

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ – *CAMPUS* UMUARAMA
PROGRAMA DE MESTRADO EM PRODUÇÃO SUSTENTÁVEL E SAÚDE
ANIMAL**

CARLA NAZARÉ MAGALHÃES PARRA

**PERFIL HEMATOLÓGICO, BIOQUÍMICO SÉRICO E PROTEINOGRAMA DE
CÃES IDOSOS DIAGNOSTICADOS COM *EHRlichia canis***

UMUARAMA

2023

CARLA NAZARÉ MAGALHÃES PARRA

**PERFIL HEMATOLÓGICO, BIOQUÍMICO SÉRICO E PROTEINOGRAMA DE
CÃES IDOSOS DIAGNOSTICADOS COM *EHRlichia canis***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Sustentável e Saúde Animal do Departamento de Medicina Veterinária, Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual de Maringá, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Veterinária.

Área de concentração: Saúde Animal.

Orientador: Prof. Dr. André Marcos Santana

UMUARAMA

2023

Ficha catalográfica (após defesa)

CARLA NAZARÉ MAGALHÃES PARRA

**PERFIL HEMATOLÓGICO, BIOQUÍMICO SÉRICO E PROTEINOGRAMA DE
CÃES IDOSOS DIAGNOSTICADOS COM *EHRlichia canis***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Sustentável e Saúde Animal do Departamento de Medicina Veterinária, Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual de Maringá – *Campus* Umuarama, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Veterinária.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Prof. Dr. André Marcos Santana (orientador)

UMUARAMA, ____ de _____ de 2023.

Eu dedico este trabalho ao meu filho Caleb e a minha mãe, Luzia.

Meu filho, que nasceu durante o mestrado e me motivou todos os dias com aquele sorriso único!

Minha mãe, que foi essencial, deixou sua vida para me ajudar nos períodos que eu precisei vir pra Umuarama. Sempre me apoiou, jamais esquecerei isso.

Quero que meu filho saiba, quando crescer que não devemos parar na primeira dificuldade e sim persistir, com muita coragem e fé!

AGRADECIMENTO

Agradeço infinitamente a Deus, que me deu forças para não desistir, foi meu sustento e meu alicerce, me deu força e ânimo quando achei que não conseguiria.

Agradeço ao meu marido Carlos, que sempre segurou a minha mão quando as coisas ficavam difíceis, me dava forças para não desistir!

Agradeço ao meu filho Caleb, que me motivou pelo simples fato de existir, quando as coisas ficavam difíceis, só de vê-lo me acalmava e me fazia lembrar que eu quero cada vez ser uma pessoa melhor por ele!

Agradeço muito a minha mãe Luzia, saíamos de Maringá para vir a Umuarama, ela vinha comigo para cuidar do meu filho durante o período que eu precisava estar aqui, não foi nada fácil, mas sem ajuda dela eu nunca teria conseguido! Como sou grata, Deus me deu uma mãe incrível, mas uma avó para o meu filho melhor ainda, não tenho palavras para agradecer!

Agradeço pela vida do meu pai Magalhães, que cuidou do pet shop, trabalhou bastante, mesmo cansado e com dores, mas sempre esteve disponível para ajudar.

Agradeço a Luana, a Juliana do pet que sempre foram meus braços direitos, seguraram as pontas diversas vezes, obrigada por tudo, vocês são pessoas maravilhosas!

Agradeço a minha avó Aurea que sempre me cobriu de orações!

Agradeço a minha prima Marina, que mesmo longe esteve presente, me ouvindo, me ajudando e orando por mim, foi muito importante.

Agradeço também as minhas amigas Fernanda e Danielli que sempre me ouviram nos momentos difíceis, ouviram meus desabafos, me deram apoio e palavras de encorajamento.

Agradeço ao professor Leonardo, que na faculdade foi a pessoa que me apresentou e me incentivou na pesquisa, os ensinamentos que tive me auxiliaram nessa fase do mestrado.

Agradeço aos alunos da UEM: Marina, Lucas e Juliana e a residente Bianca por me ajudarem a executar este projeto, vocês foram essenciais, teria sido muito difícil sem ajuda de vocês.

Por fim, agradeço muito ao meu professor/ orientador André que teve muita paciência comigo e não mediu esforços em me ajudar sempre, obrigada mesmo.

RESUMO

A erliquiose é uma doença riquétsial infecciosa de alta incidência na rotina clínica de pequenos animais. É causada por uma bactéria gram negativa parasita celular intracelular obrigatório. Devido a sua relevância na rotina clínica, é importante o conhecimento das alterações clínicas e laboratoriais. O objetivo deste estudo foi avaliar as alterações de hemograma, bioquímico sérico e proteinograma de animais idosos positivos para *Ehrlichia canis*. Foram selecionados 25 cães acima de 8 anos. Destes, 10 cães saudáveis e negativos para *Ehrlichia canis* foram selecionados para compor o grupo controle (G1) e outros 15 cães positivos para *Ehrlichia canis*, para compor o grupo infectado (G2). Foi realizado anamnese em cada animal, exame físico e coleta de sangue para realização do hemograma, bioquímico sérico, proteinograma e para realização do teste rápido 4dx Plus (Idexx). As variáveis avaliadas no bioquímico sérico foram: proteínas totais, albumina, globulinas, ureia, creatinina, colesterol, triglicérides, alanina aminotransferase (ALT), fosfatase alcalina (ALP) e creatinoquinase (CK). proteinograma (ceruloplasmina, α -1-antitripsina, transferrina, albumina, IgA e IgG). Os resultados com alterações significativas foram em CHCM, uma diminuição das plaquetas do G2 comparado ao G1, hipoalbuminemia, hiperglobulinemia, aumento de IgG, diminuição de ceruloplasmina e aumento de α -1-antitripsina nos animais do G2, e os demais parâmetros sem alteração. Conclui-se que plaquetas, globulinas, IgG, albumina e α -1-antitripsina podem ser avaliadas em pacientes com suspeita de erliquiose monocítica canina na fase subclínica da doença como possíveis biomarcadores.

Palavras-chave: Carrapato; Eletroforese; Esplenomegalia; Hemoparasitose.

ABSTRACT

Ehrlichiosis is an infectious rickettsial disease with a high incidence in the clinical routine of small animals. It is caused by an obligate intracellular cellular parasite gram negative bacteria. Due to its clinical routine, it is important to know the clinical and laboratory alterations. The aim of this study was to evaluate changes in blood count, serum biochemistry and protein count in animals positive for *Ehrlichia canis*. 25 dogs over 8 years old were selected. Of these, 10 animals were selected to compose the control group (G1) and another 15 dogs positive for *Ehrlichia canis*, to compose the infected group (G2). Anamnesis was performed on each animal, physical examination and blood collection for carrying out the complete blood count, serum biochemistry, proteinogram and for performing the 4dx Plus rapid test (Idexx). The variables evaluated in serum biochemistry were: total protein, albumin, globulins, urea, creatinine, cholesterol, triglycerides, alanine aminotransferase (ALT), alkaline phosphatase (ALP) and creatine kinase (CK). proteinogram (ceruloplasmin, α -1-antitrypsin, transferrin, albumin, IgA and IgG). The results with alterations were hypoalbuminemia, hyperglobulinemia, increase in IgG, decrease in ceruloplasmin and increase in α -1-antitrypsin in animals from G2, and the other parameters remained unchanged. It is concluded that globulins, IgG, albumin and α -1-antitrypsin can be evaluated in patients with suspected canine monocytic ehrlichiosis in the subclinical phase of the disease as possible biomarkers.

Key words: Electrophoresis; Hemoparasitosis; Splenomegaly; Tick.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Realização do teste 4dx Plus.....	24
Figura 2 –	Teste rápido 4dx Plus com resultado negativo do grupo controle G1.....	46
Figura 3 –	Teste rápido 4dx Plus (Idexx) com resultado positivo apresentado pelos cães do grupo infectado G2.....	46

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 –	Eritrograma e plaquetograma dos 10 cães do grupo controle. Dados dispostos em forma de porcentagem de animais que apresentaram as respectivas variáveis, sendo avaliados se estão abaixo, dentro ou acima dos valores de referência.....	28
Gráfico 2 –	Eritrograma e plaquetograma dos 15 cães positivos para <i>Ehrlichia canis</i> . Dados dispostos em forma de porcentagem de animais que apresentaram as respectivas variáveis, sendo avaliados se estão abaixo, dentro ou acima dos valores de referência.....	29
Gráfico 3 –	Leucograma dos 10 cães do grupo controle. Dados dispostos em forma de porcentagem de animais que apresentaram as respectivas variáveis, sendo avaliados se estão abaixo, dentro ou acima dos valores de referência.....	31
Gráfico 4 –	Leucograma dos 15 cães positivos para <i>Ehrlichia canis</i> . Dados dispostos em forma de porcentagem de animais que apresentaram as respectivas variáveis, sendo avaliados se estão abaixo, dentro ou acima dos valores de referência.....	32
Gráfico 5 –	Bioquímico dos 10 cães do grupo controle. Dados dispostos em forma de porcentagem de animais que apresentaram as respectivas variáveis, sendo avaliados se estão abaixo, dentro ou acima dos valores de referência.....	35
Gráfico 6 –	Bioquímico dos 15 cães positivos para <i>Ehrlichia canis</i> . Dados dispostos em forma de porcentagem de animais que apresentaram as respectivas variáveis, sendo avaliados se estão abaixo, dentro ou acima dos valores de referência.....	36
Gráfico 7 –	Bioquímico dos 10 cães do grupo controle. Dados dispostos em forma de porcentagem de animais que apresentaram as respectivas variáveis, sendo avaliados se estão abaixo, dentro ou acima dos valores de referência.....	38
Gráfico 8 –	Bioquímico dos 15 cães positivos para <i>Ehrlichia canis</i> . Dados dispostos em forma de porcentagem de animais que apresentaram as respectivas variáveis, sendo avaliados se estão abaixo, dentro ou acima dos valores de referência.....	39
Gráfico 9 –	Alterações ultrassonográficas dos 10 cães do grupo controle. Dados dispostos em forma de porcentagem das alterações encontradas no ultrassom.....	44
Gráfico 10 –	Alterações ultrassonográficas dos 15 cães positivos para <i>Ehrlichia canis</i> . Dados dispostos em forma de porcentagem das alterações encontradas no ultrassom.....	45

LISTA DE GRÁFICOS DE DISPERSÃO

- Gráfico de dispersão 1 – Dispersão dos valores apresentados pelos animais do grupo controle (G1) e grupo infectado (G2) na avaliação dos parâmetros: Hemácia (A); Hematócrito (B); Hemoglobina (C); VCM (D); CHCM (E); Proteína plasmática total (F); Plaquetas (G). É possível observar os valores de forma individual, bem como sua variação e média..... 29
- Gráfico de dispersão 2 – Dispersão dos valores apresentados pelos animais do grupo controle (G1) e grupo infectado (G2) na avaliação dos parâmetros: Leucócitos totais (A); Neutrófilos segmentados (B); Neutrófilos bastonetes (C); Linfócitos (D); Monócitos (E); Eosinófilos. Possível observar os valores de forma individual, bem como sua variação e média..... 33
- Gráfico de dispersão 3 – Dispersão dos valores apresentados pelos animais do grupo controle (G1) e grupo infectado (G2) na avaliação dos parâmetros: Proteína sérica total (A); ALT (B); Creatinoquinase (C); Albumina (D); Globulinas (E); Colesterol (F); ALP (G); Triglicérides (I). É possível observar os valores de forma individual, bem como sua variação e média..... 36
- Gráfico de dispersão 4 – grupo infectado (G2) na avaliação dos parâmetros: Cálcio (A); Fósforo (B); Cloretos (C); Uréia (D); Creatinina. É possível observar os valores de forma individual, bem como sua variação e média..... 39
- Gráfico de dispersão 5 – Dispersão dos valores apresentados pelos animais do grupo controle (G1) e grupo infectado (G2) na avaliação dos parâmetros: IgG cadeia leve (A); IgG cadeia pesada (B); Ceruloplasmina (C); IgA (D); NL (E); NL2 (F); Transferrina (G); Proteínas totais (H); PM 23000 (I); Alpha 1 glicoproteína ácida (J); Beta Haptoglobina (K); Alpha 1 antitripsina (L). É possível observar os valores de forma individual, bem como sua variação e média..... 41

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Ficha de anamnese.....	22
Tabela 2 –	Ficha de exame físico.....	23
Tabela 3 –	Métodos analíticos utilizados para análise das variáveis do perfil bioquímico sérico de cães do G1 e do G2.....	26
Tabela 4 –	Perfil hematológico de amostras de cães senis sadios (G1) e com erliquiose (G2).....	28
Tabela 5 –	Tabela comparativa de parâmetros de leucograma de grupo 1 controle e grupo 2 infectado.....	31
Tabela 6 –	Perfil bioquímico sérico de catabólitos de amostras de sangue de cães sadios (G1) e com erliquiose (G2).....	34
Tabela 7 –	Perfil bioquímico sérico de catabólito, minerais e ions de amostras de sangue de cães senis sadios (G1) e com erliquiose (G2).....	38
Tabela 8 –	Imunoglobulinas em cães senis sadios (G1) e com erliquiose.....	41

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 OBJETIVOS	14
2.1 OBJETIVO GERAL.....	14
2.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	14
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
3.1 ETIOLOGIA.....	15
3.2 TRANSMISSÃO	15
3.3 PATOGENIA DA DOENÇA.....	15
3.4 FASES DA DOENÇA.....	16
3.5 FASE AGUDA.....	16
3.6 FASE SUBCLÍNICA	17
3.7 FASE CRÔNICA	17
3.8 ACHADOS LABORATORIAIS.....	17
3.9 PROTEÍNAS DE FASE AGUDA E IMUNOGLOBULINAS	18
3.10 ULTRASSONOGRRAFIA	20
3.11 DIAGNÓSTICO	20
3.12 TRATAMENTO.....	21
3.13 FASE SENIL	21
4 MATERIAL E MÉTODOS	22
4.1 PRÉ-SELEÇÃO DOS ANIMAIS	22
4.2 DISTRIBUIÇÃO DOS GRUPOS EXPERIMENTAIS	23
4.3 COLETA E PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS DE SANGUE.....	24
4.4 ANÁLISES LABORATORIAIS.....	25
4.4.1 Hemograma	25
4.4.2 Análise do perfil bioquímico-sérico	25
4.4.3 Análise do proteinograma sérico utilizando a técnica de eletroforese em gel de poliacrilamida contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE)	26
4.5 ANÁLISES ESTATÍSTICAS	26
5 RESULTADOS	27
5.1 HEMOGRAMA	27
5.1.1 Eritrograma e Plaquetograma	27
5.2 PERFIL BIOQUÍMICO SÉRICO	33

5.3 PROTEINOGRAMA SÉRICO UTILIZANDO A TÉCNICA DE ELETROFORESE EM GEL DE POLIACRILAMIDA CONTENDO DODECIL SULFATO DE SÓDIO (SDS-PAGE)	40
5.4 PERFIL CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICO DOS ANIMAIS SELECIONADOS	42
5.5 EXAME ULTRASSONOGRÁFICO	43
5.6 TESTE RÁPIDO	45
6 DISCUSSÃO	47
8 CONCLUSÃO	49
REFERÊNCIAS	50
ANEXO	55

1 INTRODUÇÃO

A erliquiose é uma doença infecciosa de alta incidência na rotina clínica, causada por uma bactéria Gram negativa, a *Ehrlichia canis*, parasita intracelular obrigatório, pertencente à ordem Rickettsiales, da família *Anaplasmataceae* (GREENE, 2012). É uma bactéria caracterizada pela redução de elementos sanguíneos, podendo ser vistas em vacúolos no citoplasma (PESAPANE *et al.*, 2019). É considerada uma doença tropical, entretanto no Brasil está distribuída na maioria das regiões do país (GARCIA *et al.*, 2018).

A transmissão da doença ocorre através do vetor *Rhipicephalus sanguineus*, conhecido como carrapato marrom (MATHIAS *et al.*, 2020). O artrópode tem fácil adaptação, por isso apresenta distribuição mundial, pois se adapta em diversos climas e regiões (MORENO *et al.*, 2019).

A doença pode ocorrer em três fases distintas: aguda, subclínica e crônica, sendo a fase subclínica a mais desafiadora pois é uma fase onde o animal não costuma apresentar sintomas (PEIXOTO, 2019). A sintomatologia é inespecífica, o que dificulta o diagnóstico, os sintomas mais comuns são perda de peso, diminuição de apetite, febre, anorexia, pirexia, epistaxe e hemorragia (MAIA; TELES; FURTADO, 2020).

Os achados laboratoriais encontrados com maior frequência são trombocitopenia, anemia e leucopenia, principalmente na fase aguda. As hemorragias são comuns devido a decorrência da destruição de plaqueta (KOMNENOU *et al.*, 2007; GALANT, 2010).

As proteínas de fase aguda e imunoglobulinas, fazem parte da primeira reação da imunidade inata, precedendo a imunidade específica, causada por diversos fatores. No caso das infecções bacterianas, ocorre uma resposta mais intensa das proteínas de fase aguda se comparada a infecções virais, isso ocorre devido à forte reação das células do sistema fagocitário mononuclear a endotoxinas. No caso da *E. canis*, nos cães, a análise proteômica poderia elucidar as alterações de biomarcadores associadas a biomarcadores, podendo ter um melhor entendimento da fisiopatogenia da doença (ESCRIBANO *et al.*, 2017).

A ultrassonografia é um exame que auxilia no diagnóstico de patologias. Com a utilização do ultrassom na rotina clínica as chances são maiores de tratar patologias iniciais que muitas vezes não são possíveis de se encontrar somente com exames físicos e hematológicos. Se tratando de animais idosos, o uso do ultrassom se faz ainda mais importante, sabendo que cães idosos possuem uma menor eficiência de resposta imunológica. Possibilitando que o clínico consiga atuar com exames preventivos antes que o animal fique em estado de doença avançado (CASTIGLONI *et al.*, 2020).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar as alterações hematológicas e do perfil bioquímico sérico e proteinograma sérico, incluindo proteínas da fase aguda e imunoglobulinas, em cães senis (acima de 8 anos) assintomáticos diagnosticados com *Ehrlichia canis*.

2.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar as alterações hematológicas de cães senis diagnosticados com erliquiose, com o intuito de encontrar possíveis biomarcadores para a doença na fase subclínica.
- Avaliar as alterações no perfil bioquímico sérico de cães senis com diagnosticados com erliquiose, com o intuito de encontrar possíveis biomarcadores para a doença na fase subclínica.
- Avaliar as alterações no proteinograma sérico, incluindo proteínas da fase aguda e imunoglobulinas, de cães senis diagnosticados com erliquiose, com o intuito de encontrar possíveis biomarcadores para a doença na fase subclínica.
- Avaliar, em cães senis com diagnosticados com erliquiose, possíveis alterações ultrassonográficas que podem ser utilizadas como indicadores de erliquiose.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 ETIOLOGIA

A erliquiose é uma doença infecciosa de alta incidência na rotina clínica, causada por uma bactéria Gram negativa, a *Ehrlichia canis*, parasita intracelular obrigatório, pertencente à ordem Rickettsiales, da família *Anasplasmataceae* (GREENE, 2012). É uma bactéria caracterizada pela redução de elementos sanguíneos, podendo ser vistas em vacúolos no citoplasma (PESAPANE *et al.*, 2019). É considerada uma doença tropical, entretanto no Brasil está distribuída na maioria das regiões do país (GARCIA *et al.*, 2018).

Segundo Sá *et al.* (2018) a erliquiose canina é uma doença endêmica, cuja incidência tem aumentado significativamente, sendo encontrada na maioria das regiões do Brasil, principalmente em áreas urbanas. O primeiro caso registrado ocorreu na cidade de Belo Horizonte- MG e foi citado por Costa *et al.* (1973). Trata-se de uma doença que pode ocorrer durante todo o ano, mas com maior incidência em épocas mais quentes, devido ao aumento da proliferação do carrapato (ALMAZAN, 2018).

3.2 TRANSMISSÃO

A transmissão da doença ocorre através do vetor *Rhipicephalus sanguineus*, conhecido como carrapato marrom (MATHIAS *et al.*, 2020). O artrópode tem fácil adaptação, por isso apresenta distribuição mundial, pois se adapta em diversos climas e regiões (MORENO *et al.*, 2019). Através do repasto sanguíneo em cão infectado, o vetor contamina-se ingerindo leucócitos infectados pela *Ehrlichia canis*. O carrapato agora infectado, realiza a hematofagia em cão saudável, inoculando junto a saliva o agente. Por até 155 dias, o vetor pode transmitir a doença após deixar o hospedeiro (SANTOS, 2020).

