

<https://doi.org/10.31533/pubvet.v15n12a994.1-5>

Análise de achados laboratoriais em cães com erliquiose em Poços de Caldas, Minas Gerais

Jackeline Alves Neves^{1*}, Lilian Barreto Elston², Marcelo Landim Brisola²

¹Discente do curso de especialização em Patologia Clínica e Citopatologia em Pequenos Animais em Faculdade Associação Nacional de Clínicos Veterinários de Pequenos Animais - ANCLIVEPA, São Paulo-SP Brasil.

²Professor (a) em Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais Campus Poços de Caldas, Poços de Caldas-MG Brasil.

*Autor para correspondência, E-mail: jackeline.an.medvet@gmail.com

Resumo. Erliquiose é uma doença de distribuição mundial e caráter severo, caso não diagnosticada e tratada corretamente o prognóstico é reservado. O presente estudo teve por objetivo analisar todos os laudos de cães machos e fêmeas adultos no período de 2016 a 2019, separando-os em grupo positivo (16), composto por animais que apresentaram mórulas de *Ehrlichia* spp. no esfregaço sanguíneo e grupo negativo (43), com cães hígidos, cujas amostras foram enviadas a laboratório comercial na cidade de Poços de Caldas, MG, Brasil. Foi realizada estatística descritiva dos parâmetros hematológicos e bioquímicos de cada grupo e análise de comparação com Teste F e Teste de Kruskal-Wallis, com nível de significância de 5%. Os parâmetros significativos neste estudo foram: VCM (P = 0,02), CHCM (P = 0,0005), Leu/mm³ (P = 0,002), Lin% (P = 0,005), Pla_q x 10³/mm³ (P < 0,0001), PPT (P = 0,02) e ALT (P = 0,009). Os achados laboratoriais foram semelhantes aos descritos na literatura, porém sendo inespecíficos é necessária associação com histórico clínico, exame físico e demais exames complementares para diagnóstico.

Palavras-chave: Bioquímica clínica, *Ehrlichia* spp., hematologia

Analysis of laboratory findings in dogs with ehrlichiosis in Poços de Caldas, Minas Gerais

Abstract. Ehrlichiosis is a disease of worldwide distribution and severe character, if undiagnosed and properly treated the prognosis is reserved. This article carried out data analysis from all adult canine male and female samples sent in a period from 2016 to 2019 to a commercial diagnostic laboratory located in Poços de Caldas city, Minas Gerais state, in Brazil. The samples were separated into a positive group (16), composed of dogs that presented *Ehrlichia* spp. morulae in blood smear and negative group (43), with healthy dogs. Descriptive statistics of hematological and biochemical parameters of each group were previously performed and the comparison analysis was tested with F Test and Kruskal-Wallis Test, with a significance level of 5%. The significant parameters in this study were: VCM (P = 0.02), CHCM (P = 0.0005), Leu/mm³ (P = 0.002), Lin% (P = 0.005), Plat x 10³/mm³ (P < 0.0001), PPT (P = 0.02) e ALT (P = 0.009). The laboratory findings were similar to those was described in the literature. However, they are non-specific, being required for diagnostic the association with clinical history, physical examination and other complementary tests.

Keywords: Clinical biochemistry, *Ehrlichia* spp., hematology

Análisis de hallazgos de laboratorio en perros con ehrlichiosis en Poços de Caldas-MG

Resumen. La erliquiosis es una enfermedad de distribución mundial y de carácter grave, si no se diagnostica y trata correctamente, el pronóstico es reservado. El presente estudio tuvo como objetivo analizar todos informes de perros adultos machos y hembras de 2016 a 2019, separándolos en un grupo positivo (16), compuesto por perros que presentaron mórulas de *Ehrlichia* spp. en el frotis de sangre y grupo negativo (43), con perros sanos, cuyas muestras fueron enviadas a un laboratorio comercial en la ciudad de Poços de Caldas, Minas Gerais, Brasil. Se realizó una estadística descriptiva de los parámetros hematológicos y bioquímicos de cada grupo y un análisis de comparación con la Prueba F y la Prueba de Kruskal-Wallis, con un nivel de significación del 5%. Los parámetros significativos en este estudio fueron: VCM (P = 0,02), CHCM (P = 0,0005), Leu/mm³ (P = 0,002), Lin% (P = 0,005), Plaquetas x 10³/mm³ (P < 0,0001), PPT (P = 0,02) e ALT (P = 0,009). Los hallazgos de laboratorio fueron similares a los descritos en la literatura; sin embargo, al no ser específicos, es necesaria una asociación con la historia clínica, el examen físico y otras pruebas de diagnóstico.

