

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA**

NAYNE VIEIRA DA SILVA

ANAPLASMOSE GRANULOCÍTICA EQUINA – RELATO DE CASO

**Uberlândia
2018**

NAYNE VIEIRA DA SILVA

ANAPLASMOSE GRANULOCÍTICA EQUINA – RELATO DE CASO

Projeto de pesquisa apresentado a coordenação do curso de graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito à aprovação na disciplina de Trabalho de conclusão de curso II.

Orientador: Prof. Dr. Diego José Zanzarini Delfiol.

**Uberlândia
2018**

NAYNE VIEIRA DA SILVA

ANAPLASMOSE GRANULOCÍTICA EQUINA – RELATO DE CASO

Trabalho de Conclusão de Curso aprovado
para obtenção do título de graduação em
Medicina Veterinária na Universidade
Federal de Uberlândia pela banca
examinadora formada por:

Uberlândia, 17 de dezembro de 2018.

Prof. Dr. Diego José Zanzarini Delfiol

Prof. Dr. Geison Morel Nogueira

Médica Veterinária Fernanda Augusta de Oliveira Silva

RESUMO

Trabalhos recentes identificaram no estado de Minas Gerais alta prevalência de *Anaplasma phagocytophilum*, bactéria gram-negativa, intracelular obrigatória que parasita células granulocíticas em equinos. No Brasil acredita-se que a doença seja sub diagnosticada devido aos seus sinais clínicos inespecíficos e semelhanças a outras doenças mais comuns que também afetam o sistema hematopoiético como a Babesiose e Theileriose, o que leva a existirem poucos relatos da doença no país. Objetiva-se com este trabalho realizar um relato de caso sobre um equino, encaminhado ao Hospital Veterinário da Universidade Federal de Uberlândia pela Secretaria Municipal de Agropecuária com sinais compatíveis a infecção por *Anaplasma phagocytophilum*, descrevendo os sinais clínicos, epidemiologia, diagnóstico, tratamento e evolução clínica.

Palavras-chave: *Anaplasma phagocytophilum*. Equino. Trombocitopenia.

ABSTRACT

Recent studies indentified in the state of Minas Gerais high prevalence of *Anaplasma phagocytophilum*, gram-positive, obligatory intracellular bacteria which parasites granulocytic cells in horses. In Brazil believes that the disease is underdiagnosed for having inespecifics clinic signs and similarities to anothers diseases more common that affect the hematopoietic system, like Babesiosis and Theileriosis, which leads to few reports of the disease in the country. The objective of this study is to carry out a case report on an equine, sent to the Veterinary Hospital of the Federal University of Uberlândia by the Municipal Secretary of Agriculture with signs compatible with *Anaplasma phagocytophilum* infection, describing the clinical signs, epidemiology, diagnosis, treatment and clinical evolution.

Key words: *Anaplasma phagocytophilum*. Equine. Thrombocytopenia.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Equino SRD com aproximadamente 19 anos de idade.	16
Figura 2 – Prepúcio edemaciado	17

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Sequência de Hemogramas.....	19
Tabela 2. Sequência de Leucogramas	20
Tabela 3. Bioquímica Sérica.....	20

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

EDTA	Ácido etilenodiaminotetracético
ELISA	Ensaio de imunoabsorção enzimática
PCR	Proteína C reativa
SID	Uma vez ao dia
BID	Duas vezes ao dia
TID	Três vezes ao dia
DU	Dose única
SRD	Sem raça definida
HV	Hospital Veterinário
UFU	Universidade Federal de Uberlândia
Bpm	Batimentos por minuto
Mpm	Movimentos por minuto
UNESP	Universidade Estadual Paulista
SC	Subcutâneo
IM	Intramuscular
LABvet	Diagnóstico e Consultoria Veterinária
LACvet	Laboratório de Análises Clínicas veterinárias

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	7
2 REFERENCIAL TEÓRICO	8
2.1 ANAPLASMOSE GRANULOCÍTICA EQUINA.....	8
2.1.1 Etiologia.....	8
2.1.2 Epidemiologia	8
2.1.3 Patogenia da doença	9
2.1.4 Sinais clínicos	10
2.1.5 Diagnóstico	11
2.1.6 Diagnósticos diferenciais.....	12
2.1.7 Tratamento.....	13
2.1.8 Profilaxia e controle.....	15
3 RELATO DE CASO.....	16
4 DISCUSSÃO	21
4.1 Hemogramas e Leucogramas	21
4.2 Bioquímica Sérica	21
4.3 Reação em cadeia da polimerase (PCR).....	22
4.4 Tratamento e evolução clínica	22
5 CONCLUSÃO.....	23
REFERÊNCIAS	24

1 INTRODUÇÃO

As hemoparasitoses afetam o sistema hematopoiético (EVERTON, 2014) e causam grandes prejuízos a equideocultura. No Brasil as hemoparasitoses mais comuns em equinos são a babesiose (PARRA, 2009) e a theileriose (EVERTON, 2014), porém outras hemoparasitoses como a anaplasmosse (EVERTON, 2014; PARRA, 2009) podem ser diagnosticadas.