3.3 PATOGENIA DA DOENÇA

Após a inoculação do agente pelo carrapato, a bactéria penetra nas células mononucleares sob a forma de corpúsculos elementares através de fagocitose, sendo que essa primeira fase se desenvolve por volta de 2 dias. Na segunda fase, que dura de 3 a 5 dias, ocorre a multiplicação do agente por divisão binária e a formação de um corpúsculo inicial. Na terceira fase ocorre a produção de mórulas, cada mórula contém vários corpos elementares que são

liberados após o rompimento da célula, e assim inicia um novo ciclo, infectando outras células. Estas mórulas geralmente são encontradas na fase aguda da doença, em pequeno número e curto tempo (McDADE, 1990; ISOLA; CADIOLI; NAKAGE, 2012).

O período de incubação varia de 8 a 20 dias, posteriormente o agente irá se multiplicar nos órgãos do sistema mononuclear fagocítico: baço, linfonodos e fígado. Inicialmente, na fase aguda da doença, a multiplicação das bactérias dentro das células mononucleares irá desencadear uma linfadenomegalia e uma hiperplasia linforreticular do baço e fígado. As células infectadas são carreadas através do sangue, para órgãos como rins, pulmões e meninges, afetando o tecido do endotélio vascular, estimulando uma vasculite (SOUSA *et al.*, 2021).

3.4 FASES DA DOENÇA

A doença pode ocorrer em três fases distintas: aguda, subclínica e crônica, sendo a fase subclínica a mais desafiadora pois é uma fase onde o animal não costuma apresentar sintomas (PEIXOTO, 2019). A sintomatologia é inespecífica, o que dificulta o diagnóstico, os sintomas mais comuns são perda de peso, diminuição de apetite, febre, anorexia, pirexia, epistaxe e hemorragia (MAIA; TELES; FURTADO, 2020). Esplenomegalia e linfadenomegalia também podem ser encontradas, devido a replicação leucocitária nestes órgãos, além disso, petéquias e equimoses na pele podem ocorrer devido a trombocitopenia e vasculite (SANTOS, 2020).

3.5 FASE AGUDA

No início da fase aguda, que tem duração média de duas a quatro semanas, ocorre a multiplicação de corpúsculos intracitoplasmáticos nas células mononucleares. Estes corpúsculos, quando ficam maduros na forma de mórula, rompem as células mononucleares parasitadas e posteriormente procuram outras células para parasitarem, o que acaba sobrecarregando o sistema fagocitário causando hiperplasia das células afetadas, resultando em linfadenomegalia, esplenomegalia e hepatomegalia. Os achados em exames hematológicos comuns nesta fase são: anemia, leucopenia e trombocitopenia (SANTOS, 2020).

Animais imunocompetentes, após a fase aguda, conseguem eliminar o agente sem progredir para fase crônica ou então se estabelecem na fase subclínica, não apresentando sintomatologia, porém permanecem infectados pelo agente, principalmente o baço, podendo perdurar de meses a anos (MENESES *et al.*, 2008). O prognóstico desta fase é favorável, pois com a utilização da terapêutica correta para o caso, é possível observar melhora clínica do

paciente em pouco tempo (HARRUS; BARK; WANER, 1997).

3.6 FASE SUBCLÍNICA

Na fase subclínica as alterações costumam ser mais discretas, tutores muitas vezes podem não perceber o início da doença. Podem ocorrer alterações hematológicas leves, podendo perdurar anos e não apresentar sintomatologia. Quando ocorrem sintomas, podem ser discretos e imperceptíveis. Nesta fase pode ocorrer ainda a persistência variável de anemia, leucopenia e trombocitopenia, também de forma discreta. Existem estudos de cães infectados com *Ehrlichia canis* que também relatam o aumento de algumas proteínas de fase aguda na fase subclínica (GARCIA *et al.*, 2018).

Após este período o animal pode eliminar o microrganismo ou manifestar sintomas da doença novamente, entrando na fase crônica (DAVOUST, 1993; KOMNENOU *et al.*, 2007; FIGUEIREDO, 2011). Mesmo não manifestando sintomas, em alguns casos é possível que haja emaciação, hiporexia e letargia (SANTOS, 2020). Na fase subclínica o prognóstico é variável devido a condição imunológica do animal, bem como a evolução (ALVES; SILVA, 2018).

3.7 FASE CRÔNICA

Cães imunocomprometidos, com baixa eficiência na resposta imunológica, podem progredir para a fase crônica (NASCIMENTO; RIBEIRO; BEZERRA, 2021) Na fase crônica, o sistema imune tem dificuldade em eliminar o agente. As alterações hematológicas são similares à fase aguda, é comum a reagudização dos sintomas, podendo ocorrer hipoplasia e pancitopenia, e o prognóstico pode ser de reservado a ruim, devido à dificuldade de resposta, podendo o animal ir a óbito (GALANT, 2010; SOUSA *et al.*, 2010). O prognóstico é reservado, pois o sistema imune pode ter dificuldade em responder devido as alterações multissistêmicas (PEIXOTO, 2019).

3.8 ACHADOS LABORATORIAIS

Os achados laboratoriais encontrados com maior frequência são trombocitopenia,

anemia e leucopenia, principalmente na fase aguda. As hemorragias são comuns devido a decorrência da destruição de plaqueta (KOMNENOU *et al.*, 2007; GALANT, 2010). A anemia causada pela erliquiose está associada a diminuição da eritropoiese da medula óssea e a lise celular. A trombocitopenia ocorre devido a destruição das plaquetas e sequestro das plaquetas pelo baço (GAUNT *et al.*, 2010). Outras observações em exames bioquímicos podem incluir hipoalbuminemia, hiperglobulinemia, e aumento das atividades séricas de alanina amino transferase (ALT) e fosfatase alcalina (ALP) (HARRUS; WANER; NEER, 2012). Pode ocorrer uma trombocitopenia branda na fase subclínica, mesmo que o animal não apresente sintomas (HARRUS *et al.*, 1997).

O aumento das globulinas é um achado comum em animais infectados com erliquiose, além de alterações imunológicas e bioquímicas (MEYER; HARVEY, 2004). Ademais, estas alterações podem levar a consequências como a infiltração de plasmócitos em órgãos, ativando a resposta humoral podendo causar a deposição de imunoglobulinas nos rins (PEIXOTO, 2019).

De acordo com Codner, Roberts e Ainsworth (1985) e Kuehn e Gaunt (1985) proteínas séricas podem estar aumentadas em 50 a 75% dos cães positivos para *E. canis*. Este aumento nas globulinas beta e gama são caracterizados como hiperglobulinemia. Esta hiperglobulinemia pode ocorrer em todas as fases da erliquiose canina, e este aumento pode levar a hiperviscosidade sérica, podendo causar alterações em plaquetas e vasoconstrição (HARRUS *et al.*, 1998; GOULD *et al.*, 2000). Devido a este aumento de globulinas, pode ocorrer conseqüentemente uma hipoalbuminemia compensatória em decorrência desta elevação de viscosidade e concentração das globulinas (NASCIMENTO; RIBEIRO; BEZERRA, 2021).

3.9 PROTEÍNAS DE FASE AGUDA E IMUNOGLOBULINAS

As proteínas de fase aguda são uma classe de proteínas que podem aumentar ou diminuir durante a injúria, são excelentes biomarcadores de inflamações e infecções. Estudos tem evidenciado relevância para detecção e acompanhamento de doenças subclínicas, além disso pode ser um auxílio para um diagnóstico precoce e mais preciso (CRAY, 2012).

As proteínas de fase aguda e imunoglobulinas, fazem parte da primeira reação da imunidade inata, precedendo a imunidade específica, causada por diversos fatores. No caso das infecções bacterianas, ocorre uma resposta mais intensa das proteínas de fase aguda se comparada a infecções virais, isso ocorre devido à forte reação das células do sistema fagocitário mononuclear a endotoxinas. No caso da *E. canis*, nos cães, a análise proteômica poderia elucidar as alterações de biomarcadores associadas a biomarcadores, podendo ter um melhor entendimento da fisiopatogenia da doença (ESCRIBANO *et al.*, 2017).

A resposta de fase aguda não é específica e não pode ser usada no diagnóstico primário, entretanto, é uma resposta rápida e sensível as alterações da imunidade, fornecendo indícios de que existe uma infecção. Isso ocorre devido a sensibilidade a biomarcadores que podem ser detectados antes do animal apresentar sinais clínicos ou alterações laboratoriais, portanto são considerados biomarcadores precoces de enfermidade (CERÓN; ECKERSALL; MARTÍNEZ-SUBIELA, 2005).

A variação da concentração de proteínas plasmáticas são uma das alterações causadas pela resposta de fase aguda (ECKERSALL, 2000). Estas alterações são consideradas benéficas para o animal, porque possuem caráter bacteriostático, ativando o sistema complemento e realizando a opsonização de microrganismos (GRUYS; OBWOLO; TOUSSAINT, 1994). Podem ocorrer outros efeitos sistêmicos causados pela resposta de fase aguda, como leucocitose, febre, aumento de cortisol, diminuição nas concentrações de tiroxina, zinco e ferro (CERÓN; ECKERSALL; MARTÍNEZ-SUBIELA, 2005).

Durante o processo de uma doença, as proteínas de fase aguda alteram suas concentrações séricas em mais de 25% quando há uma estimulação das citocinas pró-inflamatórias (ECKERSALL; BELL, 2010). No caso da erliquiose, cerca de 50% a 70% dos cães costumam ter variações nas concentrações seroproteicas (CODNER; ROBERTS; AINSWORTH, 1985).

As principais proteínas de fase aguda descrita em cães são a albumina, globulina, pré-albumina ou transtirretina, transferrina, proteína C reativa, AAG, CP, SAA < globulina e fobrinogenio. As proteínas de fase aguda negativas diminuem as concentrações séricas, como a albumina, transferrina e proteína de ligação ao retinol (RODRIGUES, 2011).

O proteínograma determina os padrões de expressão de biomarcadores. Existem variados tipos de proteínas de fase aguda e diversas funções que as mesmas desempenham (ECKERSALL; BELL, 2010). Este exame se tornou uma ferramenta preciosa, pois determina os padrões de expressão de biomarcadores (GRUYS *et al.*, 2005; ESCRIBANO *et al.*, 2017).

3.10 ULTRASSONOGRAFIA

A ultrassonografia é um exame que auxilia no diagnóstico de patologias. Com a utilização do ultrassom na rotina clínica as chances são maiores de tratar patologias iniciais que muitas vezes não são possíveis de se encontrar somente com exames físicos e hematológicos. Se tratando de animais idosos, o uso do ultrassom se faz ainda mais importante, sabendo que cães idosos possuem uma menor eficiência de resposta imunológica. Ademais, com o avanço da veterinária muito se fala em prevenção, o que tem ganhado cada vez mais conscientização por parte de tutores de animais. Possibilitando que o clínico consiga atuar com exames preventivos antes que o animal fique em estado de doença avançado (CASTIGLIONI *et al.*, 2020).

A esplenomegalia é uma alteração que ocorre no baço e pode não ser percebida sem a utilização de exames de imagens. Existem várias causas para essa patologia, porém a mais comum é a erliquiose que pode ocorrer no animal principalmente de forma aguda ou crônica (NITRINI, 2010).

3.11 DIAGNÓSTICO

Existem algumas opções de diagnóstico da doença, entre elas o esfregaço sanguíneo. No esfregaço, quando encontradas as mórulas, pode-se concluir o diagnóstico. No, entretanto, é mais fácil encontrar a mórula quando o animal está na fase aguda da doença (NAKAGHI *et al.*, 2008; GARCIA FILHO *et al.*, 2010). Outras opções são o teste da reação em cadeia da polimerase (PCR), os testes de sorologia do tipo ELISA e técnica de imunofluorescência indireta, que detectam os anticorpos contra *Ehrlichia canis* (HOLANDA *et al.*, 2019). Também são utilizados os kits comerciais de diagnóstico sorológico, que permitem a avaliação de anticorpos para *Ehrlichia spp.* Estes testes podem ser bons aliados no diagnóstico devido a sua rapidez e baixo custo (LEBARTHE *et al.*, 2003; ALVES *et al.*, 2005). Destes testes, o SNAP 4DX, tem se mostrado confiável, sendo capaz de detectar anticorpos de *Ehrlichia canis*, através da utilização de soro ou plasma (GOLDSTEIN *et al.*, 2014).

3.12 TRATAMENTO

Segundo Mathias *et al.* (2020) em animais nas fases aguda e subclínica, o tratamento costuma ser mais eficiente, a indicação é terapia de suporte associado a fármacos antibacterianos, sendo a doxiciclina um fármaco de eleição.

3.13 FASE SENIL

Cães de pequeno e médio porte podem ser considerados idosos a partir de sete anos de vida, já os cães de porte grande e gigante são considerados idosos a partir de cinco ou seis anos (BUDE *et al.*, 1992).

Na fase senil ocorrem mudanças progressivas no animal, levando a diminuição da capacidade dos órgãos e da capacidade de resposta imune diante de desafios. Segundo Silva (2015), fatores como idade do animal, raça, alimentação e doenças concomitantes podem levar as enfermidades, em geral, a apresentarem quadros mais severos.

Existe hoje um grande aumento de cães senis na rotina clínica, devido a uma maior conscientização em relação a cuidados de pequenos animais. Sendo assim, é importante encontrar condutas estratégicas preventivas para a detecção precoce de doenças, para consequentemente melhorar o prognóstico (SEOANE, 2010).

Em específico para a erliquiose, diante da alta incidência de casos que chegam a fase crônica, em especial em animais senis, é importante que se tenha ferramentas eficazes que possam auxiliar no diagnóstico desta doença ainda na fase subclínica.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O projeto de pesquisa, realizado com animais atendidos no Hospital Veterinário da UEM, Campus Regional de Umuarama e no consultório veterinário Uauqmia, Maringá, Paraná, foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Estadual de Maringá (UEM), protocolo número 1563181022.

4.1 PRÉ-SELEÇÃO DOS ANIMAIS

Foram selecionados, para o experimento, cães senis, com idade acima de 8 anos, sem distinção de porte, sexo ou raça, que foram atendidos no Hospital Veterinário da UEM, Campus Regional de Umuarama e na Consultório Veterinário Uauqmia, em Maringá, para realização de check-up.

Destes animais, foi primeiramente realizado a anamnese, como consta na Tabela 1. Após realização da anamnese, foi realizado o exame físico, onde foram observados os parâmetros dispostos na Tabela 2. Assim sendo, apenas cães assintomáticos foram selecionados para o experimento.

Tabela 1 – Ficha de anamnese

Identificação do animal	Idade – Raça
Manejo	Contactantes? Quantos? Espécies? Saudáveis?
Sintoma	Assintomático? Hiporexia? Outros? Descrever
História médica recente	O que. Quando. Como. Evolução. Tratamento. Carrapatos? Pulgas? Medicamento para controle no animal? Medicamento para controle do ambiente?
Presença de ectoparasitas	Quando viu carrapato da última vez no animal? Histórico de infestação? Qual medicamento foi utilizado? Animal já teve erliquiose ou outra doença causada por carrapato?
Sistema digestório	Alimentação? Normorexia? Hiporexia? Polifagia? Anorexia? Parorexia? Odinofagia? Disfagia?
Vômito	Odor? Hematêmese? Regurgitação? Frequência. Aspecto. Sialorreia?
Ingestão de água	Normodpsia? Polidpsia? Hipo/Oligodpsia? Adipsia?
Fezes	Duras? Moles? Pastosas? Líquidas? Coloração? Constipação? Obstipação? Incontinência? Diarréia? esteatorréia? Tenesmo? Disquezia? Hematoquezia? Melena?
Sistema geniturinário	Urinando? Volume? Oligúria? Poliúria? Anúria? Polaquiúria? Oligosúria? Hematúria? Polaquiúria?
Sistema nervoso	Mudança de comportamento? Convulsões?
Deambulação	Dificuldade para andar? Ataxia? Dismetria? Hipermetria? Hipometria? Dificuldade para subir escadas/móveis?

Fonte: Elaborada pela autora (2023).

Tabela 2 – Ficha de exame físico

Parâmetros	Temperatura retal. TPC. Batimento cardíaco. Ausculta pulmonar.
Mucosas	Hiporadas. Normocoradas. Hiperacoradas. Congestas. Ictéricas. Cianóticas.
Nível de consciência	Normal. Alerta. Diminuído. Agitado. Apático.
Condição física	Normal. Sobrepeso. Abaixo do peso. Caquético.
Pelame	Brilhoso. Quabradiço. Ixodidiose. Puliciose. Carrapatos. Pulgas.
Linfonodos reativos	Submandibulares. Pré-escapulares. Poplíteos. Inguinal.
Observações gerais	

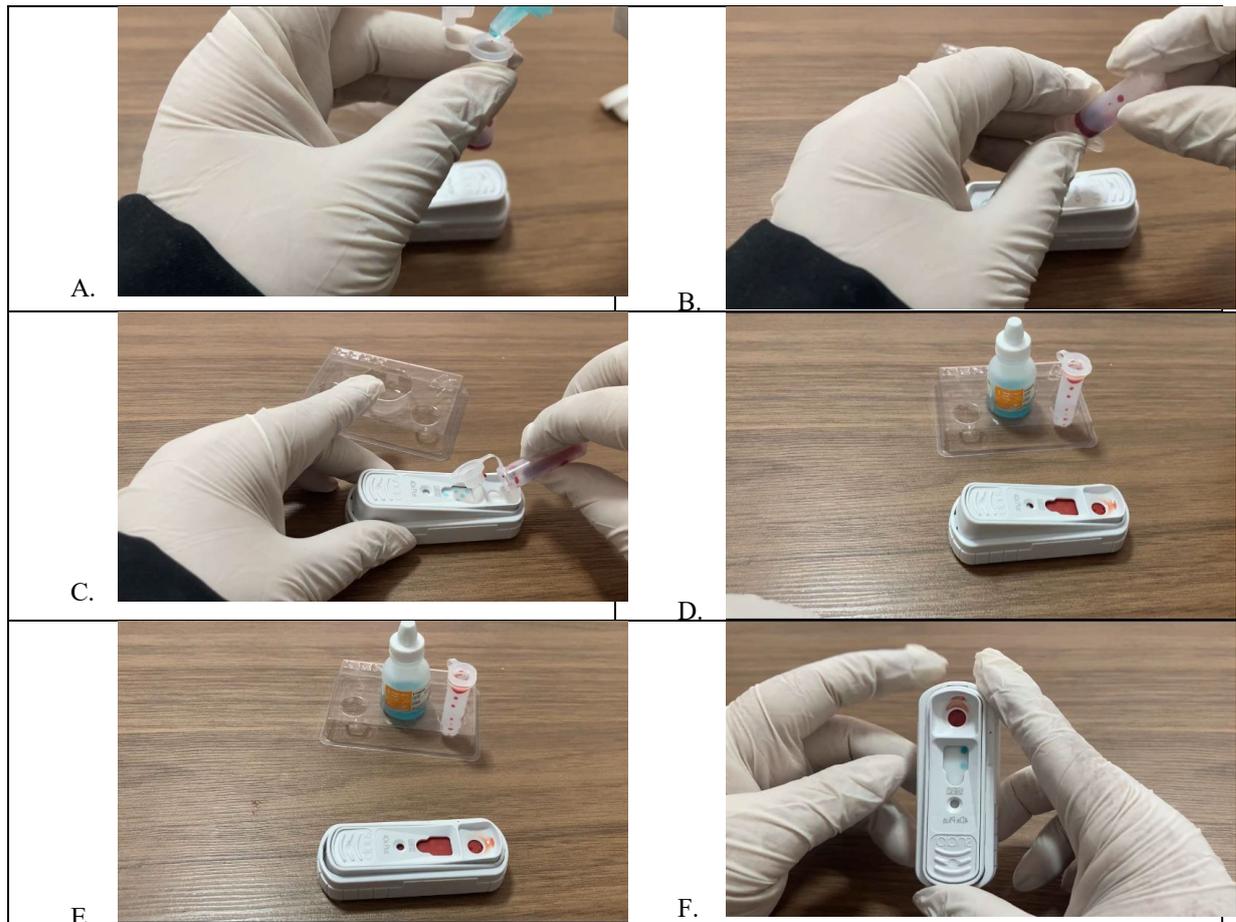
Fonte: Elaborada pela autora (2023).

