



DIAGNÓSTICO DA ERLIQUIOSE CANINA POR MEIO DO TESTE SOROLÓGICO E DA PESQUISA DE HEMOPARASITAS NO ESFREGAÇO SANGUÍNEO

Lauriana Silva Amaral⁽¹⁾; Lucas Moura Sampaio ⁽²⁾; Angela Akamatsu⁽³⁾

¹ Graduanda do curso de Medicina Veterinária, Bolsista do PIBIC- FAPEMIG (Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais); FEPI- Centro Universitário de Itajubá; lauriana13.24silva@hotmail.com ² Professor do curso de Medicina Veterinária, FEPI- Centro Universitário de Itajubá; lucasmourasampaio@hotmail.com ³ Professora do curso de Medicina Veterinária, FEPI- Centro Universitário de Itajubá; angela.akamatsu@gmail.com

RESUMO

A erliquiose é uma hemoparasitose considerada uma das mais importantes doenças zoonóticas que acometem várias espécies, principalmente os cães. É causada por bactérias gram-negativas intracelulares que parasitam os leucócitos. O principal vetor é o carrapato marrom do cão, *Rhipicephalus sanguineus*, encontrado comumente nas áreas urbanas. As técnicas de diagnóstico utilizadas incluem a avaliação hematológica, as provas bioquímicas, a detecção da *Ehrlichia canis* nos esfregaços sanguíneos, os testes sorológicos, o cultivo, *Western blotting* e a técnica de reação em cadeia pela polimerase. O objetivo desse estudo é avaliar quantos cães com sinais clínicos sugestivos da doença, atendidos no Hospital Escola de Medicina Veterinária do Centro Universitário de Itajubá - FEPI, têm o diagnóstico da doença confirmado por meio do teste sorológico ou pela visualização de mórulas de *Ehrlichia* no esfregaço sanguíneo. Serão avaliados 20 cães, com sinais clínicos sugestivos de erliquiose. Serão coletadas amostras de sangue para a realização do hemograma e do esfregaço sanguíneo e para o teste sorológico. Posteriormente, os dados serão analisados para avaliar a porcentagem de cães com diagnóstico confirmado por meio da sorologia e da análise do esfregaço sanguíneo. Até o momento, um paciente com suspeita de de erliquiose canina foi atendido no Hospital Escola de Medicina Veterinária – FEPI. Foram observados no hemograma leucopenia, anemia e trombocitopenia sugestivos da doença. O teste sorológico confirmou a suspeita clínica de erliquiose.

Palavras-chave: Cães. *Ehrlichia canis*. Análise.

INTRODUÇÃO

A erliquiose é uma hemoparasitose, considerada uma das mais importantes doenças zoonóticas. Acomete principalmente os cães, mas pode acometer também outras espécies, tais como gatos, equinos, ruminantes e humanos (BORIN *et al.*, 2008; SOUSA *et al.*, 2009; ISOLA *et al.*, 2012). Trata-se de uma doença causada por bactérias gram-negativas intracelulares das células hematopoiéticas, maduras ou imaturas, particularmente os monócitos e os macrófagos, pertencentes ao sistema fagocitário mononuclear. Dependendo da

espécie, acomete também as células mielóides, tais como os neutrófilos (AGUIAR *et al.*, 2007; FONSECA, 2012; ISOLA *et al.*, 2012).

No Brasil só foi descrita uma única espécie, a *Ehrlichia canis* (*E. canis*), comumente encontrada na Erliquiose Monocítica Canina (EMC) (DAGNONE *et al.*, 2001) que possui como principal vetor o carrapato marrom do cão, *Rhipicephalus sanguineus*, encontrado frequentemente nas áreas urbanas (LABRUNA, PEREIRA, 2001; AGUIAR *et al.* 2007; SOUSA *et al.*, 2009), principalmente nas regiões tropicais e subtropicais (MOREIRA *et al.*, 2003; FONSECA, 2012; ISOLA *et al.*, 2012).



Nos carrapatos, o agente etiológico é transmitido de forma transtestadial, portanto, a bactéria persiste independente do estado de desenvolvimento do vetor (GROVES *et al.*, 1975; SMITH *et al.*, 1976 citado por DAGNONE *et al.*, 2001). Todos os estágios do *R. sanguineus*, larva, ninfa e adultos, são capazes de transmitir a doença por um período de até 155 dias após serem infectados (LEWIS *et al.*, 1977 citado por DAGNONE *et al.*, 2001).

