

## Ocorrência de reagentes positivos para agentes da Anaplasmosse Granulocítica por testes imunoenzimáticos de animais sentinelas em Campos dos Goytacazes, RJ.

Positive reagent occurrence for Granulocytic Anaplasmosis agents by enzyme immunoassays of sentinel animals in Campos dos Goytacazes , RJ .

**Bethânia do Amaral Falcão<sup>1</sup>; Anderson Barros Teixeira Pinto<sup>2</sup>; Mariana Palha de Brito Jardim<sup>3</sup>; Antonio Peixoto Albernaz<sup>4</sup>**

<sup>1</sup> Médica Veterinária. Mestranda em Ciência Animal pela Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Email: bethanialfalcão@hotmail.com.

<sup>2</sup> Médico Veterinário. Doutorando em Ciência Animal pela Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Email: andersonbtvet@gmail.com.

<sup>3</sup> Graduanda em Medicina Veterinária e bolsista de Iniciação Científica pela Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Email: jardim.marii@gmail.com.

<sup>4</sup> Médico Veterinário. Professor Associado em Clínica Médica em Pequenos Animais da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Email: ap.albernaz@gmail.com.

Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Departamento de Patologia Clínica do Laboratório de Clínica e Cirurgia Animal / Hospital Veterinário. Av. Alberto Lamego, nº 2000, Bairro Parque Califórnia, Campos dos Goytacazes, RJ

### Resumo

**Introdução:** *Anaplasma phagocytophilum* é uma bactéria intracelular obrigatória, Gram-negativa, pertencente à família Anaplasmataceae, que pode ser encontrada predominantemente em neutrófilos de várias espécies de mamíferos. O carrapato pode atuar como um vetor competente transmissor do agente de uma doença conhecida como Anaplasmosse Granulocítica Canina e Humana. Os cães atuam como sentinelas para exposição humana e têm o potencial de serem fonte de infecção por conterem carrapatos infectados capazes de transmitir o agente infeccioso aos humanos. **Objetivos:** O presente estudo teve como objetivo detectar a presença de anticorpos anti-*Anaplasma phagocytophilum* e determinar a proporção de cães reagentes para este agente em Campos dos Goytacazes - Rio de Janeiro, destacando o importante papel desta bactéria como zoonose.

### Abstract

**Introduction:** *Anaplasma phagocytophilum* is an obligate intracellular bacteria, Gram-negative, belonging to the family Anaplasmataceae, which can be found predominantly in neutrophils of various species of mammals. The tick can act as a competent vector and transmitter of agent of a disease known as Canine and Human Granulocytic Anaplasmosis. Dogs act as sentinels for human exposure and have the potential to be a source of infection for containing infected ticks capable of transmitting infectious agents to humans. **Objectives:** This study aimed to detect the presence of anti-*Anaplasma phagocytophilum* antibodies and determine the proportion of reagents dogs for this agent in Campos dos Goytacazes - Rio de Janeiro, highlighting the important role of this bacterium as a zoonosis. **Methods:** 40 dogs suspected of carrying *A. phagocytophilum* were used having at

**Métodos:** Foram utilizados 40 cães suspeitos de serem portadores de *A. phagocytophilum* apresentando no mínimo 3 sinais clínicos e/ou sintomas compatíveis com Anaplasmosse Granulocítica Canina e histórico ou presença de carrapatos. Estes animais passaram por exame físico e coleta de sangue para avaliação do teste imunoenzimático SNAPs 4DX (IDEXX), realização de hemograma e pesquisa de hemocitozoários.

**Discussão:** Dos animais testados, verificou-se que 14 / 40 cães (35%) mostraram-se reagentes para o teste, determinando desta forma, a ocorrência de 35% de cães reagentes para *A. phagocytophilum*. As anormalidades hematológicas mais comuns foram trombocitopenia (78,57%) e anemia (50%).

**Conclusões:** O presente está contribuindo para o estudo soroepidemiológico no país e indicando exposição dos animais e da população humana da região a este agente, sendo de suma importância na saúde pública.