4.2 DISTRIBUIÇÃO DOS GRUPOS EXPERIMENTAIS

Foi realizado o exame de ultrassonografia abdominal de todos os cães aparentemente saudáveis e assintomáticos que foram selecionados para o experimento. Foi utilizado o aparelho de ultrassom com Doppler colorido (Z6 Vet, Mindray®). Os exames foram realizados sem sedação e sem período de jejum. Foi realizado a tricotomia da região abdominal. Os cães foram colocados em decúbito dorsal, e foi utilizado o gel hidrossolúvel para evitar produção de artefatos na imagem. O aparelho de ultrassom ficou à frente do examinador e a esquerda do paciente. O transdutor foi posicionado no tórax do animal. A imagem no monitor é dividida num plano sagital, em ventral, dorsal, cranial e caudal, e num plano transversal. Foi realizado então a varredura nos órgãos de todo abdome.

Após a realização da ultrassonografia, todos os animais foram submetidos ao teste rápido 4dx Plus (Idex) para detecção da *Ehrlichia canis*. Para isso, foi coletado amostra de sangue, mediante a assepsia local com álcool iodado e punção da veia jugular utilizando seringa de 5 ml e agulha 25/7. Após a realização da coleta, 3 gotas da amostra foram misturadas a 4 gotas do líquido conjugado (Figura A), utilizando a pipeta inclusa no kit. Após misturar, foi realizado a homogeneização da amostra com o conjugado, invertendo de 3 a 5 vezes (Figura B), conforme a instrução do produto. Foi colocado então o conteúdo do tubo da amostra no dispositivo (figura C). Assim que a amostra começou a fluir, alcançando o círculo de ativação (30 a 60 segundos) (Figura D), foi empurrado o ativador até que o dispositivo ficasse nivelado (Figura E). O resultado foi obtido em média em 8 minutos (Figura F).

Figura 1 – Realização do teste 4dx Plus



A) utilizando a pipeta inclusa no kit, foram colocadas 3 gotas de amostra no tubo, mantendo o frasco na posição vertical, foram acrescentadas 4 gotas do conjugado. B) com o tubo tampado, foi realizado a homogeneização de 3 a 5 vezes. C) O conteúdo do tubo foi acrescentado no dispositivo. D) A amostra fluindo para a janela de resultado. E) Após a cor aparecer no círculo de ativação, foi empurrado o ativador. F) Após 8 minutos, leitura do resultado positivo.

Fonte: Arquivo pessoal (2023).

Desta forma, os grupos experimentais foram assim distribuídos:

- **Grupo 1 (G1):** 10 cães senis (8 anos ou mais) sadios negativos no teste para a *Ehrlichia canis*.
- **Grupo 2 (G2):** 15 cães senis (8 anos ou mais) assintomáticos e positivos no teste para a *Ehrlichia canis*.

4.3 COLETA E PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS DE SANGUE

Após a realização da anamnese, exame físico, ultrassonografia abdominal e teste rápido 4dx Plus (Idex) para detecção da *Ehrlichia canis*, amostras de sangue foram coletadas mediante antisepsia local com álcool e punção da veia jugular utilizando seringa de 5 ml e agulha nº 25/7. Após coleta das amostras, estas foram cuidadosamente transferidas para tubos plásticos

siliconizados contendo EDTA (BD Vacutainer, 4,0 mL), para realização do hemograma. Foram também cuidadosamente transferidas para tubos plásticos siliconizados sem anticoagulante (BD Vacutainer, 10 mL), para realização do perfil bioquímico-sérico e proteinograma (SDS-PAGE).

Para obtenção do soro sanguíneo, as amostras coletadas em tubos plásticos siliconizados sem anticoagulante foram centrifugadas a $1000 \times g$, por 10 minutos, após a retração do coágulo, e alíquotas de 1,5 ml do soro foram armazenadas em tubos Eppendorf e congelados ($-20^{\circ} C$) até o momento de análise dos parâmetros do perfil bioquímico-sérico e proteinograma (SDS-PAGE).

4.4 ANÁLISES LABORATORIAIS

4.4.1 Hemograma

De cada amostra de sangue venoso, colhida com anticoagulante EDTA, foram aferidos os dados relativos às contagens de hemácias, contagem de leucócitos, contagem de plaquetas e teores de hemoglobina, em aparelho automático. O hematócrito foi obtido a partir de microtubos de 50 uL submetidos à centrifugação a 1.500 G, durante 5 minutos. A contagem diferencial de leucócitos foi realizada a partir da contagem em esfregaço sanguíneo corado (Panótico Rápido, Laborclin LTDA, Pinhais, Paraná, Brasil) de 100 células, em microscopia óptica (GARCIA-NAVARRO, 2005).

A partir da contagem de hemácias e avaliação do hematócrito e teores de hemoglobina, foram calculados os índices hematimétricos, sendo eles: volume corpuscular médio (VCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM).

4.4.2 Análise do perfil bioquímico-sérico

Foram avaliadas/calculadas as concentrações/atividade séricas de 13 variáveis, sendo estas: cloretos (Cl), cálcio total (Ca), fósforo (P), proteínas totais, albumina, globulinas, ureia, creatinina, colesterol, triglicérides, alanina aminotransferase (ALT), fosfatase alcalina (ALP) e creatinoquinase (CK).

Os testes foram realizados utilizando-se conjuntos de reagentes de uso comercial (Labtest Diagnóstica, Lagoa Santa, Minas Gerais, Brasil). As leituras dos parâmetros bioquímicos foram realizadas em espectrofotômetro semi-automático (Labquest, Labtest Diagnóstica, Lagoa Santa, Minas Gerais, Brasil.), com comprimentos de onda específicos para

cada constituinte. Os comprimentos de onda exigidos e princípios de cada teste estão listados na Tabela 3.

Tabela 3 – Métodos analíticos utilizados para análise das variáveis do perfil bioquímico sérico de cães do G1 e do G2

Variáveis	Métodos	Absorbância do Teste
ALT	UV-IFCC Cinético ¹	340 nm
ALP	Bowers e McComb modificado ¹	405 nm
CK	IFCC Cinético ¹	340 nm
Creatinina	Picrato alcalino – Jaffé ¹	500–540 nm
Ureia	UV enzimático ¹	340 nm
Colesterol	Trinder enzimático ¹	490–510 nm
Triglicérides		
Ca Total	CPC – cresolftaleína ¹	550–590 nm
P	Daly e Ertingshausen modificado ¹	340 nm
Cl	Labtest – Tiocianato de mercúrio ¹	450–510 nm
Proteína Total	Biureto ¹	530–550 nm
Albumina	Verde de bromocresol ¹	600–640 nm
Globulinas	Calculado: Proteína Total - Albumina	–

Fonte: IFCC, International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine.

¹ Labquest semi-automatic analyzer, Labtest Diagnostic, Lagoa Santa, MG, Brazil.

4.4.3 Análise do proteinograma sérico utilizando a técnica de eletroforese em gel de poliacrilamida contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE)

O SDS-PAGE foi realizado seguindo recomendações de Laemmli (1970), onde foram separadas as frações proteicas do soro sanguíneo. Estas frações protéicas foram analisadas e identificadas utilizando programa computacional específico, permitindo o estudo de proteínas de fase aguda e imunoglobulinas.

4.5 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

As variáveis foram submetidas à análise de variância (ANOVA) e ao teste de Tukey para comparação entre pares de médias (G1 x G2), ao nível de 5% de significância. As análises estatísticas foram efetuadas com auxílio de um programa estatístico computadorizado (Graphpad Prism Versão 9.1).

Os valores de referência foram utilizados conforme dados publicados por SCHALM's veterinary hematology (2000).

5 RESULTADOS

5.1 HEMOGRAMA

5.1.1 Eritrograma e Plaquetograma

Não houve diferença estatística significativa entre os grupos avaliados para as variáveis hemácias, hematócrito, hemoglobina, VCM e proteínas plasmáticas totais. Entretanto, no que se refere a variável CHMC, houve um aumento significativo no G2 em relação ao G1 (Tabela 4).

Ao que se refere as plaquetas, houve uma redução significativa das plaquetas dos animais do grupo infectado com erliquiose, em relação aos animais saudáveis, do grupo controle. Sendo também possível observar no gráfico de dispersão 1 em que o grupo 2 permanece concentrado em sua maioria abaixo dos valores de referência, enquanto o grupo 1 encontra-se disperso, dentro e acima dos valores de referência podemos observar uma dispersão homogênea dos parâmetros avaliados de hemácias, hemoglobina, hematócrito e volume corpuscular médio.

Quando avaliados os parâmetros em relação aos valores de referência para a espécie, observa-se que os cães do G2, apresentaram valores abaixo dos valores de referência de hemácias (13,33%), hematócrito (20%) e hemoglobina (26,67%) indicando que haviam animais com anemia.

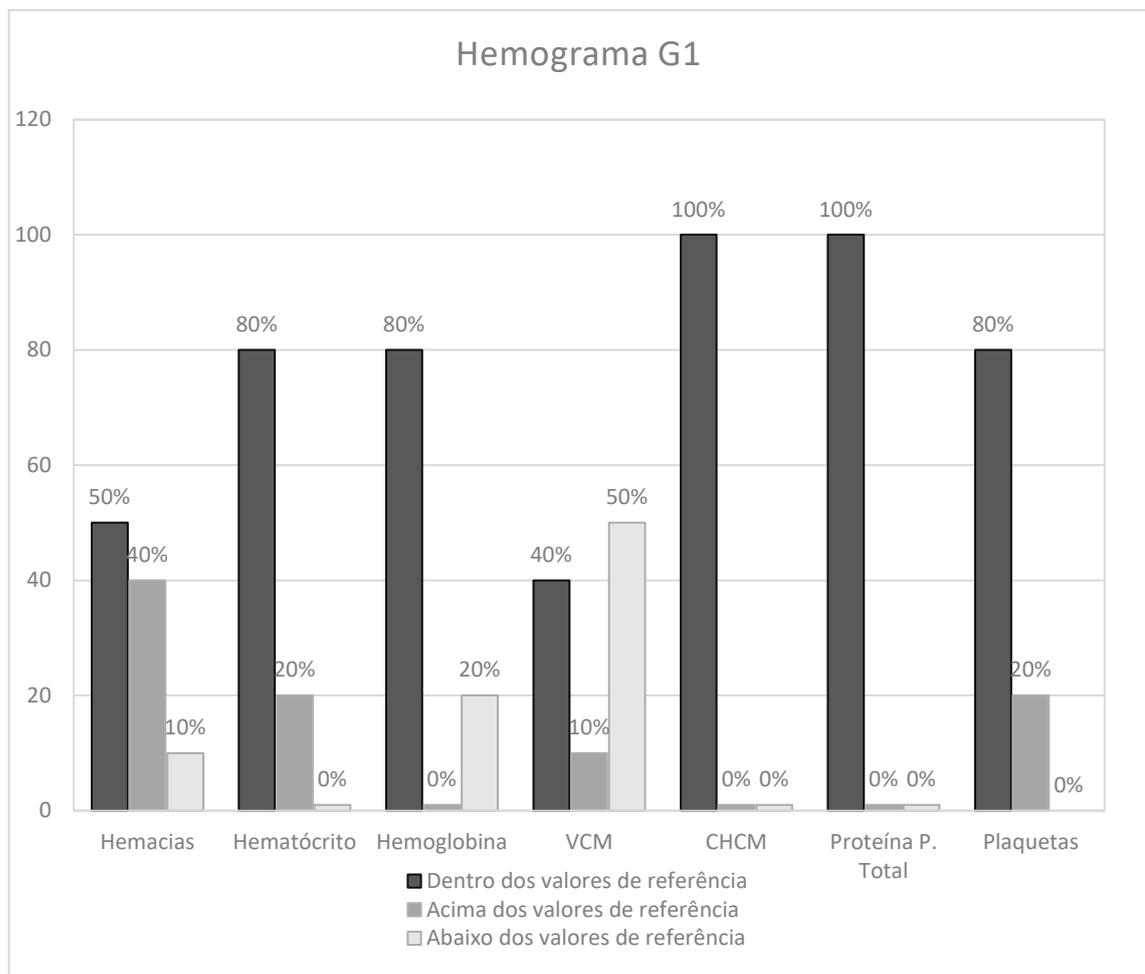
Já no caso das plaquetas, 33,3 % dos animais do G2 apresentaram trombocitopenia, devido as plaquetas estarem abaixo dos valores de referência (Gráfico 2).

Tabela 4 – Perfil hematológico de amostras de cães senis saudios (G1) e com erliquiose (G2)

Variáveis	Unidades	Grupos	Estatística				p-value
			Média	Desvio padrão	Valor mínimo	Valor máximo	
Hemácias	x10 ⁶ /Ml	G1	7,383A	1,254	4,95	9	p=0,1938
		G2	6,645A	1,41	2,3	8,24	
Hematócrito	%	G1	44,9 A	3,579	40	51	p=0,1675
		G2	41,47A	6,999	25	51	
Hemoglobina	g/dL	G1	14,95A	1,196	13,3	17	p=0,8273
		G2	15,17A	2,961	8,5	20,5	
VCM	fL	G1	62,33A	10,75	48,89	80,81	p=0,666
		G2	64,52A	13,10	49,59	108,7	
CHCM	g/dL	G1	33,29A	0,05055	33,18	33,33	p=0,0001
		G2	36,45B	1,959	33,16	40,2	
PPT	g/dL	G1	7,19 A	0,3843	6,5	7,8	p=0,8273
		G2	8,025A	1,744	6,8	10,5	
Plaquetas	/μL	G1	483100A	138723	316000	780000	p=0,0001
		G2	228333B	96946	90000	399000	

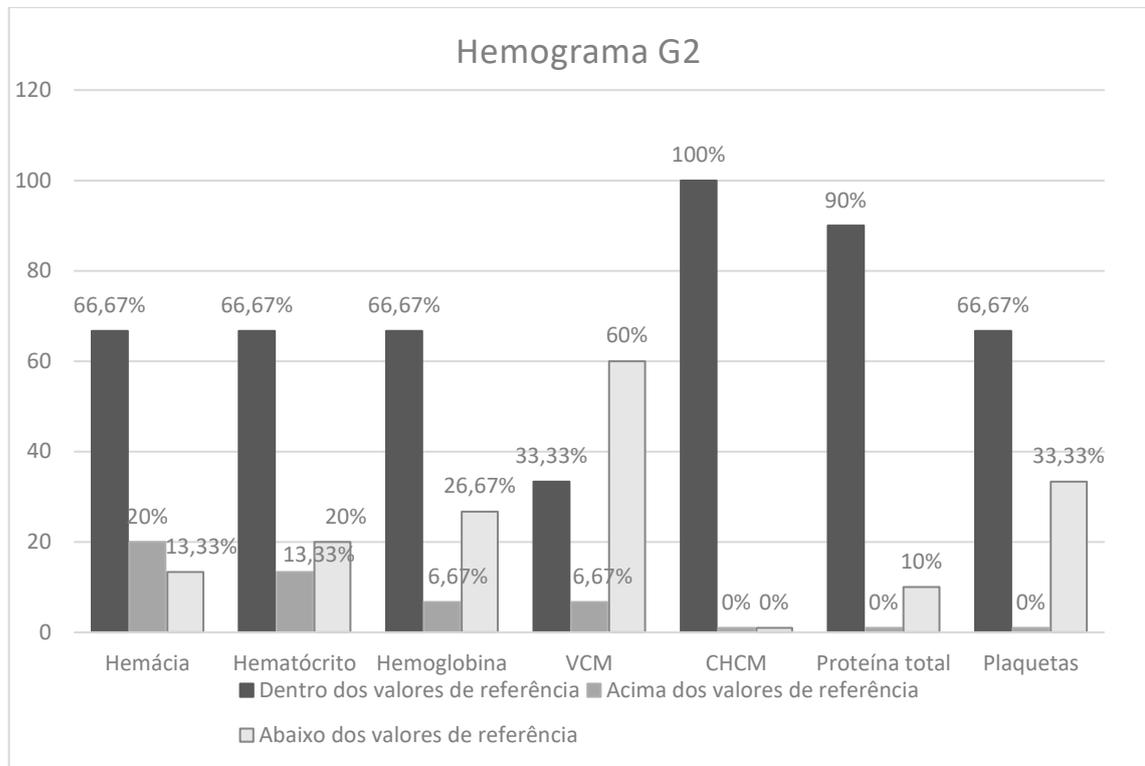
Fonte: Elaborado pela autora (2023).

Gráfico 1 – Eritrograma e plaquetograma dos 10 cães do grupo controle. Dados dispostos em forma de porcentagem de animais que apresentaram as respectivas variáveis, sendo avaliados se estão abaixo, dentro ou acima dos valores de referência



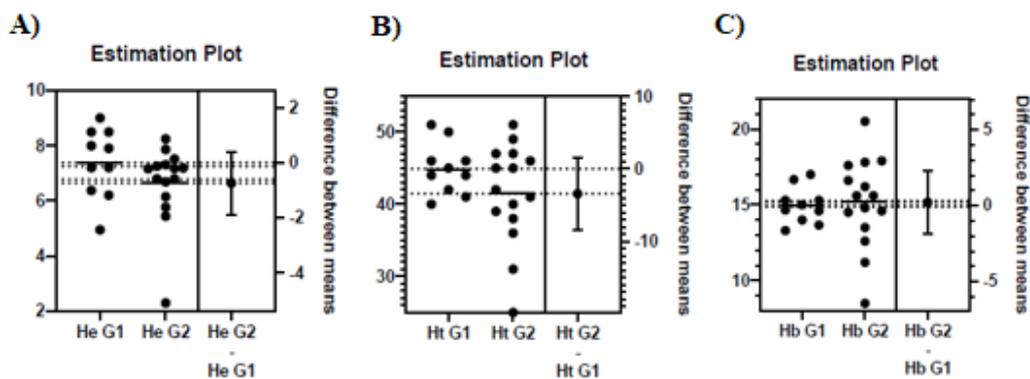
Fonte: Elaborado pela autora (2023).

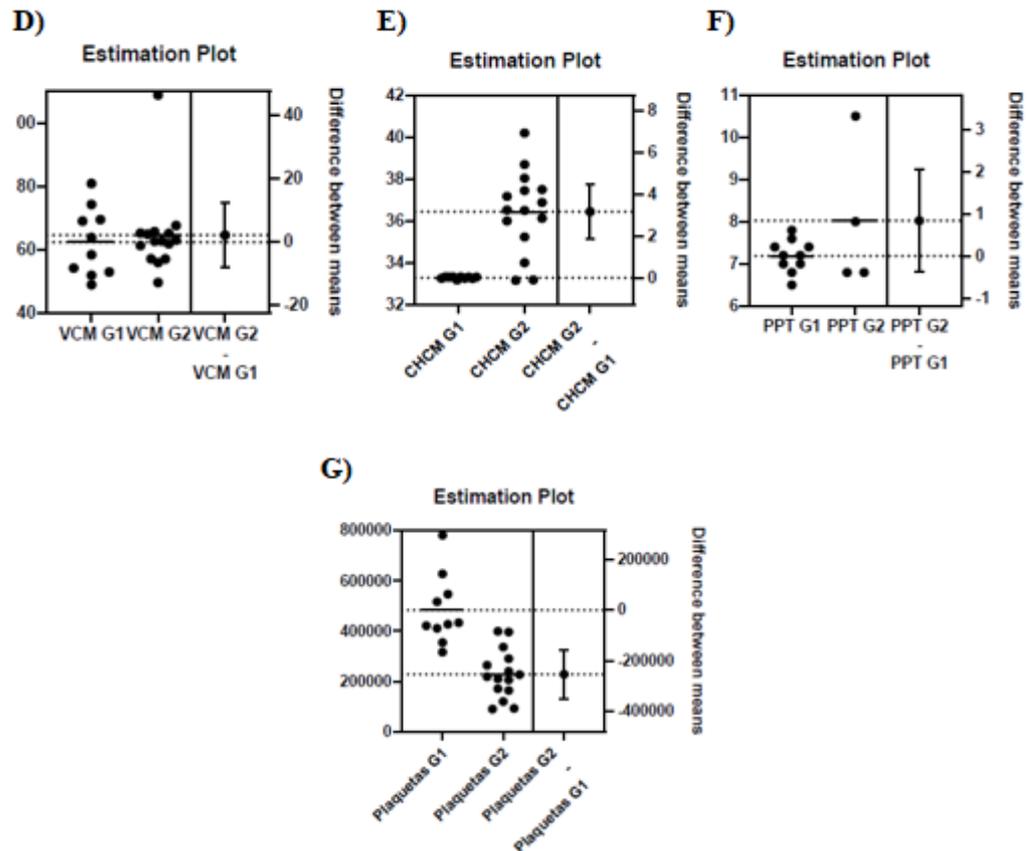
Gráfico 2 – Eritrograma e plaquetograma dos 15 cães positivos para *Ehrlichia canis*. Dados dispostos em forma de porcentagem de animais que apresentaram as respectivas variáveis, sendo avaliados se estão abaixo, dentro ou acima dos valores de referência



Fonte: Elaborado pela autora (2023).