Palabras-clave: Bioquímica clínica, *Ehrlichia* spp., hematología

Introdução

As bactérias do gênero *Ehrlichia* spp. são intracelulares obrigatórias e seu ciclo envolve um hospedeiro vertebrado infectado e um carrapato como vetor. Animais selvagens são hospedeiros e reservatórios naturais; porém, infecções em animais de companhia e humanos são recorrentes ([Almosny, 1998](#); [Kohn et al., 2008](#); [Saito & Walker, 2016](#)). Em hospedeiros naturais a infecção costuma ser subclínica, já em hospedeiros acidentais severa. Sabe-se que a distribuição é mundial e a incidência vem aumentando em diversos países ([Sainz et al., 2015](#); [Saito & Walker, 2016](#)).

Segundo Dumler et al. ([2001](#)) e Kohn et al. ([2008](#)), essa doença é transmitida pelos carrapatos *Ixodes* spp., *Rhipicephalus* spp. e *Amblyoma* spp., permanecendo albergadas por todos os estágios do ciclo do artrópode. A infecção ocorre pela inoculação da secreção salivar do carrapato. Cães infectados apresentam sinais clínicos inespecíficos, sendo as mais comuns letargias, inapetência, febre e esplenomegalia. Alterações nos achados laboratoriais incluem trombocitopenia, anemia, linfopenia, hipoalbuminemia, aumento de atividade de fosfatase alcalina, hiperglobulinemia e aumento de atividade de alanina aminotransferase. Pode cursar doença multisistêmica, com ou sem sangramento, com petéquias e/ou equimoses ([Saito & Walker, 2016](#)). De acordo com Kohn et al. ([2008](#)) e Sainz et al. ([2015](#)), o método de detecção por visualização de mórulas em esfregaço sanguíneo tem baixa sensibilidade. O diagnóstico pode ser feito por PCR, sorológico, observação da mórula em esfregaço sanguíneo e/ou por melhora clínica após iniciar tratamento com doxiciclina.

Objetivou-se com este estudo analisar os laudos de cães que apresentaram mórulas de *Ehrlichia* spp. em esfregaço sanguíneo, cujas amostras foram enviadas ao setor de Análises Clínicas da clínica Núcleo Veterinário de Poços de Caldas-MG entre 2016 à 2019, comparando estatisticamente os achados laboratoriais e contribuindo com a produção de dados a respeito da doença nesta região.

Material e métodos

Foram analisados nos arquivos do laboratório da clínica Núcleo Veterinário-Medicina Especializada e Intensiva/Poços de Caldas, MG, Brasil, todos os laudos hematológicos e bioquímicos do período de 2016 a 2019 (estudo retrospectivo), onde foram selecionados no total 59 laudos de cães machos e fêmeas adultos para o presente estudo, separando-os em grupo positivo, pertencente aos laudos de hemogramas com a presença de mórulas de *Ehrlichia* spp. (16/59) observadas durante o exame do esfregaço sanguíneo e com laudos de ocasionais exames bioquímicos; grupo negativo, com laudos de cães clinicamente saudáveis os quais foram encaminhados para exames pré-operatórios ou de rotina com nenhuma ou discretas alterações analíticas (43/59).

Os parâmetros escolhidos para análise de comparação entre grupos foram VCM (volume corpuscular médio), CHCM (concentração de hemoglobina corpuscular média), Leu/mm³ (número de

leucócitos/mm³), Neut % (porcentagem de neutrófilos), Lin % (porcentagem de linfócitos), Pla_q x 10³/mm³ (número de plaquetas x10³/mm³), proteína plasmática total (PPT), mensuração sorológica de ALT (alanina aminotransferase), FA (fosfatase alcalina), UR (ureia) e CR (creatinina).

Previamente às análises, foi solicitado que fossem seguidas as diretrizes pré-analíticas, principalmente quanto a coleta, transporte e armazenamento das amostras de forma adequada. O processamento das amostras hematológicas e bioquímicas foi realizado respeitando suas respectivas diretrizes, minimizando interferências analíticas (Cowell & Tyler, 2009; Thrall, 2013).