**Palavras-chave:** Anaplasmosse Granulocítica Canina, zoonose, discrasias.

least three clinical signs and / or symptoms consistent with Canine Granulocytic Anaplasmosis and historical or ticks presence. These animals were subjected to physical examination and blood collection for evaluation of enzyme immunoassay SNAPs 4DX (IDEXX), hemogram and hemocytology research. Discussion: Among the animals tested, it was found that 14/40 dogs (35%) showed positive to the test, thereby determining the presence of 35% reagent dogs for *A. phagocytophilum*. The most common hematologic abnormalities were thrombocytopenia (78.57%), anemia (50%). **Conclusions:** This is contributing to the seroepidemiological study in the country and indicating exposure of animals and the human population in the region to this agent, which is extremely important for public health.

**Keywords:** Canine Granulocytic Anaplasmosis, zoonosis, dyscrasias.

## Introdução

*Anaplasma phagocytophilum* é uma bactéria intracelular obrigatória, Gram-negativa, pertencente à família Anaplasmataceae, que pode ser encontrada predominantemente em neutrófilos de várias espécies de mamíferos, incluindo cães, felinos, equinos e humanos<sup>1</sup>.

A transmissão deste agente ocorre por carrapatos, podendo ser inoculados em vários animais, inclusive humanos. Recentemente foi relatada a primeira caracterização molecular de *A. phagocytophilum* em carrapatos *Rhipicephalus sanguineus* no Egito, sugerindo que esta espécie de carrapato pode atuar como um vetor competente para uma cepa variante do agente de uma doença conhecida como Anaplasmosse Granulocítica Humana (AGH)<sup>2</sup>. Este vetor é predominante na transmissão de agentes Anaplasmataceae no Brasil.

Dumler e colaboradores, incorporando informações de biologia molecular, reclassificaram a família Anaplasmataceae, de forma que algumas espécies foram transferidas para o gênero *Anaplasma*, como a *Anaplasma platys* (antiga *Ehrlichia platys*),

*Anaplasma phagocytophilum* (junção entre *Ehrlichia equi* e *Ehrlichia phagocytophila*), e *Anaplasma bovis* (antiga *Ehrlichia bovis*). Desta forma, o agente *A. phagocytophilum*, antes dividida em espécies que causavam a doença granulocítica nos animais, atualmente é considerada a única espécie causadora da anaplasmosse granulocítica nos animais, inclusive os humanos<sup>1</sup>.

Os cães e seres humanos são hospedeiros acidentais. A bacteremia parece ser de curta duração (< 28 dias) e como tais, cães e seres humanos não são importantes na transmissão para outras espécies hospedeiras<sup>3</sup>.

Em humanos, o agente causa uma enfermidade febril aguda, não-específica, previamente conhecida como Erliquiose Granulocítica Humana e agora denominada de Anaplasmosse Granulocítica Humana (AGH)<sup>4</sup>.

O microorganismo foi descrito pela primeira vez como patógeno após ser identificado no citoplasma de leucócitos de ovelhas na Escócia<sup>5</sup>. Os primeiros relatos da Anaplasmosse Granulocítica Equina ocorreram em 1968, na Califórnia (EUA)<sup>6</sup>. Cães infectados por *A. phagocytophilum* foram identificados na Califórnia

(EUA) em 1982<sup>7</sup>. Os primeiros relatos de infecção granulocítica em seres humanos vieram do centro-oeste nos Estados Unidos, em 1993, e desde então, a AGH tem sido cada vez mais reconhecida nos Estados Unidos, Europa e Ásia<sup>8</sup>. Desde 2007, na China, 713 casos de AGH (causada por *A. phagocytophilum*) são relatados, sendo 26 mortos só em 2010<sup>9</sup>.

Notavelmente, a AGH tem sido relatada em todo o mundo, com o reconhecimento da doença clínica em pelo menos quatorze países da Europa e, provavelmente, na China, Sibéria, Rússia e Coreia. Nos Estados Unidos, desde 1998, a doença é de notificação obrigatória aos órgãos federais, e sete casos fatais de AGH foram relatados até 2005<sup>10</sup>. No Brasil, há a descrição de casos suspeitos de anaplasmosse em pacientes no Estado de Minas Gerais e o recente diagnóstico molecular dos primeiros casos de erliquiose granulocítica humana no Estado de São Paulo<sup>11</sup>.