Gráfico de dispersão 1 – Dispersão dos valores apresentados pelos animais do grupo controle (G1) e grupo infectado (G2) na avaliação dos parâmetros: Hemácia (A); Hematócrito (B); Hemoglobina (C); VCM (D); CHCM (E); Proteína plasmática total (F); Plaquetas (G). É possível observar os valores de forma individual, bem como sua variação e média





Fonte: Elaborado pela autora (2023).

5.1.2 Leucograma

Não foram observadas diferenças estatísticas significativas entre o G1 e G2 para contagem de leucócitos totais, neutrófilos bastonetes, linfócitos e eosinófilos (Tabela 5). No gráfico de dispersão 2, podemos observar uma dispersão homogênea entre estes parâmetros avaliados. Porém, houve uma diferença estatística significativa para a contagem de neutrófilos segmentados e monócitos, havendo uma redução dos dois parâmetros dos animais do G2 em relação ao G1 (Tabela 5).

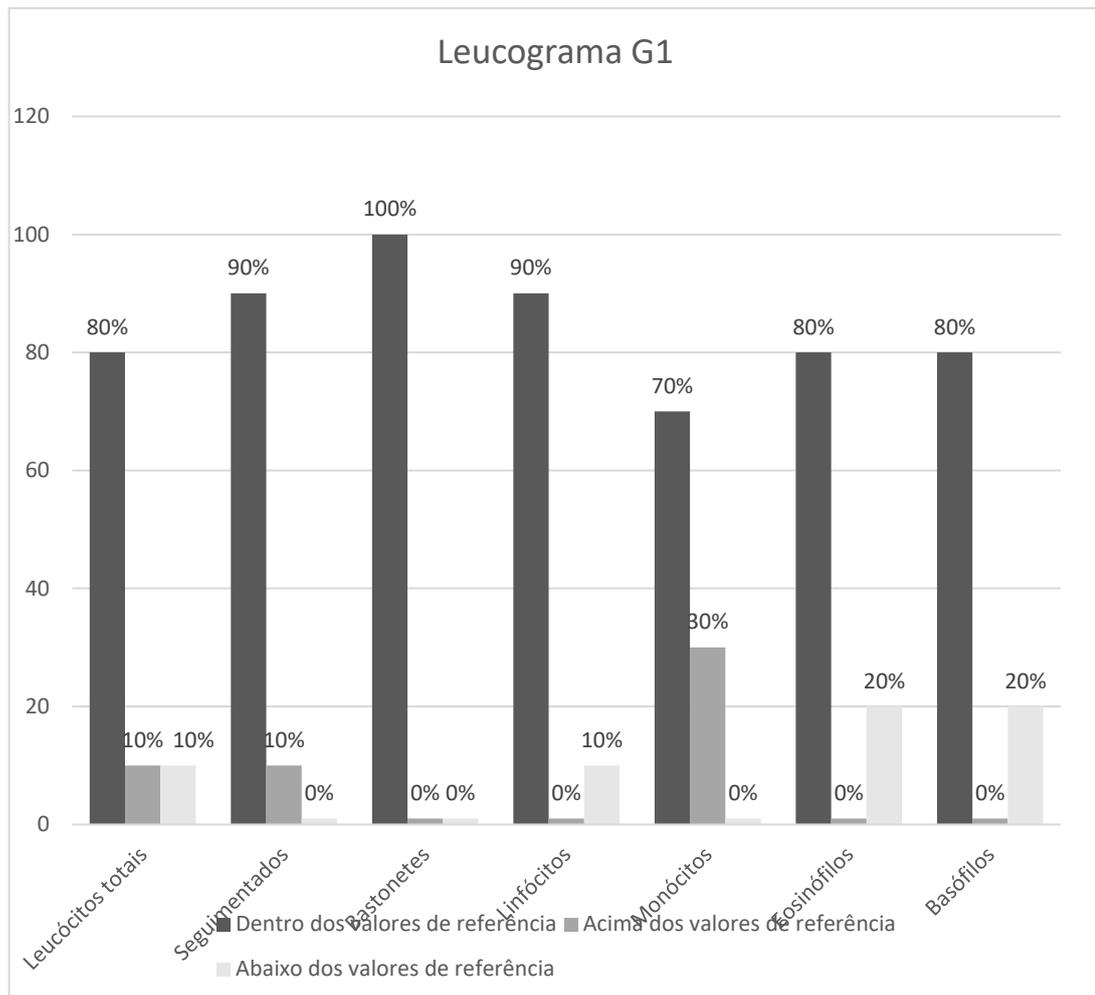
Quando avaliados os parâmetros em relação aos valores de referência para a espécie, no G2, 33,33 % dos animais apresentaram leucopenia. Em relação aos neutrófilos, 6,67% dos animais apresentaram neutropenia com desvio a esquerda. Ademais, 20,0 % dos animais infectados apresentaram linfopenia, e 6,67 % apresentaram linfocitose. Em relação aos monócitos, 46,67 % dos animais apresentaram monocitopenia. Em relação a contagem de eosinófilos, 40,0 % apresentaram eosinopenia.

Tabela 5 – Tabela comparativa de parâmetros de leucograma do grupo 1 controle e grupo 2 infectado

Variáveis	Unidades	Grupos	Estatística				p-value
			Média	Desvio padrão	Valor mínimo	Valor máximo	
Leucócitos totais	μL	G1	10430 A	3930	5300	19100	p=0,3601
		G2	8947 A	3865	3700	16800	
Neutrófilos segmentados	μL	G1	7717 A	2970	3445	13370	p=0,0489
		G2	5348 B	2656	37	11760	
Neutrófilos bastonetes	μL	G1	5,3 A	16,76	0	53	p=0,3912
		G2	27,8 A	79,72	0	291	
Linfócitos	μL	G1	1433 A	909,6	203	3438	p=0,0806
		G2	2945 A	2492	168	9894	
Monócitos	μL	G1	757,1 A	518,6	202	1910	p=0,0023
		G2	227,5 B	249,6	0	840	
Eosinófilos	μL	G1	517,5 A	398,5	0	1325	p=0,5355
		As\G2	398,5 A	500,9	0	1344	
Basófilos	μL	G1	0 A	0	0	0	p=0
		G2	0 A	0	0	0	

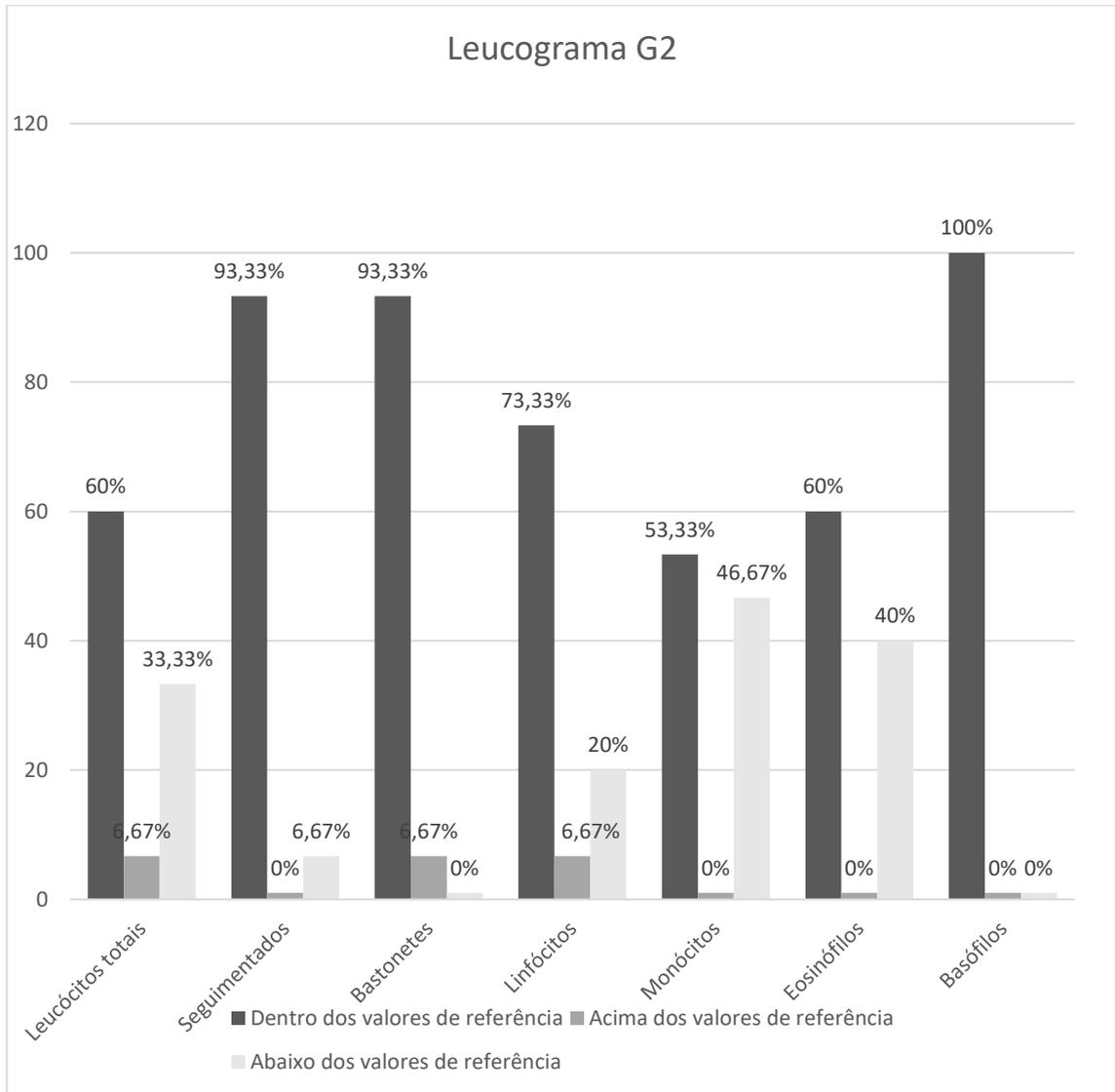
Fonte: Elaborado pela autora (2023).

Gráfico 3 – Leucograma dos 10 cães do grupo controle. Dados dispostos em forma de porcentagem de animais que apresentaram as respectivas variáveis, sendo avaliados se estão abaixo, dentro ou acima dos valores de referência



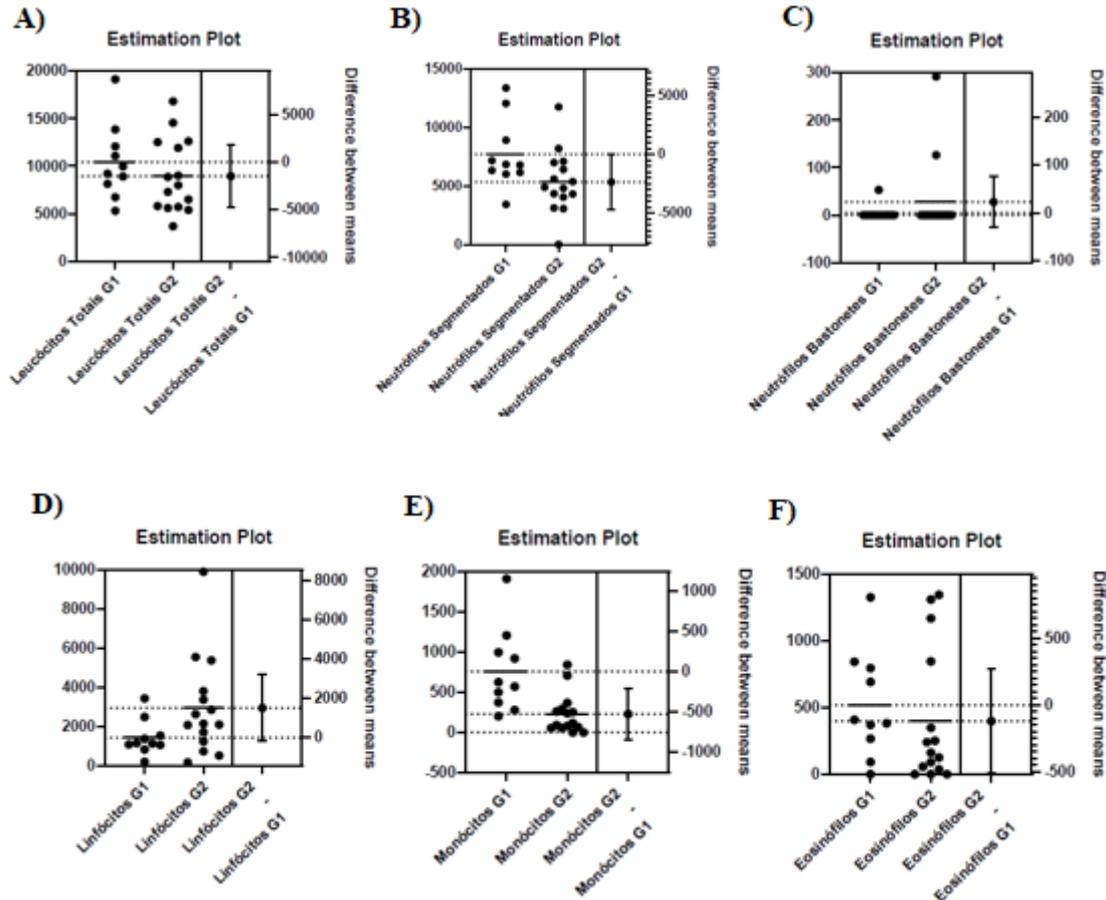
Fonte: Elaborado pela autora (2023).

Gráfico 4 – Leucograma dos 15 cães positivos para *Ehrlichia canis*. Dados dispostos em forma de porcentagem de animais que apresentaram as respectivas variáveis, sendo avaliados se estão abaixo, dentro ou acima dos valores de referência



Fonte: Elaborado pela autora (2023).

Gráfico de dispersão 2 – Dispersão dos valores apresentados pelos animais do grupo controle (G1) e grupo infectado (G2) na avaliação dos parâmetros: Leucócitos totais (A); Neutrófilos segmentados (B); Neutrófilos bastonetes (C); Linfócitos (D); Monócitos (E); Eosinófilos. Possível observar os valores de forma individual, bem como sua variação e média



Fonte: Elaborado pela autora (2023).

5.2 PERFIL BIOQUÍMICO SÉRICO

Em relação ao perfil bioquímico sérico, não foram constatadas diferenças estatísticas entre G1 e G2 para as concentrações/atividades séricas de proteína total, creatinoquinase (CK), alanina aminotransferase (ALT), fosfatase alcalina (ALP), triglicérides, colesterol (Tabela 4), creatinina, ureia e fósforo (Tabela 4). É possível observar uma distribuição homogênea destes parâmetros bioquímicos dispostos no gráfico de dispersão 3.

Entretanto, observou-se diferença estatística significativas para as concentrações de albumina, com redução dos valores no G2 em relação ao G1. Já em relação as globulinas, constatou-se um aumento significativo do G2 em relação ao G1 (Tabela 7). Em relação ao cálcio total, também constatou-se uma diferença estatística significativa entre grupos, ocorrendo uma redução das concentrações dos animais do G2 em relação ao G1. Semelhantemente observou-

se uma redução das concentrações de cloretos em G2 quando comparado ao G1 (Tabela 6). Essa redução também pode ser observada, no gráfico de dispersão 3.

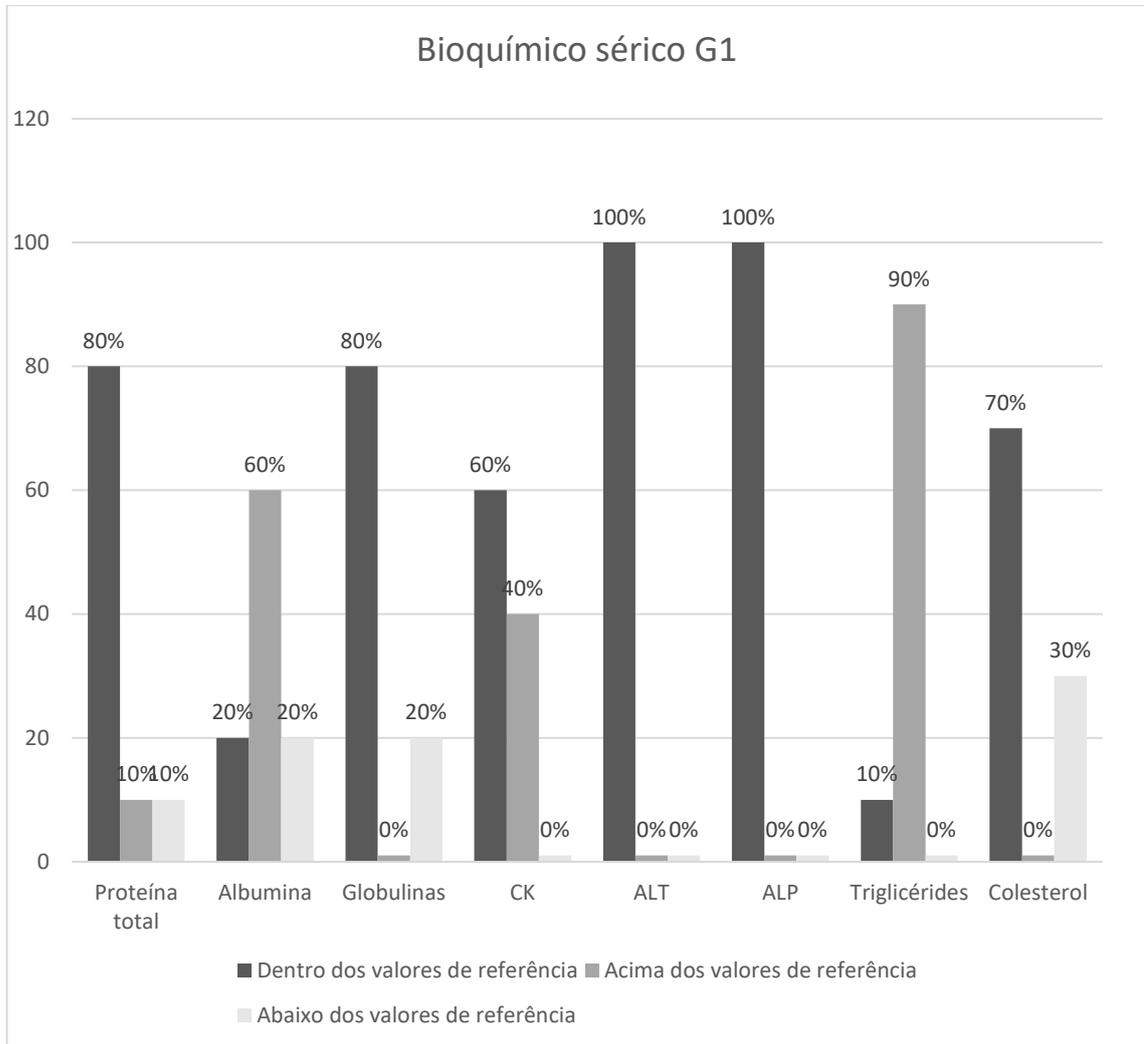
Quando avaliados os parâmetros em relação aos valores de referência para a espécie (gráficos 5 e 6), observou-se que 33,3% dos animais apresentaram hipoalbuminemia e hiperglobulinemia. Em relação a CK, 11,11% dos animais apresentaram atividade sérica acima dos valores de referência. Em relação a ALT e ALP, todos os animais do G2 apresentaram valores dentro dos intervalos de referência. Já para os triglicérides a maioria dos animais (77,78%) do G2 apresentaram valores acima dos valores de referência. As concentrações de colesterol estavam abaixo dos valores de referência para 9,09% dos animais e acima para 36,36% dos animais.

