOODY, HOSKINS, 1991).

Com relação aos sinais mais encontrados, tem-se: apatia, anorexia, palidez de mucosas, febre, linfadenopatia, esplenomegalia e/ou hepatomegalia, hemorragia, infestação por carrapatos, melena, perda de peso, vômito, hemorragia petequiral, alterações respiratórias, descarga nasal e edema de membros (NAKAGHI et al, 2008). Alterações oculares podem estar presentes, sendo as mais comumente encontradas: uveíte e panuveíte, com possível glaucoma secundário, episclerite e edema de córnea (ORIÁ et al, 2008). Sinais neurológicos também podem estar presentes devido à presença da bactéria no sistema nervoso central, ou pela imunossupressão que desencadeia infecções oportunistas, como por exemplo, toxoplasmose e cinomose (GIRARDI et al, 2014).

O diagnóstico comumente, é realizado através das alterações dos parâmetros hematológicos, principalmente por trombocitopenia (LITTLE, 2010). A precocidade possibilita melhor prognóstico, por ainda encontrar-se em fase inicial, e também por identificar portadores (IQBAL, CHAICHANASIRIWITHAYA, RIKIHISA, 1994). Little (2010) identificou o tempo médio de sete dias após a infecção pelo hemoparasita para que houvesse reação imune de produção de anticorpos anti-*Ehrlichia*, sendo estes um método diagnóstico por ELISA (STILLMAN et al, 2014). O PCR é o método de identificação mais sensível, o qual auxilia para o correto diagnóstico de EMC, reconhecendo o DNA do microrganismo no sangue do hospedeiro. Como métodos alternativos de diagnóstico há imunocromatografia e imunofluorescência indireta, os quais identificam anticorpos espécie-específicos para *Ehrlichia*. O esfregaço sanguíneo não é considerado meio diagnóstico eficiente (DERAKHSHANDEH, SHARIFIYAZDI, HASIRI, 2017).

Este estudo tem como objetivo avaliar a relação da trombocitopenia em cães com o real acometimento por EMC através do PCR, e estabelecer os sinais clínicos mais comumente encontrados em cães positivos.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo será realizado no Hospital Veterinário UniCesumar, na cidade de Maringá – Paraná, campus sede desta instituição. Ocorrerá através do uso de amostras sanguíneas de 40 animais, provenientes da rotina clínica, as quais serão submetidas à análise hematológica através de hemograma.

Os animais serão selecionados a partir da suspeita clínica, onde durante a anamnese houver indícios de erliquiose monocítica canina (EMC), e laboratorial a partir de resultados de hemograma, como trombocitopenia. A partir dos achados laboratoriais, as amostras sanguíneas serão ao PCR, o qual apresenta maior sensibilidade e especificidade na identificação do agente.

Posteriormente, será feita a comparação e estabelecimento de relações estatísticas entre: quantidade de animais com trombocitopenia que foram positivos para EMC no PCR e quantidade de animais com trombocitopenia que foram negativos no PCR. Ainda, será feito levantamento dos sinais clínicos apresentados pelos animais positivos para EMC, afim de se identificar as manifestações mais evidentes clinicamente.

As variáveis decorrentes de dados de contagem com distribuição binomial serão avaliadas por percentil, moda de mediana. Os resultados serão expressos em forma de gráfico e tabelas utilizando ferramenta Microsoft Excel do pacote Office 2010.

## 3 RESULTADOS ESPERADOS E DISCUSSÃO

Espera-se concluir que casos de trombocitopenia devem ser avaliados de forma mais aprofundada, elucidando que sua ocorrência não esteja totalmente relacionada a EMC.

Ainda, relacionar as manifestações clínicas à doença, identificando sinais diferentes dos anteriormente descritos.

## REFERÊNCIAS

AGUIAR, D. M. et al. Prevalence of *Ehrlichia canis* (Rickettsiales: Anaplasmataceae) in Dogs and *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae). **Journal of Medical Entomology**, [s.l.], v. 44, n. 1, p.126-132, 1 jan. 2007. Oxford University Press (OUP).

AZEVEDO, S. S. de et al. Soroprevalência e fatores de risco associados à soropositividade para *Ehrlichia canis* em cães do semiárido da Paraíba. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, [s.l.], v. 48, n. 1, p.14-18, 1 fev. 2011. Universidade de São Paulo Sistema Integrado de Bibliotecas - SIBiUSP.

BOUZA-MORA, L. et al. Novel genotype of *Ehrlichia canis* detected in samples of human blood bank donors in Costa Rica. **Ticks And Tick-borne Diseases**, [s.l.], v. 8, n. 1, p.36-40, jan. 2017. Elsevier BV.