Dentre os métodos de diagnóstico, os mais utilizados são a pesquisa de mórulas em esfregaço sanguíneo, detecção de anticorpos por imunofluorescência indireta, ou amplificação de DNA através da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)<sup>12</sup>. Recentemente, foi lançado no mercado o ELISA 4DX (IDEX® LABORATORIES) que usa um peptídeo sintético baseado na proteína imunodominante p44 como antígeno que é capaz de detectar, dentre outros, anticorpos para *A. phagocytophilum*<sup>13</sup>.

A soropidemiologia de *A. phagocytophilum* em cães tem sido avaliada em todo mundo, embora nenhum caso de evidência molecular nem culturas positivas tenham sido documentados no hemisfério sul. Os cães atuam como sentinelas para exposição humana e têm o potencial de serem fontes de infecção por conterem carrapatos infectados capazes de transmitir o agente infeccioso aos humanos<sup>14</sup>.

Considerando a importância da Anaplasmosse Granulocítica Canina na Clínica Médica Veterinária juntamente com seu imenso potencial zoonótico e a carência de estudos do agente infeccioso em cães no país, o presente estudo teve como objetivos detectar a presença de anticorpos anti-*Anaplasma phagocytophilum* e determinar a proporção de cães reagentes para este agente em Campos dos Goytacazes - Rio de Janeiro, destacando o importante papel desta bactéria como zoonose.

## Material e métodos

Os experimentos foram realizados no Setor de Clínica Médica de pequenos animais e no Setor de Patologia Clínica do Hospital Veterinário-UENF, no município de Campos dos Goytacazes, RJ. Foram utilizados 40 cães suspeitos de serem portadores de *A. phagocytophilum*, independente de raça, sexo ou idade. Todos os animais apresentaram no mínimo três sinais clínicos e/ou sintomas compatíveis com Anaplasmosse Granulocítica Canina, e histórico ou presença de carrapatos. Estes animais passaram por exame físico e coleta de sangue para avaliação do teste imunoenzimático SNAPs 4DX (IDEX LABORATORIES®), realização de hemograma e pesquisa de hemocitozoários durante atendimento clínico, no período de abril de 2011 a fevereiro de 2012.

As amostras laboratoriais foram transportadas para o Setor de Patologia Clínica do Laboratório de Clínica e Cirurgia Animal do Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da UENF, em Campos dos Goytacazes, RJ, para a realização dos procedimentos como hemograma, pesquisa de hemoparasitas e para a realização dos ensaios imunoenzimáticos.

Os SNAPs 4DX (IDEX LABORATORIES®) foram armazenados entre 2 e 8°C. Portanto, foram retirados da refrigeração 30 minutos antes de sua utilização. Cada kit do SNAP 4DX possui um recipiente com o reagente, uma pipeta, um tubo para a amostra sanguínea e o SNAP. Foi realizada venopunção cefálica para obtenção de 0,5mL de sangue, o qual foi acondicionado em tubos contendo EDTA. Deste, com o auxílio da pipeta, foram retiradas três gotas de sangue da amostra do paciente veterinário, as quais foram introduzidas no tubo de ensaio. Em seguida foram acrescentadas ao tubo quatro gotas do reagente. O tubo foi fechado e o sangue homogeneizado. Em seguida, o conteúdo do tubo foi depositado no SNAP, no local para esta finalidade. Dentro de 30 a 60 segundos a amostra passa pelo círculo de ativação, quando é pressionado o ativador do SNAP. A leitura do teste foi realizada após oito minutos, avaliando a presença de reação de cor no controle positivo e de cor na área de reação para *Anaplasma phagocytophilum*, verificando se os animais foram reagentes ou não para o agente em questão. Se apenas a área do controle positivo mudar de cor, há negatividade para anticorpos anti-*Anaplasma phagocytophilum*, no entanto se houver reação de cor no controle positivo e na área de reação para *A. phagocytophilum* significa que houve reação positiva da amostra para

o agente em questão, como pode ser verificada na figura 1.



**Figura 1:** Reação positiva para *Anaplasma phagocytophilum* no SNAP 4Dx. Fonte: Bethânia do Amaral Falcão. Local: Departamento de Patologia Clínica/ Hospital Veterinário/UENF.

Os cães reagentes para *A. phagocytophilum* foram encaminhados para o setor de Clínica médica de pequenos animais do Hospital Veterinário da UENF para acompanhamento médico veterinário, sendo preconizado o antibiótico bacteriostático doxiciclina como tratamento de escolha.