Tabela 6 – Perfil bioquímico sérico de catabólitos de amostras de sangue de cães saudáveis (G1) e com erliquiose (G2)

Variáveis	Unidades	Grupos	Estatística				p-value
			Média	Desvio padrão	Valor mínimo	Valor máximo	
Proteína	µL	G1	6,421 A	0,5546	5,35	6,97	p=0,6238
		G2	6,755 A	1,785	4,24	9,48	
Albumina	µL	G1	3,431 A	0,58	2,228	3,993	p=0,006
		G2	2,197 B	0,8131	1,102	2,924	
Globulinas	µL	G1	2,99 A	0,4281	2,3	3,75	p=0,0304
		G2	4,558 B	1,761	2,79	6,84	
CK	µL	G1	117,8 A	60,82	32	210,5	p=0,9605
		G2	120 A	128,7	24	453,3	
ALT	µL	G1	40,33 A	18,99	12,22	75,08	p=0,3506
		G2	48,68 A	22,57	13	90	
ALP	µL	G1	51,7 A	24,22	19	93	p=0,3087
		G2	66,08 A	37,93	16	131	
Triglicérides	µL	G1	200,8 A	69,97	99	319	p=0,8245
		G2	209,1 A	90,59	83	323	
Colesterol	µL	G1	164,4 A	38,66	106	275	p= 0,57
		G2	195,7 A	103,99	105	397	

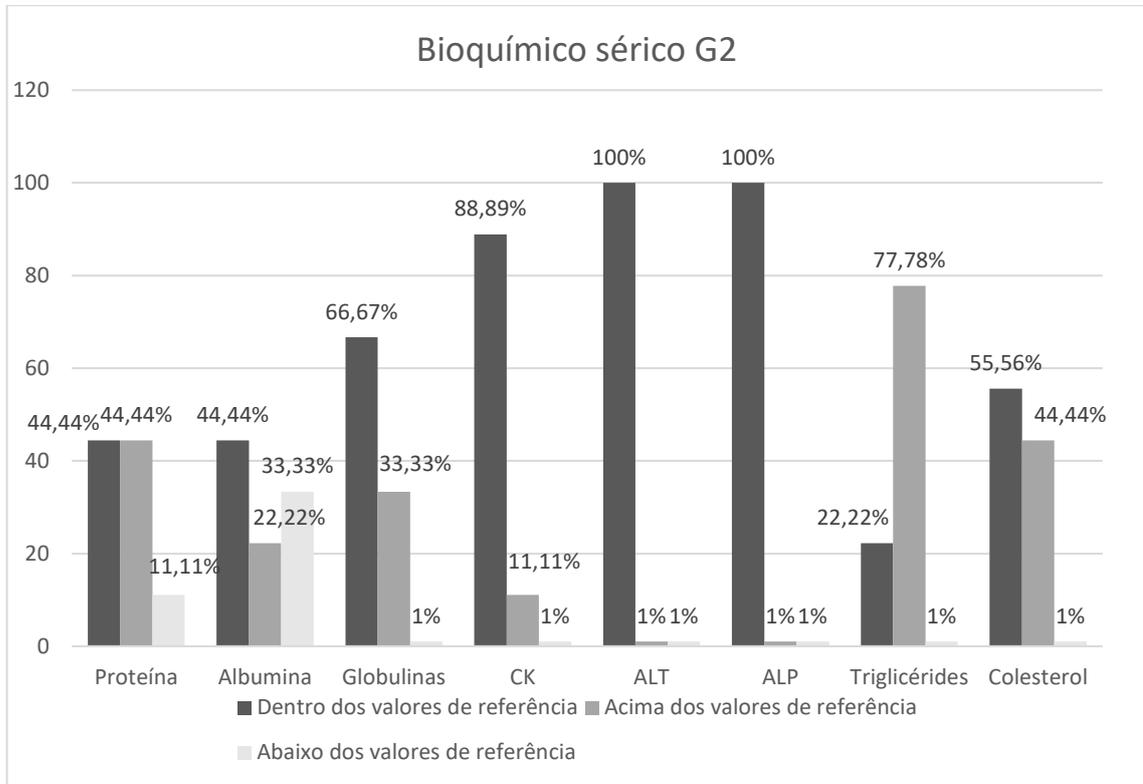
Fonte: Elaborado pela autora (2023).

Gráfico 5 – Bioquímico dos 10 cães do grupo controle. Dados dispostos em forma de porcentagem de animais que apresentaram as respectivas variáveis, sendo avaliados se estão abaixo, dentro ou acima dos valores de referência



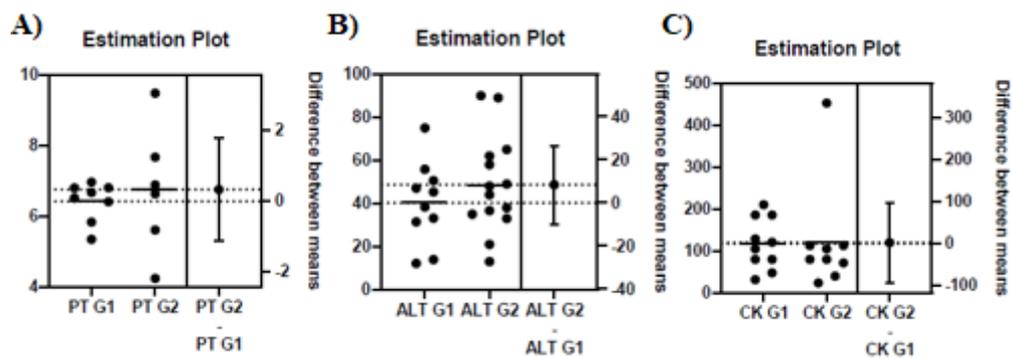
Fonte: Elaborado pela autora (2023).

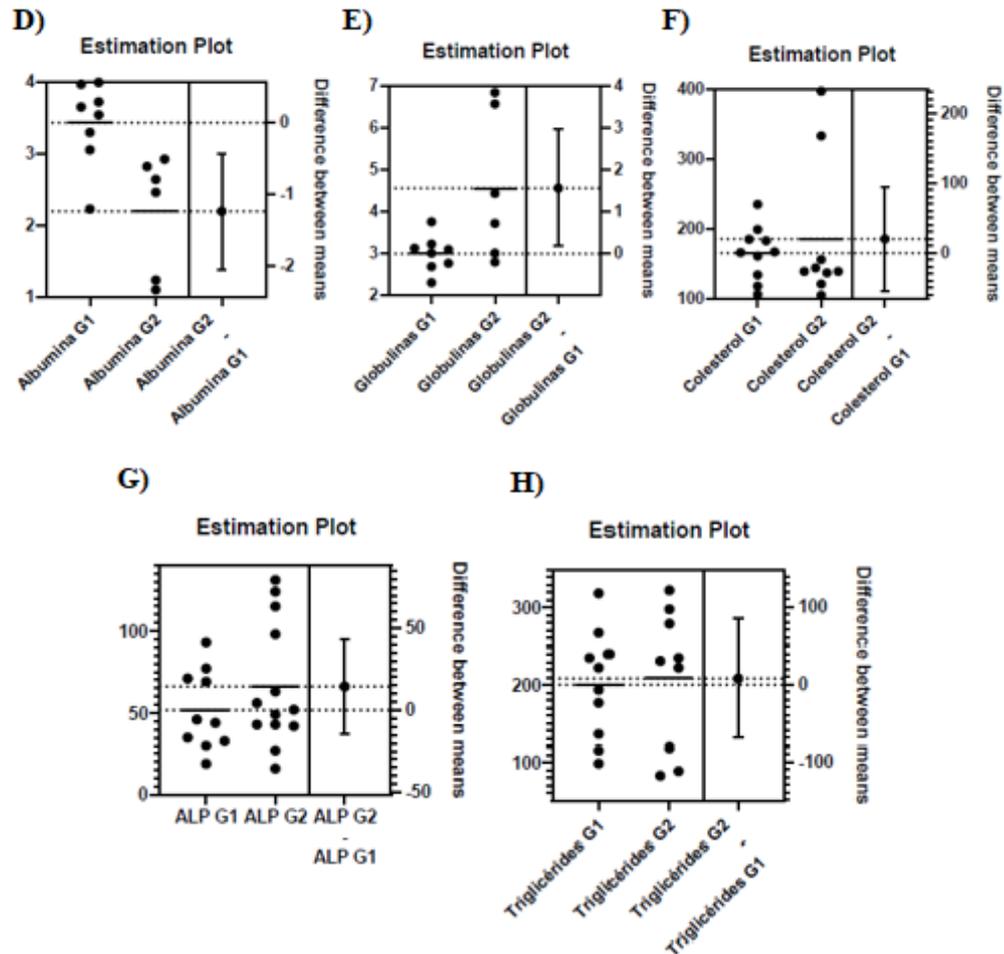
Gráfico 6 – Bioquímico dos 15 cães positivos para *Ehrlichia canis*. Dados dispostos em forma de porcentagem de animais que apresentaram as respectivas variáveis, sendo avaliados se estão abaixo, dentro ou acima dos valores de referência



Fonte: Elaborada pela autora (2023).

Gráfico de dispersão 3 – Dispersão dos valores apresentados pelos animais do grupo controle (G1) e grupo infectado (G2) na avaliação dos parâmetros: Proteína sérica total (A); ALT (B); Creatinoquinase (C); Albumina (D); Globulinas (E); Colesterol (F); ALP (G); Triglicérides (I). É possível observar os valores de forma individual, bem como sua variação e média





Fonte: Elaborado pela autora (2023).

Em relação a creatinina, todos os animais do G2 apresentam concentrações dentro dos valores de referencia. De forma diferente, 6,67% dos animais apresentaram concentrações de ureia abaixo dos valores de referencia, 77,78% apresentaram concentrações de cálcio total abaixo dos valores de referencia e 16,67% apresentaram concentrações de fósforo abaixo dos valores de referencia. Em relação aos cloretos, 55,56% dos animais do G2 apresentaram valores acima dos valores de referência para a espécie.

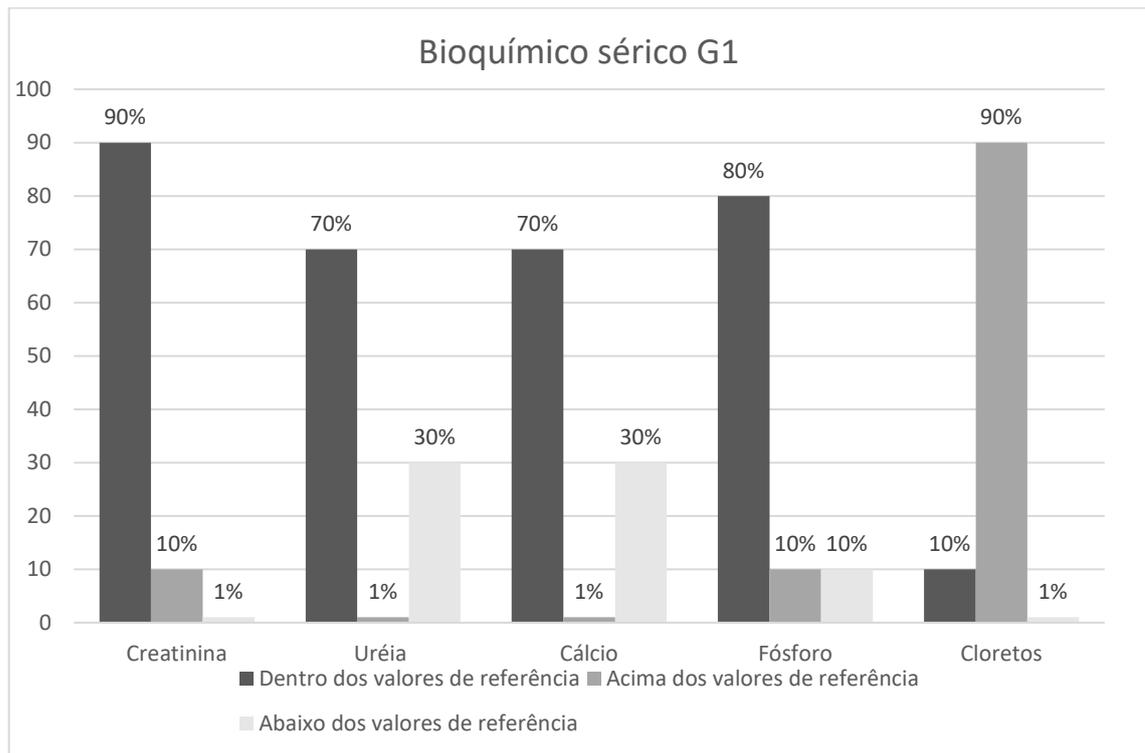
Proteína total, Ck, Alt, Alp, Triglicerides e colesterol apresentaram dispersão homogênea, não possuindo diferença estatística, entretanto albumina e globulinas apresentaram grau de dispersão. Albumina se encontra diminuída e as globulinas aumentadas. Creatinina, ureia, Fósforo, eosinófilos, apresentaram dispersão homogênea, não possuindo diferença estatística, enquanto cálcio total e cloretos apresentaram grau de dispersão. Ambos apresentando redução no grupo 2 (gráfico de dispersão 4).

Tabela 7 – Perfil bioquímico sérico de catabólito, minerais e ions de amostras de sangue de cães senis sadios (G1) e com erliquiose (G2)

Variáveis	Unidades	Grupos	Estatística				p-value
			Média	Desvio padrão	Valor mínimo	Valor máximo	
Creatinina	μL	G1	0,992 A	0,3155	0,61	1,66	p=0,8829
		G2	1,009 A	0,2398	0,68	1,4	
Ureia	μL	G1	28,32 A	12,76	12,31	51,84	p=0,0586
		G2	39,15 A	13,35	24,8	76,47	
Cálcio total	μL	G1	9,33 A	1,193	7	10,5	p=0,0026
		G2	6,722 B	1,972	5,3	10,4	
Fósforo	μL	G1	3,968 A	1,166	2,13	6,25	p=0,1889
		G2	3,233 A	0,723	2,4	4,5	
Cloretos	μL	G1	135,7 A	26,55	102	185	p=0,0193
		G2	108,7 B	17,58	87	136	

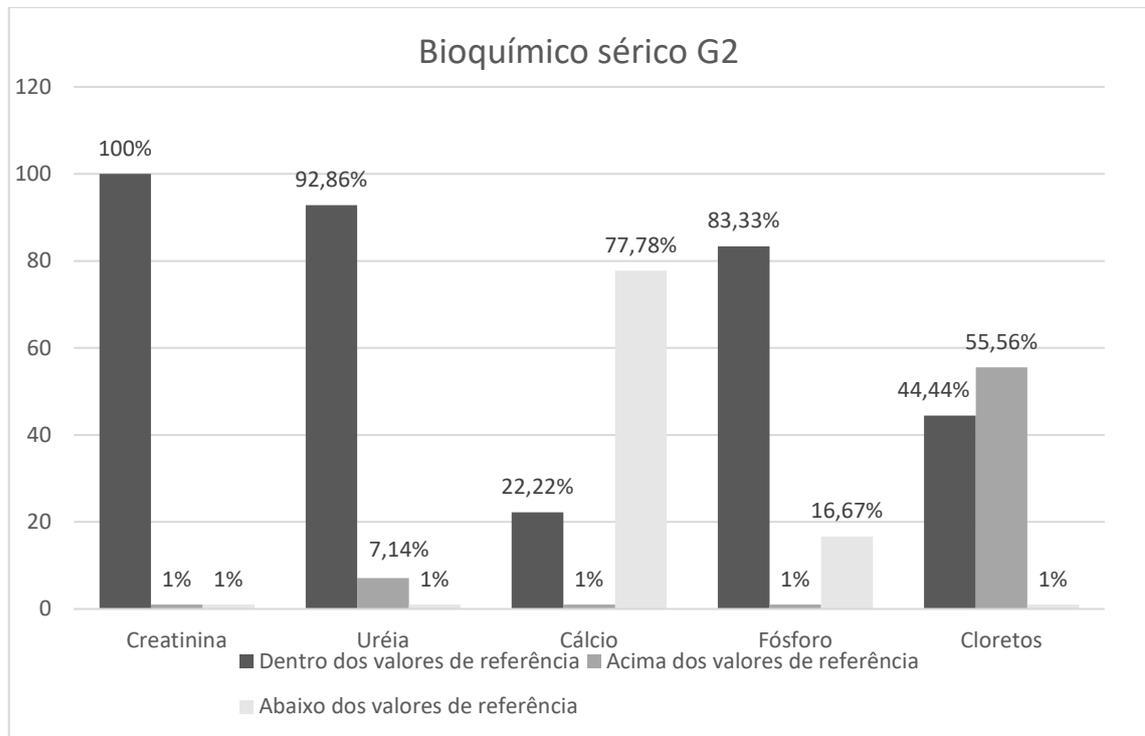
Fonte: Elaborado pela autora (2023).

Gráfico 7 – Bioquímico dos 10 cães do grupo controle. Dados dispostos em forma de porcentagem de animais que apresentaram as respectivas variáveis, sendo avaliados se estão abaixo, dentro ou acima dos valores de referência



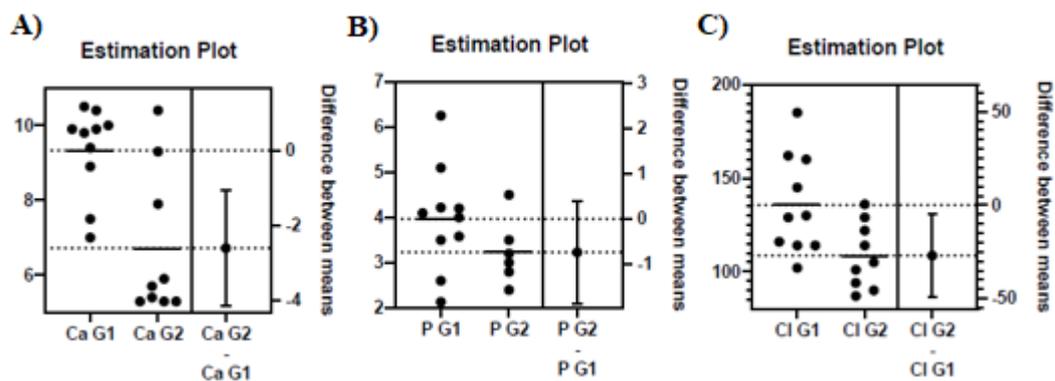
Fonte: Elaborado pela autora (2023).

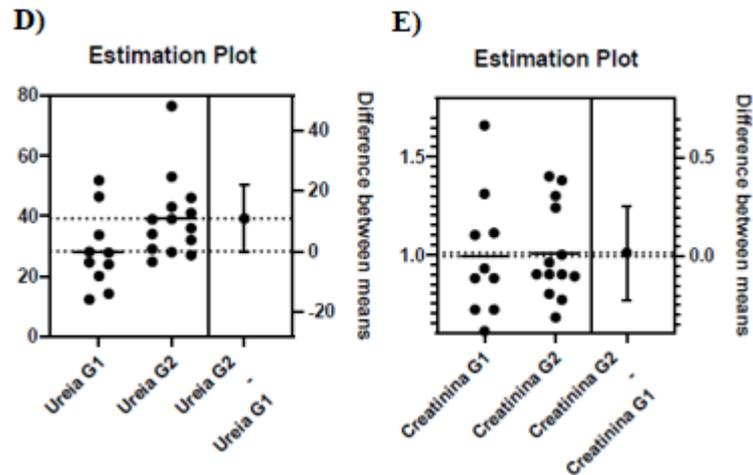
Gráfico 8 – Bioquímico dos 15 cães positivos para *Ehrlichia canis*. Dados dispostos em forma de porcentagem de animais que apresentaram as respectivas variáveis, sendo avaliados se estão abaixo, dentro ou acima dos valores de referência



Fonte: Elaborado pela autora (2023).

Gráfico de dispersão 4 – Dispersão dos valores apresentados pelos animais do grupo controle (G1) e grupo infectado (G2) na avaliação dos parâmetros: Cálcio (A); Fósforo (B); Cloretos (C); Uréia (D); Creatinina. É possível observar os valores de forma individual, bem como sua variação e média





Fonte: Elaborado pela autora (2023).

5.3 PROTEINOGRAMA SÉRICO UTILIZANDO A TÉCNICA DE ELETROFORESE EM GEL DE POLIACRILAMIDA CONTENDO DODECIL SULTAFO DE SÓDIO (SDS-PAGE)

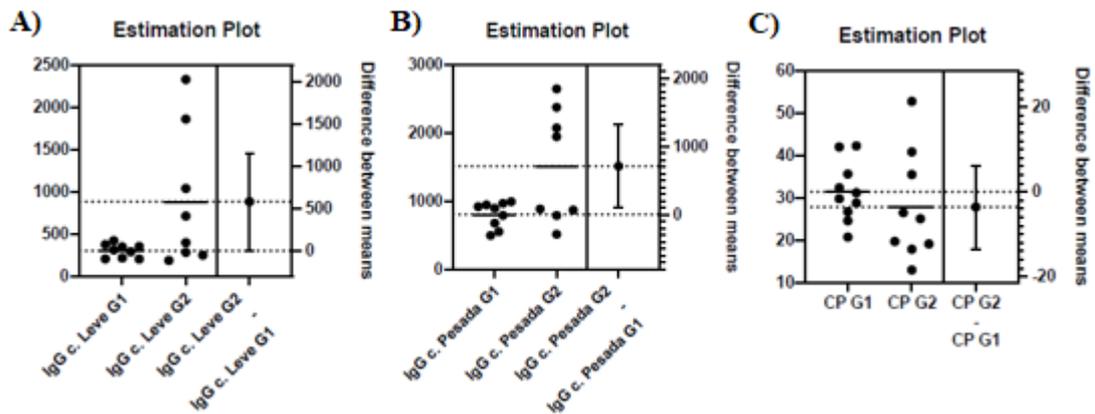
Em relação ao proteinograma não houveram diferenças significativas nas variáveis ceruloplasmina,, IgA, IgG de cadeia leve, NL, NL 2, proteínas totais, transferrina, Alpha 1 glicoproteína ácida e Beta haptoglobina não apresentaram diferença estatística. Houve diferença estatística nas variáveis IgG de cadeia pesada e Alpha 1 antitripsina, onde demonstrou um aumento do G2 comparado ao G1. Houve também diferença na PM 23000, mas neste caso houve uma diminuição do G2 em comparação ao G1.