A EMC se manifesta clinicamente de três formas: aguda, subclínica e crônica (DAGNONE *et al.*, 2001; BORIN *et al.*, 2009; FONSECA, 2012; ISOLA *et al.*, 2012). O período de incubação é de oito a 20 dias (DAGNONE *et al.*, 2001; SOUSA *et al.*, 2009), no qual o animal infectado com *E. canis* pode manifestar sinais clínicos moderados a intensos ou mesmo não expressar esses sinais, dependendo da fase da doença (GARCIA FILHO *et al.*, 2010; ISOLA *et al.*, 2012).

Durante a fase aguda, que dura em média duas a quatro semanas (DAGNONE *et al.*, 2001; ISOLA *et al.*, 2012), os microrganismos invadem as células mononucleares e fazem replicação por fissão binária para, posteriormente, se disseminarem para outros órgãos. Os sinais clínicos frequentemente são inespecíficos podendo ser observados febre, perda de peso, anorexia, secreção oculonasal, linfadenopatia, vasculite, depressão, alterações neurológicas, oftálmicas e musculares e também poliartrite. Os achados laboratoriais frequentemente observados são leucopenia discreta, anemia e trombocitopenia (DAGNONE *et al.*, 2001; FONSECA, 2012; ISOLA *et al.*, 2012), que pode ser causada pela destruição imunológica periférica das plaquetas, pelo aumento do sequestro das mesmas pelo baço ou aumento no consumo de plaquetas pelo endotélio inflamado. (DAGNONE *et al.*, 2001; FONSECA, 2012).

Após a fase aguda, o paciente pode se curar ou a doença pode evoluir para fase subclínica. Nessa fase o paciente não apresenta sinais clínicos, contudo, a bactéria ainda persiste no organismo. Essa fase pode durar anos. Os cães com boa resposta imunológica eliminarão o parasita, enquanto os cães imunossuprimidos irão desenvolver a fase crônica da doença (DAGNONE *et al.*, 2001; SOUSA *et al.*, 2009; ISOLA *et al.*, 2012). Na fase crônica ocorre pancitopenia com comprometimento da medula óssea

(DAGNONE *et al.*, 2001), óbito por hemorragias causadas pela trombocitopenia e trombocitopatias ou ainda infecções secundárias (DAGNONE *et al.*, 2001; SOUSA *et al.*, 2009; ISOLA *et al.*, 2012).

Por ser uma zoonose emergente, o diagnóstico precoce é de extrema importância. Na fase aguda se observa anemia, pancitopenia, leucopenia discreta, trombocitopenia e linfocitose granular (DAGNONE *et al.*, 2001; FONSECA, 2012). Na fase crônica comumente são encontradas trombocitopenia, leucopenia e anemia mais severas (DAGNONE *et al.*, 2001; ISOLA *et al.*, 2012). Podem ser observadas alterações nos exames bioquímicos séricos como hiperglobulinemia, hipergamaglobulinemia, hipoalbuminemia, aumento da alanina amino transferase (ALT) e da fosfatase alcalina (FA) (DAGNONE *et al.*, 2001). Para auxiliar no diagnóstico pode também ser realizada a pesquisa do agente na forma de corpúsculos de inclusão ou mórulas presentes em plaquetas e leucócitos observados nos esfregaços sanguíneos confeccionados com sangue total ou papa de leucócitos (DAGNONE *et al.*, 2001; ISOLA *et al.*, 2012). Os métodos sorológicos como o Teste de dot-blot ELISA detectam os níveis de anticorpos contra *E. canis* presentes no organismo do animal. Outros meios diagnósticos também são utilizados, como o Teste de Imunofluorescência Indireta (IFI), Cultivo, *Western blotting* e técnica de reação em cadeia pela polimerase (PCR) (DAGNONE *et al.*, 2001; FONSECA, 2012; ISOLA *et al.*, 2012), que devido aos custos envolvidos, são menos empregados.

Atualmente, o uso de testes sorológicos que determinam a presença de anticorpos da classe IgG específicos para o agente *E. canis* associado aos exames clínicos e laboratoriais, possibilitam e reforçam o diagnóstico da erliquiose canina que, quando feito precocemente, garante melhores chances no tratamento, contribuindo a uma melhora no prognóstico (AGUIAR *et al.*, 2007; ISOLA *et al.*, 2012).