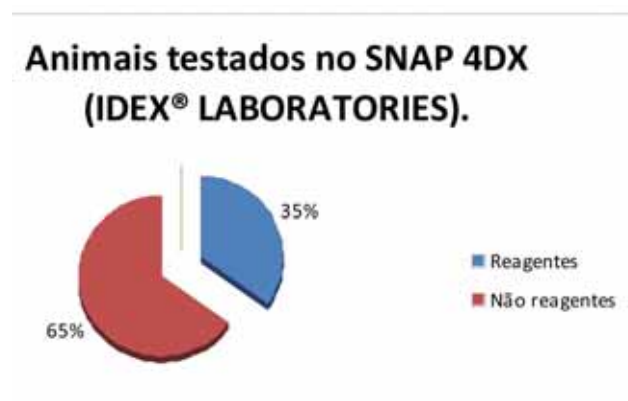
Para análise dos dados obtidos, foi realizada a análise descritiva através da obtenção de percentagens para determinar a proporção de amostras de animais reagentes para *Anaplasma phagocytophilum* e, desta forma, obter a ocorrência de animais reagentes em Campos dos Goytacazes, RJ.

Após descrição da percentagem de ocorrência, foram obtidas as percentagens relacionadas a cada alteração clínica e hematológica encontrada dentre os animais reagentes para *A. phagocytophilum*, correlacionando assim os achados clínicos e hematológicos mais comuns em pacientes possivelmente infectados com este hemoparasita.

## Resultados

No presente estudo, 40 cães foram suspeitos de *A. phagocytophilum*, e nestes foram utilizado teste Imunoenzimático SNAP 4DX (IDEXX LABORATORIES®). Destes 40 animais testados, verificou-se que 14 de 40 cães (35%) se mostraram reagentes para o teste, determinando desta forma, a ocorrência de 35% de cães reagentes para *A. phagocytophilum* em Campos dos Goytacazes, no período de abril de

2011 a fevereiro de 2012, como demonstrada na figura 2.



**Figura 2:** Ocorrência de animais reagentes para *A. phagocytophilum* utilizando-se o SNAP 4DX (IDEX® LABORATORIES).

Os animais reagentes para o agente *A. phagocytophilum* apresentaram variados sinais e sintomas clínicos que podem ser representados em proporções de alterações clínicas na doença visualizadas na tabela 1. Dentre as alterações clínicas mais comuns encontram-se a letargia, anorexia e a mucosa hipocorada.

Sinais clínicos/sintomas	Nº animais reagentes-positivos	(%)
Letargia	8	57,14
Anorexia	8	57,14
Vômito	2	14,28
Mucosa hipocorada	4	28,57
Febre	2	14,28

**Tabela 1.** Manifestações clínicas e sintomas mais frequentes apresentados em 14 cães reagentes para *A. phagocytophilum*, utilizando-se o teste Imunoenzimático SNAP 4DX.

Dentre as anormalidades hematológicas as mais comuns foram trombocitopenia (11 do total de 14 amostras avaliadas) e anemia (7 do total de 14 amostras avaliadas), como esperado. Os resultados da análise hematológica foram listados na Tabela 2, visualizadas através de proporções de alterações hematológicas na doença.



Alterações hematológicas	Nº animais reagentes	(%)
Anemia	7	50
Leucopenia	1	7,14
Leucocitose	4	28,57
Linfocitose	3	21,42
Monocitose	2	14,28
Monocitopenia	1	7,14
Trombocitopenia	11	78,57

**Tabela 2.** Anormalidades hematológicas apresentadas em 14 cães reagentes para *A. phagocytophilum*, utilizando-se o teste Imunoenzimático SNAP 4DX.

A proporção de animais reagentes para *A. phagocytophilum* e positivos para hemocitozoários em lâminas, através das análises em esfregaços sanguíneos de sangue periférico dos animais foi na ordem de 4 positivos das 14 amostras reagentes positivos para o ensaio imunoenzimático, sendo, portanto 28,57% dos cães positivos para ambos.