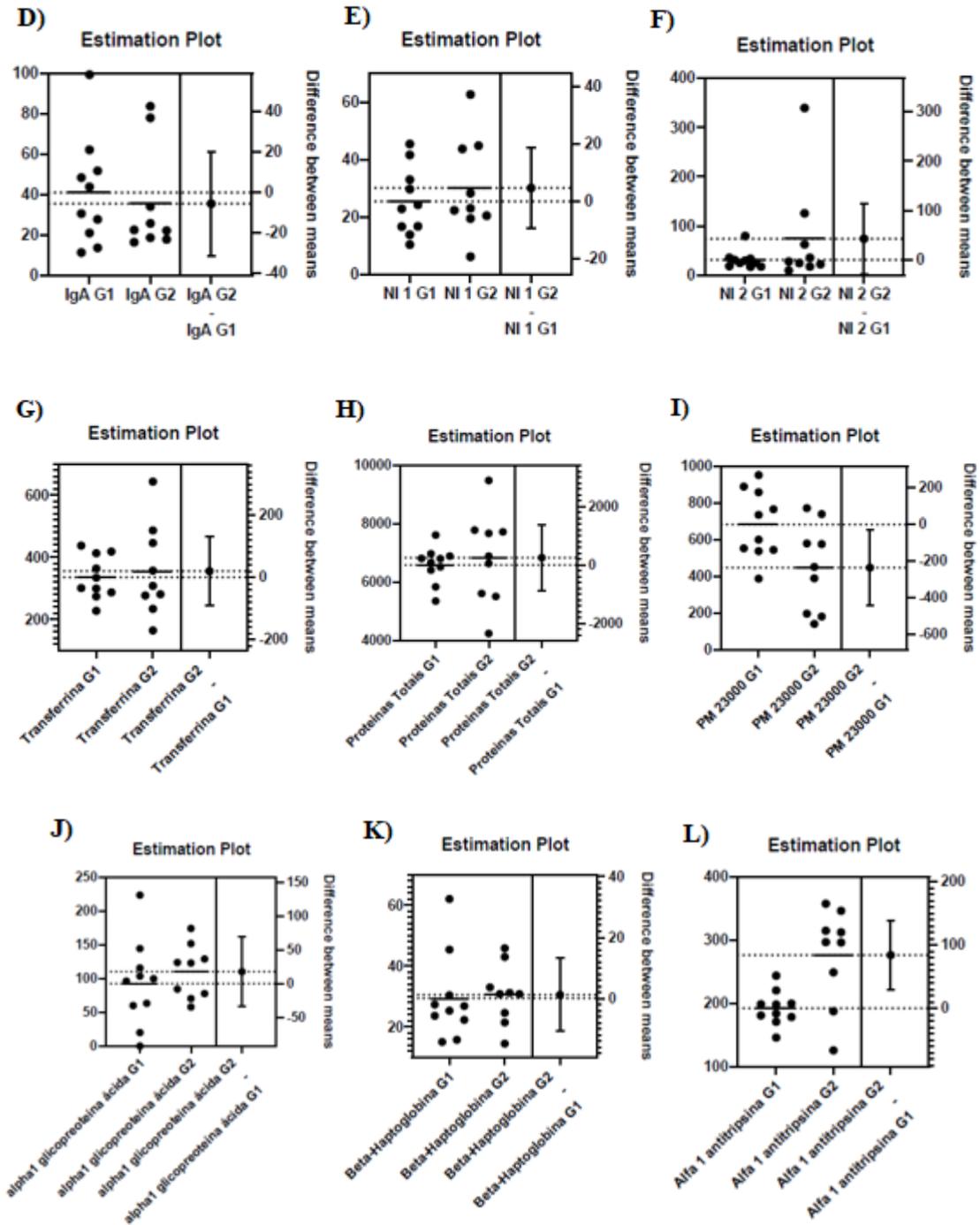
Tabela 8 – Imunoglobulinas em cães senis sadios (G1) e com erliquiose

Variáveis	Unidades	Grupos	Estatística				p-value
			Média	Desvio padrão	Valor mínimo	Valor máximo	
Ceruloplasmina	mg/dL	G1	31,43 A	6,995	20,75	42,29	p=0,4524
		G2	27,83 A	12,84	13,03	52,77	
IgA	mg/dL	G1	41,03 A	26,52	11,41	99,35	p=0,6542
		G2	35,5 A	26,28	16,49	83,69	
IgG de Cadeia Leve	mg/dL	G1	303,5 A	79,46	204,3	422,7	p=0,0484
		G2	883,5 A	808,6	188,7	2330	
IgG de Cadeia Pesada	mg/dL	G1	805,3 A	186,1	498,6	993	p=0,0249
		G2	1514 B	832,7	516,6	2647	
NL	mg/dL	G1	25,43 A	11,79	10,43	45,37	p=0,458
		G2	30,08 A	17,11	6,23	62,56	
NL2	mg/dL	G1	31,54 A	18,24	17,6	79,94	p=0,2245
		G2	74,16 A	105,5	9,87	339,3	
PM 23000	mg/dL	G1	682,6 A	184,5	388,2	952,2	p=0,0272
		G2	447,6 B	238,6	140,9	771,8	
Proteínas totais	mg/dL	G1	6587 A	624,6	5350	7610	p=0,6442
		G2	6838 A	1557	4240	9480	
Transferrina	mg/dL	G1	335,8 A	70,25	227,8	437,9	p=0,7087
		G2	355,5 A	147,3	164,9	643,9	
Alpha 1 antitripsina	mg/dL	G1	192,3 A	26,99	146,2	243,9	p=0,0044
		G2	276,3 B	76,16	125,9	357,7	
Alpha 1 Glicop. Ácida	mg/dL	G1	92,7 A	63,53	0	58	p=0,4847
		G2	110,3 A	39,6	58	174,2	
Beta haptoglobina	mg/dL	G1	29,44 A	14,25	15,06	14,54	p=0,8415
		G2	30,6 A	9,815	14,56	48,88	

Fonte: Elaborada pela autora (2023).

Gráfico de dispersão 5 – Dispersão dos valores apresentados pelos animais do grupo controle (G1) e grupo infectado (G2) na avaliação dos parâmetros: IgG cadeia leve (A); IgG cadeia pesada (B); Ceruloplasmina (C); IgA (D); NL (E); NL2 (F); Transferrina (G); Proteínas totais (H); PM 23000 (I); Alpha 1 glicoproteína ácida (J); Beta Haptoglobina (K); Alpha 1 antitripsina (L). É possível observar os valores de forma individual, bem como sua variação e média





Fonte: Elaborada pela autora (2023).

5.4 PERFIL CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICO DOS ANIMAIS SELECIONADOS

Foram inclusos 10 animais no grupo controle (G1) e 15 animais no grupo infectado com *Ehrlichia canis* (G2). Os animais selecionados para o grupo controle foram animais que vieram para consulta de rotina. O grupo foi formado por cães senis saudáveis, negativos para *Ehrlichia canis*. Destes cães, 40% (4/10) dos animais eram machos e 60% (6/10) fêmeas. As raças foram

variadas no G1, sendo, 3 poodles, 2 lhasas apsos, 2 sem raça definidas, 1 spitz alemão, 1 labrador e 1 pequinês. Em relação ao peso dos animais no G1, 9 animais pesaram até 10 quilos e um animal pesou mais de 30 quilos. Foram avaliados com escore de condição corporal e considerado ideal, sendo somente um animal (1/10) considerado com sobrepeso. Os animais incluídos no grupo controle não apresentaram alterações dignas de nota no exame físico. Coloração da mucosa, tempo de preenchimento capilar, ausculta pulmonar e cardíaca, temperatura e avaliação dos linfonodos estavam dentro da normalidade.

Em relação aos animais do G2, foram inclusos, cães senis, acima de 8 anos de idade, assintomáticos, positivos para *Ehrlichia canis*. Dos animais selecionados para o grupo infectado, 14 foram animais que vieram para consulta de rotina e 1 para avaliação de uma hérnia inguinal. Destes cães, 66,67% (10/15) eram machos e 33,33% (5/15) eram fêmeas. No grupo infectado G2, 6 animais foram da raça lhasa apso, 2 maltes, 2 sem raça definidas, 2 shih tzus, 1 chow chow, 1 buldogue francês e 1 pinscher. A raça mais acometida foi a raça lhasa apso, sendo 40% (6/15) dos cães. Em relação a pesagem, 9 cães pesaram até 10 quilos, 5 animais pesaram de 10 a 20 quilos e 1 cão pesou mais de 40 quilos. Foram avaliados com escore de condição corporal, sendo a maioria considerado ideal, entretanto 3 cães encontravam-se com sobre peso. Os animais incluídos no grupo infectado não apresentaram alterações dignas de nota no exame físico. Coloração da mucosa, tempo de preenchimento capilar, ausculta pulmonar e cardíaca, temperatura dentro da normalidade, porém 7 cães apresentaram alterações dos linfonodos superficiais, onde 20% (3/15) em linfonodos submandibulares, 20% (3/15) em linfonodos poplíteos e 6,67% (1/15) em linfonodos inguinais. Portanto, 53,33% (8/15) animais não apresentaram alterações em linfonodos superficiais no exame físico.

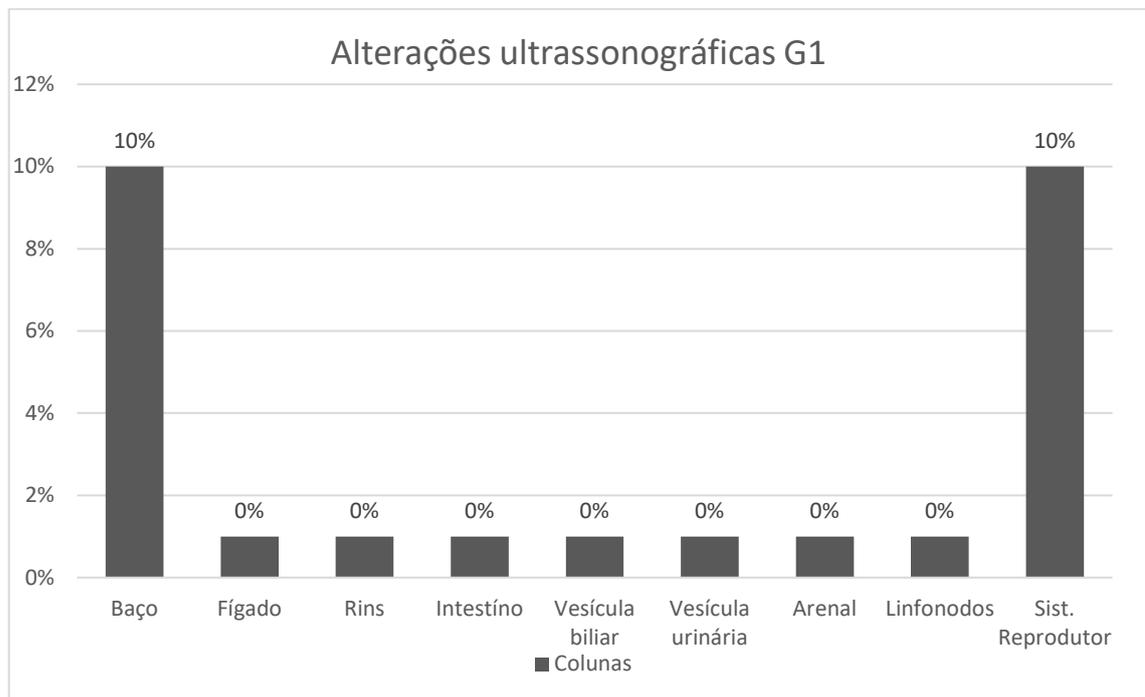
5.5 EXAME ULTRASSONOGRÁFICO

No exame ultrassonográfico abdominal do grupo controle (G1), 10% (1/10) dos animais apresentaram alterações no baço, sendo ela esplenomegalia. E outros 10% (1/10) alterações em sistema reprodutor, sendo essa alteração cistos prostáticos e cistos testiculares. Os outros 80% (8/10) não apresentaram alterações no exame. Dados dispostos no gráfico (9).

No grupo infectado (G2), 100% (15/15) dos animais apresentaram alterações no baço, sendo essa alteração, esplenomegalia (moderada, discreta ou avançada); 20% (3/15) dos animais apresentaram alterações no fígado: hepatomegalia e colangiohepatite; 13,33% (2/15) apresentaram alterações renais: nefropatia crônica; 6,67% (1/15) apresentaram alterações em intestino: enterite; 26,67% (4/15) dos animais apresentaram alterações em vesícula bili ar:

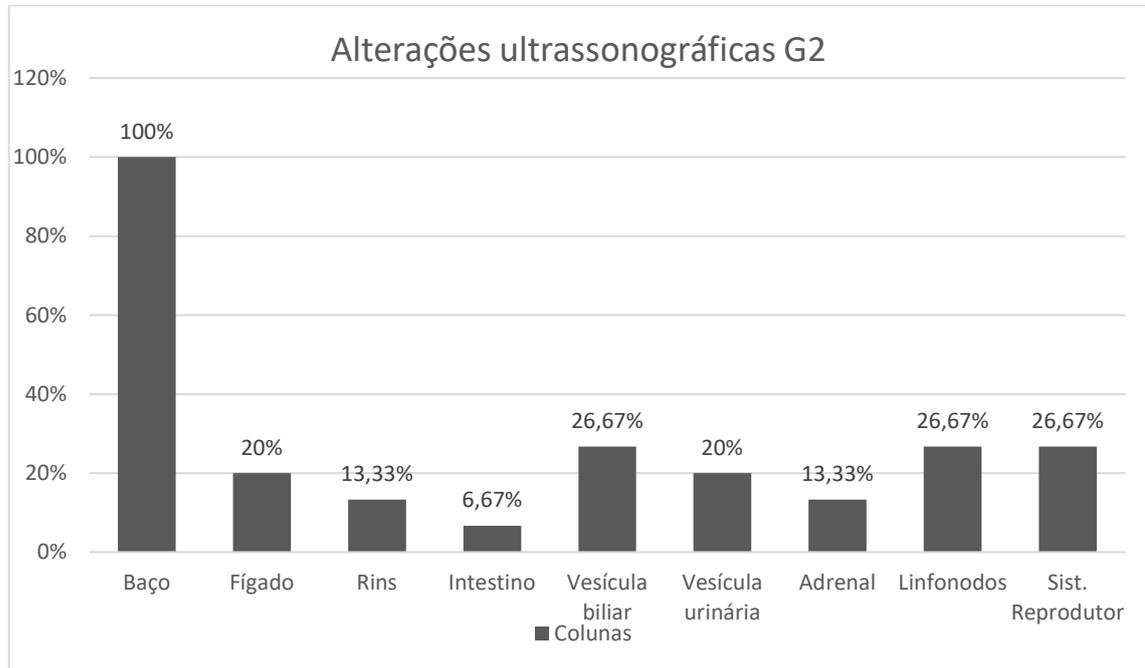
estase e lama biliar; 20% (3/15) apresentaram alterações em vesícula urinária: cistite e presença de sedimentos urinários; 13,33% apresentaram alterações em adrenais: nódulo em adrenal; 26,67% (4/15) apresentaram alterações em linfonodos: linfonodomegalia e 26,67% (4/15) apresentaram alterações em sistema reprodutor: hiperplasia prostática benigna, prostatomegalia, dilatação uterina e hiperplasia endometrial. Dados dispostos no gráfico (10).

Gráfico 9 – Alterações ultrassonográficas dos 10 cães do grupo controle. Dados dispostos em forma de porcentagem das alterações encontradas no ultrassom



Fonte: Elaborada pela autora (2023).

Gráfico 10 – Alterações ultrassonográficas dos 15 cães positivos para *Ehrlichia canis*. Dados dispostos em forma de porcentagem das alterações encontradas no ultrassom



Fonte: Elaborada pela autora (2023).

5.6 TESTE RÁPIDO

De acordo com a metodologia do estudo, todos os animais do G1 foram testados através do teste rápido 4dx Plus da Idexx e o resultado foi negativo como demonstrado na Figura 2. Da mesma forma, todos os animais do G2 foram testados, porém tiveram resultado positivo como demonstra a Figura 3.

Figura 2 – Teste rápido 4dx Plus com resultado negativo do grupo controle G1



Fonte: Arquivo pessoal (2023).

Figura 3 – Teste rápido 4dx Plus (Idexx) com resultado positivo apresentado pelos cães do grupo infectado G2



Fonte: Arquivo pessoal (2023).

6 DISCUSSÃO

Em relação ao eritrograma houve uma diminuição das hemácias do grupo 2 infectante comparado ao grupo 1 controle, esta diminuição pode estar relacionada a rápida diminuição do agente no sangue e a vasculite generalizada. O fato de estarem diminuídos hemácias, hematócrito e hemoglobina pode estar relacionado a discreta anemia em alguns animais, como discutido por autores (KOMNENOU *et al.*, 2008; FIGUEIREDO, 2011).

No CHCM (concentração da hemoglobina corpuscular média) foram obtidos valores diminuídos no G2 em comparação ao G1.

Já no plaquetograma foram encontrados valores consideravelmente menores no grupo 2 infectante comparado ao grupo 1 controle. Esta trombocitopenia pode ter ocorrido em decorrência da destruição de plaquetas e sequestro das plaquetas pelo baço (GAUNT *et al.*, 2010).

Em relação ao bioquímico houve diferença ente a albumina que ocorreu uma diminuição do grupo 2, aumento de globulinas ainda redução de cálcio e cloretos.

Em relação as proteínas não houveram diferença estatística em IgA, transferrina, albumina, em relação aos grupos. Entretanto na alpha-antitripsina e igG de cadeia pesada houveram diferenças estatísticas, sendo que houve um aumento no grupo 2 em relação ao grupo 1 e em PM 2300 houve uma diminuição no grupo 2.

A alfa 1-antitripsina também é uma proteína de fase aguda que em quadros infecciosos tende a ter um aumento precoce em sua concentração sérica de forma rápida. Tanto a α -1-antitripsina quanto a IgG podem ser avaliadas em pacientes com suspeita de erliquiose monocítica canina, principalmente na fase subclínica da doença como possíveis biomarcadores, tanto de forma individualizada quanto em associação (CÉRON *et al.*, 2005).

A hipoalbuminemia também encontrada por Harrus *et al.* (1996), pode estar relacionada a perda periférica de albumina nos líquidos edematosos resultantes do aumento da permeabilidade vascular, hemorragias e diminuição da síntese proteica. Além de diminuir devido ao aumento na produção de imunoglobulinas no animal infectado, o que está relacionada com a hiperglobulinemia por meio do aumento de gamaglobulina, que é comum na fase subclínica da doença, pois a doença promove uma prolongada estimulação antigênica. Por isso, mesmo cães assintomáticos, apresentam alto título de anticorpos (HARRUS *et al.*, 1998).

A presença de hiperglobulinemia nos animais infectados está associada à prolongada estimulação antigênica realizada pela *E. canis*, conseqüentemente também levando ao aumento de IgG (anticorpos contra a doença) e contribuindo para a diminuição da albumina, que pode

ocorrer devido ao processo inflamatório causado pela bactéria, como na vasculite e aumento da permeabilidade vascular. Esse processo inflamatório pode ser detectado através do aumento da proteína de fase aguda positiva α -1-antitripsina, o qual indica uma resposta ativa. Portanto, a avaliação desses parâmetros é importante para o diagnóstico da doença na fase subclínica devido à ausência de sinais clínicos e para que o tratamento seja instituído antes da evolução para a fase crônica. Entretanto, mais estudos são necessários para completa elucidação dos resultados obtidos.