As análises hematológicas foram realizadas em sua maioria de forma manual, com amostras enviadas em tubos com EDTA. A contagem total de hemácias e leucócitos foi feita pela técnica de macro e micro diluição com posterior mensuração em hematocitômetro por microscopia óptica (NYKON Alphaphot-2 YT[®]), o volume globular foi determinado pelo método micro hematócrito (centrífuga CELM HM[®]). A determinação de hemoglobina foi feita em aparelho de bioquímica líquida semiautomático (Labtest Labquest[®]) com kit comercial (Hemoglobina Labtest[®]). Quando por automação, em equipamento hematológico (Procyte[®]) (Stockham & Scott, 2011; Thrall, 2015).

A proteína total plasmática foi mensurada através do plasma dos tubos dos capilares de micro hematócrito após centrifugação, com leitura por refratometria óptica (RHC-200ACT[®]). A contagem diferencial de leucócitos e visualização de mórulas de *Ehrlichia* spp. foram feitas durante a análise microscópica do esfregaço sanguíneo (Cowell & Tyler, 2009; Thrall, 2015).

Quanto às análises de bioquímica clínica, as amostras foram enviadas em tubos com gel separador com ativador de coágulo e previamente centrifugadas para separação da fração sorológica. As análises de ALT (ALT liquiform[®]), FA (Fosfatase Alcalina liquiform[®]), UR (Ureia liquiform[®]) e CR (Creatinina K[®]) foram realizadas por bioquímica líquida semiautomática seguindo as orientações de seus respectivos kits comerciais (Stockham & Scott, 2011; Thrall, 2015).

Foi verificada a homogeneidade das amostras previamente à análise de diferença estatisticamente significativa dos achados laboratoriais entre os grupos, optando pelo teste de Kruskal-Wallis quando as variáveis instáveis não puderam ser analisadas pelo método paramétrico de escolha (Teste F), tendo como nível de significância 5% (Sampaio, 1998).

Respeitando a ética, a identificação dos cães e nomes de seus proprietários não foram citados neste estudo.

Resultados e discussão

Analisando o levantamento dos resultados encontrados e a estatística descritiva do grupo positivo (Tabela 1), percebeu-se maior alteração nos resultados dos parâmetros hematológicos e bioquímicos, condizentes com as consequências sistêmicas da fisiopatologia da doença descrita por Bowman (2014) e Stockham & Scott (2011), comparado ao grupo negativo (Tabela 2), que apresentou menor variação destes parâmetros, sendo o esperado do grupo controle.

A presença de mórula de *Ehrlichia* spp. no esfregaço sanguíneo teve diferença estatisticamente significativa nos seguintes parâmetros (Tabela 3): VCM (P = 0,02), CHCM (P = 0,0005), Leu/mm³ (P = 0,002), Lin% (P = 0,005), Pla_q x 10³/mm³ (P < 0,0001), PPT (P = 0,02) e ALT (P = 0,009), em concordância com o trabalho de Meneses et al. (2008).

Tabela 1. Estatística descritiva do grupo positivo

	VCM	CHCM	Leu/mm ³	Neut %	Lin %	Pla _q x10 ³ /mm ³	PPT	UR	CR	ALT	FFA
Tamanho da amostra	16	16	16	16	16	16	16	11	10	10	10
Mínimo	60,60	20,40	5100	54	2	12	4,0	13	0,5	20	41
Máximo	120,00	37,40	54100	92	24	340	8,0	65	1,5	141	1260
Amplitude total	59,40	17,00	49000	38	22	328	4,0	52	1	121	1219
Mediana	78,39	29,73	13775	77,50	11,50	168	6,15	30	0,8	71,5	86,5
Média	80,24	29,54	19662,50	76,31	11,50	166	6,10	33,12	0,9	72,9	202,8
Variância	307,90	24,03	20795x10 ⁴	167,02	45,20	9654	1,38	227,13	0,13	1779	139425
Desvio padrão	17,54	4,90	14420,41	12,92	6,72	98,25	1,17	15,07	0,36	42,17	373,39
Erro padrão	4,38	1,22	3605,10	3,23	1,68	24,56	0,29	4,54	0,11	13,33	118,07
CV %	21,87	16,59	73,34	16,94	58,46	58,88	19,27	45,49	40,91	57,85	184,12