## Discussão

Um estudo com cães nos Estados Unidos, utilizando-se o ELISA indireto (SNAP 4DX, IDEXX LABORATORIES®), revelou que a maior prevalência das amostras com anticorpos para *A. phagocytophilum* foi notificada no Centro-Oeste (6,7%). Amostras reagentes no Nordeste do mesmo país também foram frequentemente relatadas (5,5%). Em alguns estados norteamericanos, tais como Wisconsin e Massachusetts, mais de 50% dos cães foram relatados reagentes<sup>15</sup>. Em outro estado norte americano, Minnesota, uma pesquisa com cães, utilizando-se o mesmo teste, revelou a prevalência de 217 animais (29%) reagentes<sup>16</sup>. Já na França, de acordo com Pantchev e colaboradores, 25 de 919 cães apresentaram anticorpos para *A. phagocytophilum*, representando uma taxa de 2,72%<sup>17</sup>. No Brasil, há poucos relatos de soropidemiologia para este agente, sendo realizados apenas em estudos com Imunofluorescência indireta.

Segundo Dinize colaboradores, a prevalência de resultados sororeagentes dos testes depende se a população de cães da amostra está doente ou saudável, se há suspeita clínica de existir a doença infecciosa, a variação geográfica em relação à exposição ao

carrapato vetor e a presença de hospedeiros reservatórios<sup>18</sup>.

A Anaplasmosse é um importante diagnóstico diferencial para muitas outras apresentações clínicas. Os sinais clínicos atribuíveis ao *A. phagocytophilum* são altamente inespecíficos<sup>19</sup>. De acordo com Kohne colaboradores, que relataram a presença de letargia em quase todos os cães afetados, no presente estudo obteve-se a considerável proporção de 8 / 14 cães (57,14%) com esta característica<sup>20</sup>. Além da presença da mesma proporção para cães apresentando anorexia, concordando, desta forma, com Greig e colaboradores que em sua pesquisa afirmaram que inapetência ou anorexia tem sido relatada em 47 a 88% dos cães positivos<sup>21</sup>.

Resultados sororeagentes em cães sem sinais clínicos atribuíveis a anaplasmosse pode ser devido a uma infecção persistente ou devido a presença de anticorpos persistentes. Um estudo de Egenvall e colaboradores indicou que os títulos de anticorpos elevados persistem em animais infectados cronicamente<sup>22</sup>.

As avaliações hematológicas e as pesquisas de hemoparasitas em lâmina foram de suma importância para descrever as alterações laboratoriais mais comuns causadas por esta bactéria. Segundo Gokce e Woldehiwet um dos principais efeitos da infecção com *A. phagocytophilum* é leucopenia severa devido a linfocitopenia, neutropenia e trombocitopenia<sup>23</sup>. A linfocitopenia é devido a redução de células T e B, no entanto, durante o mesmo período há um significativo aumento do número de leucócitos totais<sup>24</sup>. De acordo com Poitout e colaboradores, a maioria dos cães tem linfocitopenia, sendo linfocitose raramente relatada. No entanto, neste estudo observou-se a presença de 3/14 cães (21,42%) com linfocitose e nenhum registro de linfocitopenia (0%), contrastando desta forma com os autores mencionados. A proporção de animais com leucócitos abaixo dos parâmetros de normalidade não foi uma alteração importante, de forma que 1/14 cães (7,14%) apresentou leucopenia, enquanto que 4/14 (28,57%) animais apresentaram leucocitose<sup>25</sup>. O período de neutropenia coincide com aumento da susceptibilidade à infecção bacteriana piogênica persistente<sup>26</sup>, contudo, esta alteração hematológica não foi observada.

De acordo com Kohn e colaboradores e com os resultados obtidos, a anormalidade laboratorial mais consistente é a trombocitopenia, que ocorre em

aproximadamente 90% dos cães e, segundo este mesmo autor, 11 dos 18 cães na Alemanha apresentavam anemia, com hematócritos que variavam de 19 a 39% (média, 32%)<sup>20</sup>. Neste estudo, foi observada a presença de 11/14 cães, totalizando 78,57% dos animais apresentando contagem plaquetária abaixo dos parâmetros de normalidade. Segundo Lillehook e colaboradores, a medula óssea de cães infectados contém aumento do número absoluto de megacariócitos adultos e megacariócitos imaturos, sugerindo que a trombocitopenia pode ocorrer devido à destruição de plaquetas. Quanto a presença de anemia, 7/14 cães (50%) apresentaram redução do número de eritrócitos circulantes e/ou volume globular (hematócrito), caracterizando assim esta alteração<sup>27</sup>.