Nos exames ultrassonográficos, alguns cães do grupo infectado apresentaram linfonodomegalia, esta alteração pode estar relacionada com a doença erliquiose, segundo Couto (1998), uma grande quantidade de bactérias se concentram em macrófagos esplênicos, sendo assim conseqüentemente, fígado e linfonodos, que também participam do sistema fagocítico mononuclear, podem ser afetados. Outro achado comum nos animais positivos para *Ehrlichia canis*, foi a presença de lama biliar, esta alteração é considerada como um achado comum em cães, sendo considerada fisiológica (KO *et al.*, 1999). Outra alteração encontrada em alguns dos cães do grupo infectado foi a nefropatia crônica bilateral, esta alteração pode estar relacionada a deposição de imunocomplexos nos rins, levando conseqüentemente na destruição das células renais pelo sistema imune, assim como demonstram alguns estudos (SILVA *et al.*, 2015). Ademais, a presença de cistite em alguns animais pode estar relacionada a alteração renal, devido a ineficiência de executar sua função de filtra e reabsorver a glicose, tornando a urina um meio de cultura ideal para agentes causadores de afecções como a cistite (FARIA *et al.*, 2011). Alguns cães apresentaram hiperplasia prostática benigna, o valor elevado desta incidência pode estar relacionado ao fato de se tratarem de cães idosos e não castrados, não havendo possível relação com a erliquiose.

8 CONCLUSÃO

Concluimos que a erliquiose é uma doença que pode afetar o animal mesmo sem demonstrar sintomas. As proteínas: globulinas; IgG; albumina; e α -1-antitripsina; podem ser avaliadas em pacientes com suspeita de erliquiose monocítica canina na fase subclínica da doença como possíveis biomarcadores, tanto de forma individualizada quanto em associação. A presença de hiperglobulinemia nos animais infectados está associada à prolongada estimulação antigênica realizada pela *E. canis*, conseqüentemente também levando ao aumento de IgG (anticorpos contra a doença) e contribuindo para a diminuição da albumina, que pode ocorrer devido ao processo inflamatório causado pela bactéria, como na vasculite e aumento da permeabilidade vascular. Esse processo inflamatório pode ser detectado através do aumento da proteína de fase aguda positiva α -1-antitripsina, o qual indica uma resposta ativa. Portanto, a avaliação desses parâmetros é importante para o diagnóstico da doença.

A ultrassonografia é um importante exame a ser utilizado na rotina, principalmente em cães idosos. Sua utilização como exame de triagem pode auxiliar no diagnóstico de doenças, como no caso da erliquiose onde a esplenomegalia é uma alteração comum a ser encontrada em cães positivos, esta alteração pode ser suspeitada em palpação abdominal, mas só pode ser confirmada com a realização de ultrassonografia.

Alterações como linfonodomegalia, hepatomegalia, nefropatia e cistite podem estar relacionadas a doença.

REFERÊNCIAS

- ALMAZAN, C.; TIPACAMU, G. A.; RODRIGUEZ, S.; MOSQUEDA, J.; PEREZ DE LEON, A. Immunological control of ticks and tick-borne diseases that impact cattle health and production. **Front Biosci.**, v. 23, n. 8, p. 1535-1551, Mar. 2018.
- ALVES, L. S., SILVA, C. C. Erliquiose canina: um estudo de caso. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 6, n. 1, p. 65-72, set./nov. 2018.
- ALVES, M. L.; LINHARES, G. F. C.; CHAVES, N. S. T.; MONTEIRO, L. C.; LINHARES, D. C. L. Avaliação de indicadores e protocolo para o diagnóstico da pancitopenia tropical canina por PCR. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 6, n. 1, p. 49-54, jan./mar. 2004. Disponível em: <https://www.revistas.ufg.br/vet/article/view/344>. Acesso em: 25 ago. 2021.
- BUDE, R. O.; DIPIETRO, M. A.; PLATT, J. F.; RUBIN, J. M.; MIESOWICZ, S.; LUNDQUIST, C. Age dependency of renal resistive index in healthy children. **Radiology**, v. 184, n. 2, p. 469-473, Aug. 1992.
- CASTIGLIONI, M. C. R.; SILVA, J. P.; OLIVEIRA, N. B.; MAMPRIM, M. J. Influência da idade na ultrassonografia renal de cães e gatos: O que se sabe. **Vet. e Zootec.**, Botucatu, v. 27, p. 1-7, 2020.
- CERÓN, L. L.; ECKERSALL, P. D.; MARTÍNEZ-SUBIELA, S. Acute phase proteins in dogs and cats: current knowledge and future perspectives. **Vet Clin Pathol.**, v. 34, n. 2, p. 85-99, Jun. 2005.
- CODNER, E. C.; ROBERTS, R. E.; AINSWORTH, A. G. Atypical findings in 16 cases of canine ehrlichiosis. **J Am Vet Med Assoc.**, v. 186, n. 2, p. 166-169, Jan. 1985.
- COSTA, J. O.; BATISTA JÚNIOR, J. A.; SILVA, M.; GUIMARÃES, M. P. *Ehrlichia canis* infection in dog in Belo Horizonte, Brazil. **Arq Esc Vet Belo Horizonte**, Belo Horizonte, v. 25, p. 199-200, 1973.
- COUTO, C. G. Doenças rickettsiais. In: BIRCHARD, M.; SHERDING, L. **Manual Saunders: clínica de pequenos animais**. São Paulo: Roca, 1998. p. 139-142.
- CRAY, C. Acute phase proteins in animals. **Prog Mol Biol Transl Sci.**, v. 105, p. 113-150, Nov. 2012.
- DAVOUST, B. Canine ehrlichiosis. **Point Vét.**, v. 25, n. 151, p. 43-51, 1993.
- ECKERSALL, P. D. Acute phase proteins as markers of infection and inflammation: monitoring animal health, animal welfare and food safety. **Irish Vet. J.**, v. 53, n. 6, p. 307-311, 2000.
- ECKERSALL, P. D.; BELL, R. Acute phase proteins: biomarkers of infection and inflammation in veterinary medicine. **Vet. J.**, v. 185, n. 1, p. 23-27, Jul. 2010.

- ESCRIBANO, D.; CIHAN, H.; MARTÍNEZ-SUBIELA, S.; LEVENT, P.; KOCATURK, M.; AYTUG, N.; CERÓN, J.; TVARIJONAVICIUTE, A.; YILMAZ, Z. Changes in serum proteins in dogs with *Ehrlichia canis* infection. **Microbial Pathogenesis**, v. 113, p. 34-39, Dez. 2017.
- FARIA, J. L. M.; MUNHOZ, T. D.; JOÃO, C. A. F.; VARGAS-HERNÁNDEZ, G.; ANDRÉ, M. R.; PEREIRA, W. A. B.; MACHADO, R. Z.; TINUCCI-COSTA, M. *Ehrlichia canis* (Jaboticabal strain) induces the expression of TNF- in leukocytes and splenocytes of experimentally infected dogs. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.**, v. 20, n. 1, p. 71-74, Mar. 2011.
- FIGUEIREDO, M. R. **Babesiose e erliquiose caninas**. 2011. 88 f. Monografia (Especialização em Clínica Médica de Pequenos Animais) – Qualittas Instituto de Pós-Graduação, Rio de Janeiro, 2011.
- GALANT, P. R. **Erliquiose monocítica canina**. 2010. 33 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Medicina Veterinária) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010. Disponível em: <https://lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/38786/000791973.pdf?sequence=1>. Acesso em: 22 ago. 2021.
- GARCIA FILHO, S. P.; DIAS, M. A.; ISOLA, J. G. M. P.; MARTINS, L. L. Erliquiose canina: relato de caso. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, Garça, ano 8, n. 14, p. 1-7, jan. 2010.
- GARCIA, D. A.; MARTINS, K. P.; CORTEZI, A. M.; GOMES, D. E. Erliquiose e Anaplasmosse canina: revisão de literatura. **Revista Científica-PKP**, São José do Rio Preto, v. 1, n. 1, p. 1-9, 2018.
- GARCIA-NAVARRO, C. E. K. **Manual de hematologia veterinária**. 2. ed. São Paulo: Varela, 2005.
- GAUNT, S. D.; STILLMAN, B. A.; LORENTZEN, L.; DINIZ, P. P. V. P.; CHANDRASHEKAR, R.; BREITSCHWEDT, E. B. Experimental infection and co-infection of dogs with *Anaplasma platys* and *Ehrlichia canis*: hematologic, serologic and molecular findings. **Parasites & Vectors**, v. 3, n. 33, p. 33-42, Apr. 2010. Disponível em: <https://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/1756-3305-3-33>. Acesso em: 22 ago. 2021.
- GOULD, D. J.; MURPHY, K.; RUDORF, H.; CRISPIN, S. M. Canine monocytic ehrlichiosis presenting as acute blindness 36 months after importation into the UK. **J Small Anim Pract.**, v. 41, n. 6, p. 263-265, Jun. 2000.
- GOLDSTEIN, R. E.; BROVIDA, C.; FERNÁNDEZ-DEL PALACIO, M. J.; LITTMAN, M. P.; POLZIN, D. J.; ZATELLI, A.; COWGILL, L. D. Consensus Recommendations for Treatment for Dogs with Serology Positive Glomerular Disease. **J Vet Intern Med.**, v. 27, n. 1, p. 60-66, Nov./Dec. 2013.
- GREENE, C. E. *Ehrlichia* and anaplasma infections. In: GREENE, C. E. **Infectious diseases of the dog and cat**. 4. ed. Saint Louis: Elsevier, 2012. p. 227-260.

- GRUYS, E.; OBWOLO, M. J.; TOUSSAINT, M. J. M. Diagnostic significance of the major acute phase proteins in veterinary clinical chemistry: a review. **Veterinary Bulletin**, v. 64, p. 1009-1018, 1994.
- GRUYS, E.; TOUSSAINT, M. J. M.; NEIWOLD T. A.; KOOPMANS S. J. Acute phase reaction and acute phase proteins. **J Zhejiang Univ Sci B**, v. 6, n. 11, p. 1045-1056, Nov. 2005.
- HARRUS, S.; WANER, T.; KEYSARY, A.; AROCH, I.; VOET, H.; BARK, H. Investigation of splenic functions in canine monocytic ehrlichiosis. **Vet Immunol Immunopathol.**, v. 62, n. 1, p. 15-27, Mar. 1998.
- HARRUS, S.; WANER, T.; NEER, T. M. *Ehrlichia* and anaplasma infections. In: GREENE, C. E. (Ed). **Infectious diseases of the dog and cat**. 4.ed. Amsterdam: Elsevier Science Health Science Division, 2012. p. 227-238.
- HARRUS, S.; BARK, H.; WANER, T. Canine monocytic ehrlichiosis: an update. **Compend Contin Educ Vet**, v. 36, p. 431-447, 1997.
- HARRUS, S.; KASS, P. H.; KLEMENT, E.; WANER, T. Canine monocytic ehrlichiosis: a retrospective study of 100 cases, and an epidemiological investigation of prognostic indicators for the disease. **Vet Rec.**, v. 141, n. 14, p. 360-363, Oct. 1997. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9351183/>. Acesso em: 22 ago. 2021.
- HOLANDA, L. C.; ALMEIDA, T. L. A. C.; MESQUITA, R. M.; BALTAZAR JÚNIOR, M.; OLIVEIRA, A. A. da F. Achados hematológicos em sangue e medula óssea de cães naturalmente infectados por *Ehrlichia spp* e *Anaplasma spp*. **Ciênc. anim. bras.**, Goiânia, v. 20, e-47686, p. 1-12, 2019.
- ISOLA, J. G. M. P.; CADIOLI, F. A.; NAKAGE, A. P. Erliquiose canina: revisão de literatura. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, Garça, ano 9, n. 18, p. 1-11, jan. 2012.
- KO, A. I.; REIS, M. G.; DOURADO, C. M. R.; JOHNSON JR, W. D.; RILEY, L. W. Urban epidemic of severe leptospirosis in Brazil. **Lancet**, v. 354, n. 9181, p. 820-825, Sep. 1999.
- KOMNENOU, A. A.; MYLONAKIS, M. E.; KOUTI, V.; TENDOMA, L.; LEONTIDES, L.; SKOUNTZOU, E.; DESSIRIS, A.; KOUTINAS, A. F.; OFRI, R. Ocular manifestations of natural canine monocytic ehrlichiosis (*Ehrlichia canis*): a retrospective study of 90 cases. **Vet Ophthalmol.**, v. 10, n. 3, p. 137-142, May/June. 2007.
- KUEHN, N. F.; GAUNT, S. D. Clinical and hematologic findings in canine ehrlichiosis. **J Am Vet Med Assoc.**, v. 186, n. 4, p.355-358, Feb. 1985.
- LAEMMLI, U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. **Nature**, v. 227, p. 680-85, Aug. 1970.
- LEBARTHE, N.; PEREIRA, M. C.; BARBARINI, O.; MCKEE, W.; COIMBRA, C. A.; HOSKINS, J. Serologic prevalence of *Dirofilaria immitis*, *Ehrlichia canis* and *Borrelia burgdorferi* infection in Brazil. **Vet Ther.**, v. 4, n. 1, p. 67-75, Jan. 2003.

MAIA, V. K. M.; TELES, J. A. A.; FURTADO, G. D. Erliquiose canina precedida por deslocamento de retina: relato de caso. **Environ. Smoke**, Maceió, v. 3, n. 3, p. 7-11, 2020.

MATHIAS, M. I. C.; FURQUIM, K.; ABREU, R. M. M.; SODELLI, L. F. Doenças transmitidas por carrapatos de importância médica-veterinária. *In*: MELCHIOR, L. A. K.; MALAVAZI, P. F. N. S.; CAMARGO, L. M. A.; OLIVEIRA, J.; MENEGUETTI, D. U. O. (org.). **Atualidades em medicina tropical no Brasil: veterinária**. Rio Branco: Stricto Sensu, 2020. p. 12-46.

McDADE J. E. Ehrlichiosis a disease of animals and humans. **J. Infect Dis.**, n. 161, n. 4, p. 609-617, Apr. 1990.

MENESES, I. D. S.; SOUZA, B. M. P. S.; TEIXEIRA, C. M. M.; GUIMARÃES, J. E. Perfil clínicolaboratorial da erliquiose monocítica em cães de Salvador e região metropolitana, Bahia. **Rev. Bras. Saúde Prod. An.**, Salvador, v. 9, n. 4, p. 770-776, out./dez. 2008.

MEYER, D. J.; HARVEY, J. W. Plasma proteins. *In*: MEYER, D. J.; HARVEY, J. W. **Veterinary Laboratory Medicine Interpretation and Diagnosis**. 3rd. ed. Missouri: Saunders Elsevier Inc., 2004. p. 156-168.

MORENO, I. F.; CARRERA, A. C.; LUZ, M. B.; PAOLOZZI, R. J.; PAOLOZZI, P. C. Utilização do teste ELISA e imunocromatografia para erliquiose em cães com trombocitopenia. *In*: ENCONTRO INTERNACIONAL DE PRODUÇÃO CIENTÍFICA, 11., 2019. Maringá. **Anais [...]**. Maringá: Unicesumar, 2019. p. 1-4.

MUNHOZ, T. D. **Concentrações séricas de proteínas de fase aguda e IgG na infecção experimental por *Ehrlichia canis***. 2009. 55 f. Dissertação (Mestrado em Clínica Médica Veterinária) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2009.

NAKAGHI, A. C. H.; MACHADO, R. Z.; COSTA, M. T.; ANDRÉ, M. R.; BALDANI, C. D. Canine ehrlichiosis: clinical, hematological, serological and molecular aspects. **Cienc. Rural**, v. 38, n. 3, p. 766-700, Jun. 2008.

NASCIMENTO, A. B.; RIBEIRO, F. K. M.; BEZERRA, B. M. O. Achados laboratoriais em uma cadela com Erliquiose: relato de caso. **Pubvet**, Maringá, v. 15, n. 4, p. 134, abr. 2021.

NITRINI, A. G. C. **Esplenomegalias em cães: estudo retrospectivo e análise imunohistoquímica do Fator de Crescimento Endotelial Vascular (VEGF)**. 2010. 72 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

PEIXOTO, C. S. **Alterações oculares e hematológicas em cães acometidos por *Ehrlichia canis* e co-infecções**. 2019. 65 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Animais) – Universidade de Brasília, Brasília, DF, 2019.

PESAPANE, R.; FOLEY, J.; THOMAS, R.; CASTRO, L. R. Molecular detection and characterization of *Anaplasma platys* and *Ehrlichia canis* in dogs from northern Colombia. **Vet Microbiol.**, v. 233, n. 5, p. 184-189, Jun. 2019.

RODRIGUES, L. F. **Proteína de fase aguda em cães**. 2011. 100 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Estadual de Goiás, Goiânia, 2011.

SÁ, R.; SÁ, I. S.; ALMEIDA, L. F.; MIRANDA, G. S.; GOMES, J. B.; SANTOS, A. R. S. S.; SILVA, K. F. M.; ARAÚJO, M. S.; LISBOA NETO, A. F. S.; SILVA, J. C. F.; OLIVEIRA, M. A. L.; MACHADO, F. C. F.; MACHADO JÚNIOR, A. A. N. M.; SILVA FILHO, M. L. S. Erliquiose canina: Relato de caso. **Pubvet**, Maringá, v. 12, n. 6, a. 18, p. 1-6, jun. 2018.

SANTOS, L. S. Erliquiose canina: relato de caso. **PubVet**, Maringá, v. 12, n. 6, p. 131, jan. 2020.

SEOANE, M. P. R. **Avaliação da ocorrência das alterações ultrassonográficas na cavidade abdominal, detectadas em cães idosos clinicamente saudáveis atendidos no hospital veterinário da Universidade Federal do Paraná**. 2010. 112 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2010. Disponível em: <https://acervodigital.ufpr.br/handle/1884/25682?show=full>. Acesso em: 18 jan. 2023.

SILVA, L. B. da. Fluidoterapia na clínica de pequenos animais. **Portal da Educação**, São Paulo, 18 dez. 2015. Disponível em: <https://siteantigo.portaleducacao.com.br/conteudo/artigos/veterinaria/fluidoterapia-na-clinica-de-pequenos-animais/67780>. Acesso em: 22 ago. 2021.

SILVA, M.; COSTA, C.; CINTRA, C.; SOUZA, G.; RIBEIRO, G.; HEITOR, T.; NASCIMENTO, M.; MAGALHÃES, L.; CRIVELENTI, L. Alterações glomérulo-tubulares em cães infectados por *Ehrlichia canis*. **Investigação**, v. 14, n. 6, p. 17-21, 2015.

SOUSA, E. J. N.; FERREIRA, N. L.; SOUSA, M. C. F.; SILVA, P. O.; PEREIRA JÚNIOR, J. R.; COSTA, M. S.; MAGALHÃES, P. C. Coinfecção de anaplasmoze e erliquiose: relato de caso. **Pubvet**, Maringá, v. 15, n. 5, a818, p. 1-6, maio 2021.

SOUSA, V. R. F.; ALMEIDA, A. B. P. F.; BARROS, L. A.; SALES, K. G.; JUSTINO, C. H. S.; DALCIN, L.; BOMFIM, T. C. B. Avaliação clínica e molecular de cães com erliquiose. **Cienc. Rural**, Santa Maria, v. 40, n. 6, p. 1309-1313, jun. 2010.

TIZARD, I. R. **Veterinary immunology: an introduction**. 8th ed. Philadelphia: Elsevier, 2008.

WENDT, S. B. T.; PEREIRA, N. A terceira idade e o bem estar animal. **Ágora: Revista de Divulgação Científica**, Mafra, v. 16, n. 2(A), Número Especial: I Seminário Integrado de Pesquisa e Extensão Universitária, p. 211-215, 2009.

ANEXO

Perfil hematológico, bioquímico sérico e proteinograma de cães idosos diagnosticados com *Ehrlichia canis*

Carla N. M. Parra, André M. Santana

Registro ORCID

ABSTRACT:

Ehrlichiosis is an infectious rickettsial disease with a high incidence in the clinical routine of small animals. It is caused by an obligate intracellular cellular parasite gram negative bacteria. Due to its clinical routine, it is important to know the clinical and laboratory alterations. The aim of this study was to evaluate changes in blood count, serum biochemistry and protein count in animals positive for *Ehrlichia canis*. 25 dogs over 8 years old were selected. Of these, 10 animals were selected to compose the control group (G1) and another 15 dogs positive for *Ehrlichia canis*, to compose the infected group (G2). Anamnesis was performed on each animal, physical examination and blood collection for carrying out the complete blood count, serum biochemistry, proteinogram and for performing the 4dx Plus rapid test (Idexx). The variables evaluated in serum biochemistry were: total protein, albumin, globulins, urea, creatinine, cholesterol, triglycerides, alanine aminotransferase (ALT), alkaline phosphatase (ALP) and creatine kinase (CK). proteinogram (ceruloplasmin, α -1-antitrypsin, transferrin, albumin, IgA and IgG). The results with alterations were hypoalbuminemia, hyperglobulinemia, increase in IgG, decrease in ceruloplasmin and increase in α -1-antitrypsin in animals from G2, and the other parameters remained unchanged. It is concluded that globulins, IgG, albumin and α -1-antitrypsin can be evaluated in patients with suspected canine monocytic ehrlichiosis in the subclinical phase of the disease as possible biomarkers.