DERAKHSHANDEH, N.; SHARIFIYAZDI, H.; HASIRI, M. A. Molecular detection of *Ehrlichia spp.* in blood samples of dogs in southern Iran using polymerase chain reaction. **Vet Res Forum**, [s.i.], v. 8, n. 4, p.347-351, dez. 2017.

DONATIEN, A., LESTOQUARD, F. State of the present knowledge concerning Rickettsioses of animals. **Archives de l'Institut Pasteur d'Algérie Institut Pasteur D'Algérie**. v.15, n.1, p. 142–187, 1937

FONSECA, J. P. et al. Hematological parameters and seroprevalence of *Ehrlichia canis* and *Babesia vogeli* in dogs. **Ciência Animal Brasileira**, [s.l.], v. 18, n.1, p.1-9, 2017. FapUNIFESP (SciELO).

GIRARDI, A. F. et al. Ocorrência de anticorpos anti-Toxoplasma gondii e Ehrlichia canis em cães com alterações nervosas atendidos em hospital veterinário universitário. **Semina: Ciências Agrárias**, [s.l.], v. 35, n. 4, p.1913-1922, 27 ago. 2014. Universidade Estadual de Londrina.

HARRUS, S. et al. Recent Advances in Determining the Pathogenesis of Canine Monocytic Ehrlichiosis. **Journal of Clinical Microbiology**, [s.i.], v. 37, n. 9, p. 2745-2749, set. 1999. American Society for Microbiology.

HARRUS, S.; WANER, T. Diagnosis of canine monocytotropic ehrlichiosis (*Ehrlichia canis*): An overview. **The Veterinary Journal**, [s.l.], v. 187, n. 3, p.292-296, mar. 2011. Elsevier BV.

HARRUS, S.; WANER, T.; BARK, H. Canine monocytic ehrlichiosis: an update. **Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, v. 19, n. 4, p. 431-444, 1997.

HARRUS, S.; WANER, T.; NEER, T. M. *Ehrlichia* and *Anaplasma* infections. In: GREENE, C. E. **Infectious diseases of the dog and cat**. 4 ed. Philadelphia: Elsevier B.V. Saunders Company, 2012. v. 1, p. 227-238.

IQBAL, Z.; CHAICHANASIRIWITHAYA, W.; RIKIHISA, Y. Comparison of PCR with other tests for early diagnosis of canine ehrlichiosis. **J Clin Microbiol.**, [s.l.], v. 32, n. 7, p.1658-1662, jul. 1994.

ISMAIL, N., BLOCH, K.C., MCBRIDE, J.W.,. Human ehrlichiosis and anaplasmosis. **Clin. Lab. Med.** v.30, n.1 p. 261–292, 2010

LITTLE, S.E. Ehrlichiosis and Anaplasmosis in Dogs and Cats. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice.** [s.l.], v. 40, n. 6, p.1121-1140, nov. 2010. Elsevier BV.

NAKAGHI, A. C. H. et al. Canine ehrlichiosis: clinical, hematological, serological and molecular aspects. **Ciência Rural**, [s.l.], v. 38, n. 3, p.766-770, jun. 2008. FapUNIFESP (SciELO).

ORIÁ, A. P. et al. Ophthalmic, hematologic and serologic findings in dogs with suspected Ehrlichia canis infections. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, [s.l.], v. 15, n. 2, p.94-97, 2008. Editora Cubo Multimidia.

STILLMAN, B. A. et al. Performance of a commercially available in-clinic ELISA for detection of antibodies against *Anaplasma phagocytophilum*, *Anaplasma platys*, *Borrelia burgdorferi*, *Ehrlichia canis*, and *Ehrlichia ewingii* and *Dirofilaria immitis* antigen in dogs. **Journal Of The American Veterinary Medical Association**, [s.l.], v. 245, n. 1, p.80-86, jul. 2014. American Veterinary Medical Association (AVMA)

WITTER, R. et al. Prevalência da erliquiose monocítica canina e anaplasmosse trombocítica em cães suspeitos de hemoparasitose em Cuiabá, Mato Grosso. **Semina: Ciências Agrárias**, [s.l.], v. 34, n. 62, p.3811-3822, 17 dez. 2013. Universidade Estadual de Londrina.

WOODY, B. J; HOSKINS J. D. Ehrlichial diseases of dogs. **Vet. Clin. N. Am. Small Anim. Pract.** [s.l.], v.21, n.1, p. 75-98, 1991.