A eosinopenia em grande escala também é relatada para ser uma característica importante de *A. phagocytophilum*<sup>28</sup>, contudo esta anormalidade apresentou-se de forma discreta nos resultados obtidos, sendo presente apenas 3/14 cães (21,42%) com eosinopenia. Na análise hematológica, foi observado

1/14 cães com eosinofilia, correspondendo assim 7,14% dos animais.

Segundo Poitout e colaboradores, monocitopenia tem sido relatada em aproximadamente 1/3 dos cães afetados nos EUA<sup>25</sup>. No entanto, vários cães da Alemanha tiveram monocitose<sup>20</sup>, concordando assim com a percentagem apresentada neste estudo, em que 2/14 cães (14,28%) apresentaram monocitose, contrastando com a percentagem de animais apresentando monocitopenia (7,14%).

## Conclusão

O presente trabalho está contribuindo para o estudo soroepidemiológico no país e possivelmente indicando a exposição dos animais e da população humana da região a este agente.

A maioria das alterações clínicas e hematológicas encontradas neste trabalho foram compatíveis com as encontradas e relatadas na literatura.

Uma investigação molecular deve ser empregada devido à presença de animais reagentes e os riscos à saúde pública, a fim de confirmar o agente causador da Anaplasmosse Granulocítica Canina e Humana.

## Referências

- 1- Dumler, JS, Barbet, AF, Bekker, CPJ, Dasch, GA, Palmer GH, Ray SC, et al. 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 combinations and designation of Ehrlichia equi and 'HGE agent' as subjective synonyms of Ehrlichia phagocytophila. Int J Sys Evol Microbiol, 2001, 51:2145–2165.
- 2- Ghafar, MV, Amer, SA. Prevalence and first molecular characterization of Anaplasma phagocytophilum, the agent of human granulocytic anaplasmosis, in Rhipicephalus sanguineus ticks attached to dogs from Egypt. J. of Advanced Research, 2012, 3: 189-194.
- 3- Bakken, JS, Dumler, JS. Human granulocytic anaplasmosis. Infect Dis Clin North Am, 2008, 22:443–448.
- 4- Bakken, JS, Dumler, JS. Clinical, diagnosis and treatment of human granulocytotropic anaplasmosis. Ann N. Y. Acad. Sci., 1078:236-247.
- 5- Woldwhiwet, Z. Tick-borne fever: A review. Vet Res Commun; 1983, 6:163–175.
- 6- Madigan, JE, Gribble, D. Equine ehrlichiosis in northern California: 49 cases (1968–1981). J Am Vet Med Assoc; 1987, 190:445–448.
- 7- Madewell, B, Gribble, D. Infection in two dogs with an agent resembling Ehrlichia equi. J Am Vet Med Assoc; 1982, 180:512–514.
- 8- Chen, SM, Dumler, S, Bakken, J. Identification of a granulocytotropic Ehrlichia species as the etiologic agent of human disease. J Clin Microbiol, 1994, 32:589–595.
- 9- PORTAL G1. Doença transmitida por carrapatos mata 26 pessoas na China. Acesso em 2013, novembro 21. Disponível em: <http://g1.globo.com/ciencia-e-saude/noticia/2010/09/doenca-transmitida-por-carrapatos-mata-26-pessoas-na-china.html>.
- 10- Dumler, JS, Choi, K, Garcia-garcia, JC, Barat, NS, Scorpio, DG, Garyu, JW, et al. Human granulocytic anaplasmosis and Anaplasma phagocytophilum (Perspective). Emerging Infectious Diseases, 2005, 11:1828-1839.
- 11- Costa, PS, Valle, LM, Brigatte, ME, Greco, DB. More about human monocytotropic ehrlichiosis in Brazil: serological evidence of nine new cases. Braz J Infect Dis, 2006, 10(1):7-10.
- 12- Breitschwerdt, E.B. The rickettsioses. In: Ettinger, S.J.; Feldman, E.C. (Ed.): Textbook of Veterinary Internal Medicine. Philadelphia: WB Saunders Company, 2000. v.1, p. 400-407.