INDEX TERMS:

Tick; Splenomegaly; electrophoresis; Hemoparasitoses

[Perfil hematológico, bioquímico sérico e proteinograma de cães idosos diagnosticados com *Ehrlichia canis*]

RESUMO:

A erliquiose é uma doença riquetsial infecciosa de alta incidência na rotina clínica de pequenos animais. É causada por uma bactéria gram negativa parasita celular intracelular obrigatório. Devido a sua relevância na rotina clínica, é importante o conhecimento das alterações clínicas e laboratoriais. O objetivo deste estudo foi avaliar as alterações de hemograma, bioquímico sérico e proteinograma de animais idosos positivos para *Ehrlichia canis*. Foram selecionados 25 cães acima de 8 anos. Destes, 10 cães saudáveis e negativos para *Ehrlichia canis* foram selecionados para compor o grupo controle (G1) e outros 15 cães positivos para *Ehrlichia canis*, para compor o grupo infectado (G2). Foi realizado anamnese em cada animal, exame físico e coleta de sangue para realização do hemograma, bioquímico sérico, proteinograma e para realização do teste rápido 4dx Plus (Idexx). As variáveis avaliadas no bioquímico sérico foram: proteínas totais, albumina, globulinas, ureia, creatinina, colesterol, triglicérides, alanina aminotransferase (ALT), fosfatase alcalina (ALP) e creatinoquinase (CK). proteinograma (ceruloplasmina, α -1-antitripsina, transferrina, albumina, IgA e IgG). Os resultados com alterações significativas foram em CHCM, uma diminuição das plaquetas do G2 comparado ao G1, hypoalbuminemia, hyperglobulinemia, aumento de IgG, diminuição de ceruloplasmina e aumento de α -1-antitripsina nos animais do G2, e os demais parâmetros sem alteração. Conclui-se que plaquetas, globulinas, IgG, albumina e α -1-antitripsina podem ser avaliadas em pacientes com suspeita de erliquiose canina como possíveis biomarcadores.

TERMOS DE INDEXAÇÃO:

Carrapato; Eletroforese; Esplenomegalia; Hemoparasitose

Introdução

A erliquiose é uma doença infecciosa de alta incidência na rotina clínica, causada por uma bactéria Gram negativa, a *Ehrlichia canis*, parasita intracelular obrigatório, pertencente à ordem Rickettsiales, da família Anaplasmataceae (Greene 2012). É uma bactéria caracterizada pela redução de elementos sanguíneos, podendo ser vistas em vacúolos no citoplasma (Pesapane et al. 2019). É considerada uma doença tropical, entretanto no Brasil está distribuída na maioria das regiões do país (Garcia et al. 2018).

A transmissão da doença ocorre através do vetor *Rhipicephalus sanguineus*, conhecido como carrapato marrom (Mathias et al. 2020). O artrópode tem fácil adaptação, por isso apresenta distribuição mundial, pois se adapta em diversos climas e regiões (Moreno et al. 2019).

A doença pode ocorrer em três fases distintas: aguda, subclínica e crônica, sendo a fase subclínica a mais desafiadora pois é uma fase onde o animal não costuma apresentar sintomas (Peixoto 2019). A sintomatologia é inespecífica, o que dificulta o diagnóstico, os sintomas mais comuns são perda de peso, diminuição de apetite, febre, anorexia, pirexia, epistaxe e hemorragia (Maia, Teles & Furtado 2020).

Os achados laboratoriais encontrados com maior frequência são trombocitopenia, anemia e leucopenia, principalmente na fase aguda. As hemorragias são comuns devido a decorrência da destruição de plaqueta (Komnenou et al. 2007, Galant 2010).

As proteínas de fase aguda e imunoglobulinas, fazem parte da primeira reação da imunidade inata, precedendo a imunidade específica, causada por diversos fatores. No caso das infecções bacterianas, ocorre uma resposta mais intensa das proteínas de fase aguda se comparada a infecções virais, isso ocorre devido à forte reação das células do sistema fagocitário mononuclear a endotoxinas. No caso da *E. canis*, nos cães, a análise proteômica poderia elucidar as alterações de biomarcadores associadas a biomarcadores, podendo ter um melhor entendimento da fisiopatogenia da doença (Escribano et al. 2017).

A ultrassonografia é um exame que auxilia no diagnóstico de patologias. Com a utilização do ultrassom na rotina clínica as chances são maiores de tratar patologias iniciais que muitas vezes não são possíveis de se encontrar somente com exames físicos e hematológicos. Se tratando de animais idosos, o uso do ultrassom se faz ainda mais importante, sabendo que cães idosos possuem uma menor eficiência de resposta imunológica. Ademais, com o avanço da veterinária muito se fala em prevenção, o que tem ganhado cada vez mais conscientização por parte de tutores de animais. Possibilitando que o clínico consiga atuar com exames preventivos antes que o animal fique em estado de doença avançado (Castiglioni et al. 2020).

Material e Métodos

Foram selecionados, para o experimento, cães senis, com idade acima de 8 anos, sem distinção de porte, sexo ou raça, que foram atendidos no Hospital Veterinário da UEM, Campus Regional de Umuarama e na Consultório Veterinário Uauqmia, em Maringá, para realização de check-up.

Destes animais, foi primeiramente realizado a anamnese. Após realização da anamnese, foi realizado o exame físico, assim sendo, apenas cães assintomáticos foram selecionados para o experimento.

Foi realizado o exame de ultrassonografia abdominal de todos os cães aparentemente saudáveis e assintomáticos que foram selecionados para o experimento. Foi utilizado o aparelho de ultrassom com Doppler colorido (Z6 Vet, Mindray®). Os exames foram realizados sem sedação e sem período de jejum. Foi realizado a tricotomia da região abdominal. Os cães foram colocados em decúbito dorsal, e foi utilizado o gel hidrossolúvel para evitar produção de artefatos na imagem.

Após a realização da ultrassonografia, todos os animais foram submetidos ao teste rápido 4dx Plus (Iindex) para detecção da *Ehrlichia canis*. Para isso, foi coletado amostra de sangue, mediante a assepsia local com álcool iodado e punção da veia jugular utilizando seringa de 5 ml e agulha 25/7.

Foi realizado a contagem de hemácias, avaliação de hematócrito e teores de hemoglobina (VCM e CHCM); foram avaliadas/calculadas as concentrações/atividade séricas de 13 variáveis, sendo estas: cloretos (Cl), cálcio total (Ca), fósforo (P), proteínas totais, albumina, globulinas, ureia, creatinina, colesterol, triglicérides, alanina aminotransferase (ALT), fosfatase alcalina (ALP) e creatinoquinase (CK).

Resultados

Não foram observadas diferenças estatísticas significativas entre o G1 e G2 para contagem de leucócitos totais, neutrófilos bastonetes, linfócitos e eosinófilos (Tabela 5). No gráfico de dispersão 2, podemos observar uma dispersão homogênea entre estes parâmetros avaliados, porém, houve uma diferença estatística significativa para a contagem de neutrófilos segmentados e monócitos, havendo uma redução dos dois parâmetros dos animais do G2 em relação ao G1.

Em relação ao perfil bioquímico sérico, não foram constatadas diferenças estatísticas entre G1 e G2 para as concentrações/atividades séricas de proteína total, creatinquinase (CK), alanina aminotransferase (ALT), fosfatase alcalina (ALP), triglicérides, colesterol, creatinina, ureia e fósforo. É possível observar uma distribuição homogênea destes parâmetros bioquímicos dispostos no gráfico de dispersão 3.

Entretanto, observou-se diferença estatística significativa para as concentrações de albumina, com redução dos valores no G2 em relação ao G1. Já em relação às globulinas, constatou-se um aumento significativo do G2 em relação ao G1. Em relação ao cálcio total, também se constatou uma diferença estatística significativa entre grupos, ocorrendo uma redução das concentrações dos animais do G2 em relação ao G1. Semelhantemente observou-se uma redução das concentrações de cloretos em G2 quando comparado ao G1.

Em relação ao proteínograma não houveram diferenças significativas nas variáveis ceruloplasmina, IgA, IgG de cadeia leve, NL, NL 2, proteínas totais, transferrina, Alpha 1 glicoproteína ácida e Beta haptoglobina não apresentaram diferença estatística. Houve diferença estatística nas variáveis IgG de cadeia pesada e Alpha 1 antitripsina, onde demonstrou um aumento do G2 comparado ao G1. Houve também diferença na PM 23000, mas neste caso houve uma diminuição do G2 em comparação ao G1.

No exame ultrassonográfico abdominal do grupo controle (G1), 10% (1/10) dos animais apresentaram alterações no baço, sendo ela esplenomegalia. E outros 10% (1/10) alterações em sistema reprodutor, sendo essa alteração cistos prostáticos e cistos testiculares. Os outros 80% (8/10) não apresentaram alterações no exame. No grupo infectado (G2), 100% (15/15) dos animais apresentaram alterações no baço, sendo essa alteração, esplenomegalia (moderada, discreta ou avançada); 20% (3/15) dos animais apresentaram alterações no fígado: hepatomegalia e colangiohepatite; 13,33% (2/15) apresentaram alterações renais: nefropatia crônica; 6,67% (1/15) apresentaram alterações em intestino: enterite; 26,67% (4/15) dos animais apresentaram alterações em vesícula biliar: estase e lama biliar; 20% (3/15) apresentaram alterações em vesícula urinária: cistite e presença de sedimentos urinários; 13,33% apresentaram alterações em adrenais: nódulo em adrenal; 26,67% (4/15) apresentaram alterações em linfonodos: linfonodomegalia e 26,67% (4/15) apresentaram alterações em sistema reprodutor: hiperplasia prostática benigna, prostatomegalia, dilatação uterina e hiperplasia endometrial.

Discussão

Em relação ao eritrograma houve uma diminuição das hemácias do grupo 2 infectante comparado ao grupo 1 controle, esta diminuição pode estar relacionada a rápida diminuição do agente no sangue e a vasculite generalizada. O fato de estarem diminuídas hemácias, hematócrito e hemoglobina pode estar relacionado a discreta anemia em alguns animais, como discutido por autores (Komnenou et al. 2007, Figueiredo 2011).

No CHCM (concentração da hemoglobina corpuscular média) foram obtidos valores diminuídos no G2 em comparação ao G1.

Já no plaquetograma foram encontrados valores consideravelmente menores no grupo 2 infectante comparado ao grupo 1 controle. Esta trombocitopenia pode ter ocorrido em decorrência da destruição de plaquetas e sequestro das plaquetas pelo baço (Gaunt et al. 2010).

Em relação ao bioquímico houve diferença entre a albumina que ocorreu uma diminuição do grupo 2, aumento de globulinas ainda redução de cálcio e cloretos.

Em relação às proteínas não houveram diferença estática em IgA, transferrina, albumina, em relação aos grupos. Entretanto na alpha-antitripsina e IgG de cadeia pesada houveram diferenças estatísticas, sendo que houve um aumento no grupo 2 em relação ao grupo 1 e em PM 2300 houve uma diminuição no grupo 2.

A alfa 1-antitripsina também é uma proteína de fase aguda que em quadros infecciosos tende a ter um aumento precoce em sua concentração sérica de forma rápida. Tanto a α -1-antitripsina quanto a IgG podem ser avaliadas em pacientes com suspeita de erliquiose monocítica canina, principalmente na fase subclínica da doença como

possíveis biomarcadores, tanto de forma individualizada quanto em associação (Céron et al. 2005). A hipoalbuminemia também encontrada por Harrus et al. (1996), pode estar relacionada a perda periférica de albumina nos líquidos edematosos resultantes do aumento da permeabilidade vascular, hemorragias e diminuição da síntese protéica. Além de diminuir devido ao aumento na produção de imunoglobulinas no animal infectado, o que está relacionada com a hiperglobulinemia por meio do aumento de gamaglobulina, que é comum na fase subclínica da doença, pois a doença promove uma prolongada estimulação antigênica. Por isso, mesmo cães assintomáticos, apresentam alto título de anticorpos (Harrus et al. 1998).

Conclusão

A presença de hiperglobulinemia nos animais infectados está associada à prolongada estimulação antigênica realizada pela *E. canis*, consequentemente também levando ao aumento de IgG (anticorpos contra a doença) e contribuindo para a diminuição da albumina, que pode ocorrer devido ao processo inflamatório causado pela bactéria, como na vasculite e aumento da permeabilidade vascular. Esse processo inflamatório pode ser detectado através do aumento da proteína de fase aguda positiva α -1-antitripsina, o qual indica uma resposta ativa. Portanto, a avaliação desses parâmetros é importante para o diagnóstico da doença na fase subclínica devido à ausência de sinais clínicos e para que o tratamento seja instituído antes da evolução para a fase crônica. Entretanto, mais estudos são necessários para completa elucidação dos resultados obtidos.

Nos exames ultrassonográficos, alguns cães do grupo infectado apresentaram lin-fonodomegalia, esta alteração pode estar relacionada com a doença erliquiose, segundo Couto (1998), uma grande quantidade de bactérias se concentram em macrófagos esplênicos, sendo assim consequentemente, fígado e linfonodos, que também participam do sistema fagocítico mononuclear, podem ser afetados. Outro achado comum nos animais positivos para *Ehrlichia canis*, foi a presença de lama biliar, esta alteração é considerada como um achado comum em cães, sendo considerada fisiológica (Ko et al. 1999). Outra alteração encontrada em alguns dos cães do grupo infectado foi a nefropatia crônica bilateral, esta alteração pode estar relacionada a deposição de imunocomplexos nos rins, levando consequentemente na destruição das células renais pelo sistema imune, assim como demonstram alguns estudos (Silva et al. 2015). Ademais, a presença de cistite em alguns animais pode estar relacionada a alteração renal, devido a ineficiência de executar sua função de filtra e reabsorver a glicose, tornando a urina um meio de cultura ideal para agentes causadores de afecções como a cistite (Faria et al. 2011). Alguns cães apresentaram hiperplasia prostática benigna, o valor elevado desta incidência pode estar relacionado ao fato de se tratarem de cães idosos e não castrados, não havendo possível relação com a erliquiose.

Referências

- Castiglioni M.C.R., Silva J.P., Oliveira N.B. & Mamprim M.J. 2020. Influência da idade na ultrassonografia renal de cães e gatos: O que se sabe. *Vet. e Zootec.* 27: 1-7.
- Cerón L.L., Eckersall P.D. & Martínez-Subiela S. 2005. Acute phase proteins in dogs and cats: current knowledge and future perspectives. *Vet Clin Pathol.* 34(2): 85-99.
- Couto C.G. 1998. Doenças rickettsiais, p. 139-142. In: Birchard M. & Sherding L. (Eds.), *Manual Saunders: clínica de pequenos animais.* São Paulo, Roca.
- Escribano D., Cihan H., Martínez-Subiela S., Levent P., Kocaturk M., Aytug N., Cerón J., Tvarijonaviciute A. & Yilmaz Z. 2017. Changes in serum proteins in dogs with *Ehrlichia canis* infection. *Microbial Pathogenesis.* 113: 34-39.
- Faria J.L.M., Munhoz T.D., João C.A.F., Vargas-Hernández G., André M.R., Pereira W.A.B., Machado R.Z. & Tinucci-Costa M. 2011. *Ehrlichia canis* (Jaboticabal strain) induces the expression of TNF- in leukocytes and splenocytes of experimentally infected dogs. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* 20(1): 71-74.
- Figueiredo M.R. 2011. Babesiose e erliquiose caninas. Monografia de Especialização em Clínica Médica de Pequenos Animais, Qualittas Instituto de Pós-Graduação, Rio de Janeiro. 88p.
- Galant P.R. 2010. Erliquiose monocítica canina. Trabalho de Conclusão de Curso em Medicina Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 33p.

- Garcia D.A., Martins K.P., Cortezi A.M. & Gomes D.E. 2018. Erliquiose e Anaplasmosse canina: revisão de literatura. *Revista Científica-PKP*. 1(1): 1-9.
- Gaunt S.D., Stillman B.A., Lorentzen L., Diniz P.P.V.P., Chandrashekar R. & Breitschwendt E.B. 2010. Experimental infection and co-infection of dogs with *Anaplasma platys* and *Ehrlichia canis*: hematologic, serologic and molecular findings. *Parasites & Vectors*. 3(33): 33-42.
- Greene C.E. 2012. *Ehrlichia* and *anaplasma* infections, p. 227-260. In: Greene C.E. (Ed.), *Infectious diseases of the dog and cat*. 4^a ed. Saint Louis, Elsevier.
- Harrus S., Waner T., Keysary A, Aroch I, Voet, H. & Bark, H. 1998. Investigation of splenic functions in canine monocytic ehrlichiosis. *Vet Immunol Immunopathol*. 62(1): 15-27.
- Ko A. I., Reis M.G., Dourado C.M.R., Johnson JR W.D. & Riley L. W. 1999. Urban epidemic of severe leptospirosis in Brazil. *Lancet*. 354(9181): 820-825.
- Kommenou A.A., Mylonakis M.E., Kouti V., Tendoma L., Leontides L., Skountzou E., Dessiris A., Koutinas A.F. & Ofri R. 2007. Ocular manifestations of natural canine monocytic ehrlichiosis (*Ehrlichia canis*): a retrospective study of 90 cases. *Vet Ophthalmol*. 10(3): 137-142.
- Maia V.K.M., Teles J.A.A. & Furtado G.D. 2020. Erliquiose canina precedida por deslocamento de retina: relato de caso. *Environ. Smoke*. 3(3): 7-11.
- Mathias M.I.C., Furquim K., Abreu R.M.M. & Sodelli L. F. 2020. Doenças transmitidas por carrapatos de importância médica-veterinária, p. 12-46. In: Melchior L.A.K., Ma-Lavazi P.F.N.S., Camargo L.M.A., Oliveira J. & Meneguetti D.U.O. (Eds.), *Atualidades em medicina tropical no Brasil: veterinária*. Rio Branco, *Stricto Sensu*.
- Moreno I.F., Carrera A.C., Luz M.B., Paolozzi R.J. & Paolozzi P.C. 2019. Utilização do teste ELISA e imunocromatografia para erliquiose em cães com trombocitopenia. In: *Anais XI Encontro Internacional de Produção Científica, Maringá, PR*, p. 1-4 (Resumo).
- Peixoto C.S. 2019. Alterações oculares e hematológicas em cães acometidos por *Ehrlichia canis* e co-infecções. *Dissertação de Mestrado, Universidade de Brasília, Brasília*.
- Pesapane R., Foley J., Thomas R. & Castro L.R. 2019. Molecular detection and characterization of *Anaplasma platys* and *Ehrlichia canis* in dogs from northern Colombia. *Vet Microbiol*. 233(5): 184-189.
- Silva M., Costa C., Cintra C., Souza G., Ribeiro G., Heitor T., Nascimento M., Magalhães L. & Crivelenti L. Alterações glomérulo-tubulares em cães infectados por *Ehrlichia canis*. *Investigação*. 14(6): 17-21.

Figure Legends

Fig. 1-4. Clinical presentation of animals affected by leukoencephalomalacia. (1-2) Horses presenting head pressing. (3-4) Horses presenting semicomatose mental state and lateral recumbency. Botucatu/SP, 2019.

Fig. 5-7. Macroscopic and microscopic alterations observed in the central nervous system of the animals affected by leukoencephalomalacia. (5) Gross image of an equine brain affected by leukoencephalomalacia with hemispheres asymmetry (arrow). (6) Microscopic image of white matter malacia with moderate glial cells and vascular congestion. Cortex. HE, obj.40x. (7) Microscopic image of white matter necrosis and mild hemorrhage. Brainstem. HE, obj.40x. Botucatu/SP, 2019.

Fig. 8. Mycotoxological analysis by HPLC technique of the contaminated feed offered to five horses affected by leukoencephalomalacia (n=5). Botucatu/SP, 2019.

Table Titles

Table 1. Identification and neurological clinical signs of the affected animals by leukoencephalomalacia (n=11), in Botucatu/SP, 2019

Table 2. Serum biochemistry and cerebrospinal fluid findings from affected horses with leukoencephalomalacia (n=8), in Botucatu/SP, 2019