Tabela 2. Estatística descritiva do grupo negativo

	VCM	CHCM	Leu/mm ³	Neut %	Lin %	Plaq x10 ³ / mm ³	PPT	UR	CR	ALT	FA
Tamanho da amostra	43	43	43	43	43	43	43	43	43	43	43
Mínimo	60,25	26,11	5350	45	2	200	5,5	17	0,7	5	24
Máximo	76,92	38,65	17340	90	49	774	8,6	76	1,5	73	207
Amplitude total	16,67	12,54	11990	45	47	574	3,1	59	0,8	68	183
Mediana	67,00	34,10	9750	71	18	320	6,80	34	1,1	36	74
Média	68,62	33,99	10236	70,55	19,51	357,88	6,92	36,48	1,06	36,04	79,79
Variância	26,86	5,68	1093200	118,82	106,87	19351	0,57	188,16	0,03	353,42	1729
Desvio padrão	5,18	2,38	3306,40	10,90	10,33	139,10	0,75	13,71	0,19	18,79	41,57
Erro padrão	0,79	0,36	504,22	1,66	1,57	21,21	0,11	2,09	0,03	2,86	6,34
CV%	7,55	7,01	32,30	15,45	52,98	38,87	10,95	37,59	18,65	52,15	52,11

Tabela 3. Análise de comparação dos achados laboratoriais entre os grupos positivo e negativo

	VCM	CHCM	Leu/mm ³	Neut %	Lin %	Plaq x10 ³ / mm ³	PPT	UR	CR	ALT	FA
(P) Kruskal-Wallis	0,0223	0,0005	0,0024				0,0287		0,12	0,009	0,31
(P) Teste F.				0,0883	0,0058	<0,0001		0,50			

P > 0,05: não significativo

Tratando-se as bactérias *Ehrlichia* spp. de cocobacilos gram-negativos intracelulares obrigatórios de células leucocitárias, especialmente mononucleares (Dumler et al., 2001), a alta relação com alterações em VCM, CHCM, Leu/mm³, Lin%, Plaq x 10³/mm³ e PPT foi justificada, uma vez que nas fases aguda, subclínica e crônica da doença as alterações laboratoriais frequentemente encontradas são anemia, leucopenia ou leucocitose, linfopenia ou linfocitose, hiperglobulinemia e hipoalbuminemia, além de importante trombocitopenia (Meneses et al., 2008), que foi evidenciada com o maior valor de diferença significativa encontrada de Plaq x 10³/mm³.

A anemia causada pela erliquiose está associada à hipoplasia ou aplasia medular, onde a infecção suprime a hematopoese diretamente, por mielite ou por efeitos secundários como reações imunes, podendo cursar anemia aplástica (Stockham & Scott, 2011), evidenciado nas alterações de VCM e CHCM na maioria dos cães positivos.

As bactérias da família *Anaplasmataceae* podem parasitar os leucócitos de diversas espécies e neles multiplicarem-se, sendo as monocíticas (*E. canis*) mais espécie-específicas do que as granulocíticas (*E. ewingii*). No esfregaço sanguíneo, localizam-se em vacúolos citoplasmáticos leucocitários denominados mórulas, corando-se de azul-acinzentado. Infecções bacterianas agudas cursam em linfopenia por alterações na cinética dos linfócitos, onde há redução dos linfócitos circulantes estimulada por mediadores inflamatórios agudos, ativando o retorno de linfócitos para linfonodos e redução da saída dos mesmos. Já as infecções bacterianas crônicas levam a linfocitose, devido a linfopoiése elevada em resposta a estimulação crônica por antígenos ou citocinas, sendo acompanhada de um sistema linfoide hiperplásico (Stockham & Scott, 2011). Neste estudo, a maioria dos cães positivos analisados apresentaram linfopenia, provavelmente por estarem em fase clínica da doença.

De acordo com Stockham & Scott (2011), a inflamação é uma causa comum de hiperproteinemia, onde há aumento da síntese de globulinas, com hipoalbuminemia por lesão hepática, mas não necessariamente causa hiperproteinemia. No presente estudo, comparando a média de proteína total plasmática entre grupos, pode-se observar que o grupo positivo apresentou menor valor do que o grupo negativo, mesmo que ainda dentro da referência.

A trombocitopenia associada a infecção é multifatorial, mas frequentemente ocorre por diminuição na produção de plaquetas. Infecção por *E. canis* está associada a hipoplasia generalizada da medula óssea, sequestro esplênico e destruição pelo sistema fagocitário mononuclear, cursando em trombocitopenia (Stockham & Scott, 2011). Segundo Bowman (2014), Silva et al. (2013), Isola et al. (2012) e Damas (2012), a infecção pode levar a deposição de imunocomplexos e citocinas inflamatórias, consequentemente vasculite e agregação plaquetária. Trombocitopenia foi observada na maioria dos cães positivos deste estudo.