O objetivo do estudo é avaliar quantos cães com sinais clínicos sugestivos da doença, atendidos no Hospital Escola de Medicina Veterinária do Centro Universitário de Itajubá - FEPI, têm o diagnóstico da doença confirmado por meio do teste sorológico ou pela visualização de mórulas de *Ehrlichia* no esfregaço sanguíneo.



MATERIAL E MÉTODOS

Esse estudo se baseia na casuística de atendimentos do Hospital Escola de Medicina Veterinária do Centro Universitário de Itajubá, em Itajubá, MG, que serão atendidos no período de Junho de 2016 a Março de 2017.

Serão avaliados 20 cães com sinais clínicos sugestivos de erliquiose e, após realização dos exames laboratoriais, será coletado uma pequena amostra de sangue do paciente, por meio da punção da veia jugular, safena ou cefálica. O sangue será armazenado em tubo com anticoagulante e armazenado em geladeira até a análise. Após a coleta, será realizado o teste sorológico (*Erlíquiose Ac Test Kit®*), que identifica qualitativamente a presença de anticorpos contra *E. canis* no sangue, soro ou plasma do paciente canino. Será também realizado o esgregaço sanguíneo no laboratório de Análises Clínicas para a pesquisa do agente na forma de mórulas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Até o momento, um paciente com suspeita de de erliquiose canina foi atendido no Hospital Escola de Medicina Veterinária – FEPI. Foram observados no hemograma leucopenia, anemia e trombocitopenia sugestivos da doença. O teste sorológico confirmou a suspeita clínica de erliquiose.

Ainda serão avaliados outros pacientes para que seja possível complementar o estudo.

CONCLUSÕES

Levando-se em consideração o único caso atendido, é necessário a espera de novos atendimentos, para que esses sirvam como estudo para o trabalho. Os objetivos estão sendo atingidos e, posteriormente, será possível avaliar o índice da casuística atendida, que terão a confirmação da doença por meio do teste sorológico e/ou pela análise do esfregaço sanguíneo, associando também as principais alterações hematológicas encontradas.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a FAPEMIG pela Bolsa de Iniciação Científica concedida ao primeiro autor.

REFERÊNCIAS

AGUIAR, D. M. *et al.* Diagnóstico sorológico de erliquiose canina com antígeno de Ehrlichia canis. **Ciência Rural**.v.37,n.3,p.796-802,2007.

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 Veterinária e Zootecnia**,v.61,n.3,p.566-571, 2009.

DAGNONE, A.S.; MORAIS, H.S.A.; VIDOTTO, M.C. Erliquiose nos animais e no homem. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina,v.22,n.2,p.191-201,jul./dez.,2001.

FONSECA, J. Pierangeli. Erliquiose canina em lavras, Sul de Minas Gerais, Brasil. **Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras**; Lavras, 2012.

GARCIA FILHO S. P. *et al.* Erliquiose canina: Relato de caso. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**. v.14,n.RC07,2010.

GROVES, M. G. *et al.* Transmission of Ehrlichia canis to Dogs by Thicks (Rhipicephalus sanguineus). **American Journal of Veterinary Research**,v.36,n.07,p.937-940,1975.

ISOLA, J. G. M. P.; CADIOLI, F. A., NAKAGE, A. P. Erliquiose canina- Revisão de Literatura. **Revista Científica Eletrônica e Medicina Veterinária**, ano IX,n.18,2012.

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

LEWIS, G.E. *et al.* Experimental Induced Infection of Dogs, Cats, and Nonhuman Primates with Ehrlichia equi, Etiologic Agent of Equine Ehrlichiosis. **American Journal of Veterinary Research**,v.36,n.1,p.85-88,1975.



MOREIRA, S.M *et al.* Retrospective study (1998-2001) on canine ehrlichiosis in Belo Horizonte, MG, Brazil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**,v.25, n.2,p.141147,2003.

SMITH, R.D. *et al.* 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.02,p.119-126,1976.

SOUSA, V. R. F. *et al.* Avaliação clínica e molecular de cães com erliquiose. **Ciência Rural**, Santa Maria, Online, 2009.