- 13- Alleman, AR, Wamsley, HL. An update on anaplasmosis in dogs. *Veterinary Medicine*, 2008, 103(4):212-220.
- 14- Henn, JB, Gabriel, MW, Kasten, RW. Gray foxes (*Urocyon cinereoargenteus*) as a potential reservoir of a *Bartonella clarridgeiae*-like bacterium and domestic dogs as sentinels for zoonotic arthropod-borne pathogens in northern California. *J Clin Microbiol*, 2007, 45:2411–2418.
- 15- Bowman, D, Little, SE, Lorentzen, L, Shields, J, Sullivan, MP, Carlin, EP. Prevalence and geographic distribution of *Dirofilaria immitis*, *Borrelia burgdorferi*, *Ehrlichia canis*, and *Anaplasma phagocytophilum* in dogs in the United States: Results of a national clinic-based serologic survey. *Veterinary Parasitology*, 2009, 160:138-148.
- 16- Beall, MJ, Chandrashekar, R, Eberts, MD, Cyr, KE, Diniz, PP, Mainville, C et al. Serological and Molecular Prevalence of *Borrelia burgdorferi*, *Anaplasma phagocytophilum*, and *Ehrlichia* Species in Dogs from Minnesota. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 2008, 8:455-464.
- 17- Pantchev, N, Schaper, R, Limousin, S, Norden, N, Weise, M, Lorentzen, L. Occurrence of *Dirofilaria immitis* and Tick-Borne Infections Caused by *Anaplasma phagocytophilum*, *Borrelia burgdorferi* sensu lato and *Ehrlichia canis* in Domestic Dogs in France: Results of a Countrywide Serologic Survey. *Parasitol Res.*, 2009, 105:101-113.
- 18- Diniz, P, Beall, MJ, Omark, K. High prevalence of tickborne pathogens in dogs from an Indian Reservation in northeastern Arizona. *Vector Borne Zoonotic Dis*, 2010, 10(2): 117-123.
- 19- Egenvall, AE, Hedhammar, AA, Bioërsdorff, AI. Clinical features and serology of 14 dogs affected by granulocytic ehrlichiosis in Sweden. *Vet Rec*, 1997, 140:222–226.
- 20- Kohn, B, Galke, D, Beelitz, P. Clinical features of canine granulocytic ehrlichiosis in 18 naturally infected dogs. *J Vet Intern Med*, 2008, 22:1289–1295.
- 21- Greig, B, Asanovich, KM, Armastrong, PJ. Geographic, clinical, serologic, and molecular evidence of granulocytic ehrlichiosis, a likely zoonotic disease, in Minnesota and Wisconsin dogs. *J Clin Microbiol*, 1996, 34:44–48.
- 22- Egenvall, A, Bonnett, BN, Gunnarsson, A. Sero-prevalence of granulocytic Ehrlichia spp. and *Borrelia burgdorferi* sensu lato in Swedish dogs 1991–94. *Scand J Infect Dis*, 2000, 32:19–25.
- 23- Gokce, HI, Woldehiwet, Z. Differential haematological effects of tick-borne fever in sheep and goats. *J. Vet. Med.*, 1999, 46:105–115.
- 24- Woldehiwet, Z. Lymphocyte subpopulations in peripheral blood of sheep infected with tick-borne fever. *Res. Vet. Sci*, 1991, 51:40–43.
- 25- Poitout, FM, Shinozaki, JK, Stockwell, PJ. Genetic variants of *Anaplasma phagocytophilum* infecting dogs in western Washington State. *J Clin Microbiol*, 2005, 43:796–801.
- 26- Woldehiwet, Z, Scott, GR. Tick-borne (pasture) fever. In: Woldehiwet, Z., Ristic, M. (Eds.), *Rickettsial and Chlamydial Diseases of Domestic Animals*. Pergamon Press, Oxford, 1993, p. 233–254.
- 27- Lillehook, I, Egenvall, A, Tverdten, HW. Hematopathology in dogs experimentally infected with a Swedish granulocytic Ehrlichia species. *Vet Clin Pathol*, 1998, 27:116–122.
- 28- Campbell, RSF, Rowland, AC, Scott, GR. Sequential pathology of tick-borne fever. *J. Comp. Pathol*, 1994, 111:303–313.



FACULDADE DE MEDICINA DE CAMPOS

☎ (22) 2101-2929 [www.fmc.br](http://www.fmc.br)