O aumento da atividade sérica da ALT está relacionado a lesão de hepatócitos devido à inflamação, sendo o mais importante marcador bioquímico em cães para tal avaliação, porém pode estar relacionado a um falso aumento por hemólise, o qual costuma ser moderado, de acordo com Stockham & Scott (2011). Dos parâmetros bioquímicos analisados, somente ALT teve valor de P significativo.

Concluiu-se no presente estudo que os achados hematológicos e bioquímicos foram semelhantes aos já descritos na literatura e, sendo inespecíficos, reforça-se a importância da associação de diversos parâmetros laboratoriais com outros métodos diagnósticos, sendo essenciais a obtenção do histórico clínico e a realização do exame físico completo para formulação de um diagnóstico confiável, onde o uso de métodos diagnósticos mais sensíveis e específicos, como a análise sorológica ou de PCR, levam a um melhor prognóstico ao paciente.

Referências bibliográficas

- Almosny, N. R. P. (1998). *Ehrlichia canis* (Donatien & Lestoquard, 1935): Avaliação parasitológica, hematológica e bioquímica sérica da fase aguda de cães e gatos experimentalmente infectados. *Rio de Janeiro*.
- Bowman, D. D. (2014). *Georgis' Parasitology for Veterinarians-E-Book*. Saunders Company.
- Cowell, R. L., & Tyler, R. D. (2009). *Diagnostic cytology and hematology of the horse E-Book*. Elsevier Health Sciences.
- Damas, J. K. A. (2012). *Erliquiose Canina: Revisão de Literatura*. Universidade Paulista.
- Dumler, J. S., Barbet, A. F., Bekker, C. P., Dasch, G. A., Palmer, G. H., Ray, S. C., Rikihisa, Y., & Rurangirwa, F. R. (2001). Reorganization of genera in the families Rickettsiaceae and Anaplasmataceae in the order Rickettsiales: unification of some species of Ehrlichia with Anaplasma, Cowdria with Ehrlichia and Ehrlichia with Neorickettsia, descriptions of six new species combi. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 51(6), 2145–2165. <https://doi.org/10.1099/00207713-51-6-2145>.
- Isola, J. G. M. P., Cadioli, F. A., & Nakage, A. P. (2012). Erliquiose canina–revisão de literatura. *Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária*, 18, 1–11.
- Kohn, B., Galke, D., Beelitz, P., & Pfister, K. (2008). Clinical features of canine granulocytic anaplasmosis in 18 naturally infected dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 22(6), 1289–1295. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2008.0180.x>.
- Meneses, Í. D. S., Souza, B. M. P. S., Teixeira, C. M. M., & Guimarães, J. E. (2008). Perfil clínico-laboratorial da erliquiose monocítica canina em cães de Salvador e região metropolitana, Bahia. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, 9(4), 770–776.
- Sainz, Á., Roura, X., Miró, G., Estrada-Peña, A., Kohn, B., Harrus, S., & Solano-Gallego, L. (2015). Guideline for veterinary practitioners on canine ehrlichiosis and anaplasmosis in Europe. *Parasites & Vectors*, 8(1), 75. <https://doi.org/https://doi.org/10.1186/s13071-015-0649-0>.
- Saito, T. B., & Walker, D. H. (2016). Ehrlichioses: An important one health opportunity. *Veterinary Sciences*, 3(3), 1–17. <https://doi.org/10.3390/vetsci3030020>.
- Sampaio, I. B. M. (1998). *Estatística aplicada à experimentação animal* (Vol. 1). FEP-MVZ.
- Silva, M. V. M., Fernandes, R. A., Nogueira, J. L., & Ambrósio, C. E. (2013). Erliquiose canina: revisão de literatura. *Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia Da UNIPAR*, 14(2), 139–143.
- Stockham, S. L., & Scott, M. A. (2011). Fundamentos de patologia clínica veterinária. In *Guanabara Koogan* (Vol. 8).
- Thrall, D. E. (2013). *Textbook of veterinary diagnostic radiology*. Elsevier Health Sciences.
- Thrall, M. A. (2015). *Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária*. In 2. ed. Editora Roca.

Histórico do artigo:

Recebido: 13 de agosto de 2021

Aprovado: 15 de setembro de 2021

Disponível on-line: 20 de novembro de 2021

Licenciamento: Este artigo é publicado na modalidade Acesso Aberto sob a licença Creative Commons Atribuição 4.0 (CC-BY 4.0), a qual permite uso irrestrito, distribuição, reprodução em qualquer meio, desde que o autor e a fonte sejam devidamente creditados.