A anaplasmosse granulocítica equina é uma enfermidade sazonal transmitida por carrapatos, que ocorre mais comumente no outono, e é causada pelo *Anaplasma phagocytophilum* (LEWIS, 1976; RIKIHISA, 2011; SELLS *et al.*, 1976; UEHLINGER F. D.; CLANCEY, N. P.; LOFSTEDT, J, 2011). É uma bactéria gram-negativa, intracelular obrigatória que parasita, neutrófilos e eosinófilos (LEWIS, 1976; RIKIHISA, 2011; SELLS *et al.*, 1976; UEHLINGER F. D.; CLANCEY, N. P.; LOFSTEDT, J, 2011), os principais sinais clínicos dessa enfermidade são febre, anorexia, letargia, mucosas pálidas e edema de membros (LEWIS, 1976; PUSTERLA; MADIGAN, 2013; SALVAGNI *et al.*, 2010; SISKI *et al.*, 2013).

O diagnóstico é realizado pela pesquisa de mórulas no esfregaço sanguíneo (LEWIS, 1976; MUNDERLOH *et al.*, 2004; PALMER, 1993; PASSAMONTI *et al.*, 2010; PUSTERLA; MADIGAN, 2013; SALVAGNI *et al.*, 2010; SELLS *et al.*, 1976; UEHLINGER F. D.; CLANCEY, N. P.; LOFSTEDT, J, 2011), ELISA (PARRA, 2009) e PCR (MUNDERLOH *et al.*, 2004; PASSAMONTI *et al.*, 2010; PUSTERLA; MADIGAN, 2013; SISKI *et al.*, 2013; UEHLINGER F. D.; CLANCEY, N. P.; LOFSTEDT, J, 2011). O tratamento consiste no uso de antibióticos junto a tratamento de suporte, no entanto, quando sem complicações a Anaplasmosse é uma doença de curso rápido, podendo ser auto-limitante sem necessidade de tratamento (PUSTERLA; MADIGAN, 2013).

Objetiva-se com este trabalho realizar um relato de caso sobre um equino, encaminhado ao Hospital Veterinário da Universidade Federal de Uberlândia pela Secretaria Municipal de Agropecuária com sinais compatíveis a infecção por *Anaplasma phagocytophilum*, descrevendo os sinais clínicos, epidemiologia, diagnóstico, tratamento e evolução clínica.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 ANAPLASMOSE GRANULOCÍTICA EQUINA

2.1.1 Etiologia

Por muito tempo conhecida como *Ehrlichia equi* (GRIBBLE, 1969) e agora denominada *Anaplasma phagocytophilum* (DUMLER *et al.*, 2001) após a junção em uma só classe com a *Ehrlichia phagocytophilum* (ruminantes) por suas semelhanças genotípicas. É uma bactéria gram-negativa, intracelular obrigatória, que parasita células granulocíticas, neutrófilos e eosinófilos (LEWIS, 1976; RIKIHISA, 2011; SELLS *et al.*, 1976; UEHLINGER F. D.; CLANCEY, N. P.; LOFSTEDT, J, 2011).

2.1.2 Epidemiologia

Acredita-se que anaplasmoose granulocítica equina seja sub diagnosticada no Brasil, já que cavalos esportistas podem ir para regiões onde a doença é endêmica, pois já se sabe que é uma enfermidade de distribuição mundial, onde a sazonalidade parece interferir no aparecimento da infecção, estudos mostraram que a maioria dos equinos acometidos pelo *A. phagocytophilum* apresentaram sinais clínicos do meio para o fim do outono (DUMLER *et al.*, 2001; SALVAGNI *et al.*, 2010; SISKI *et al.*, 2013), o que no Brasil corresponde aos meses de março a junho. Em Minas Gerais foi realizado um estudo epidemiológico através do ensaio de imunofluorescência indireta (IFA), para a procura do *Anaplasma phagocytophilum* em duas cidades do estado (Ataléia e São Vicente de Minas) e mais de 76% dos animais se mostraram positivos ao teste, e na cidade de Belo Horizonte cerca de 53,57% dos animais foram positivos para a doença, isso significa que o agente está presente no estado e um alto número dos equinos se infecta, no entanto, como os sinais clínicos da doença são inespecíficos, tal doença deve ser incluída na lista de diagnósticos diferenciais (PRADO *et al.*, 2016, PRADO, L. G., 2014).

Devido ao seu potencial zoonótico (SALEEM *et al.*, 2018b; VIEIRA *et al.*, 2016) essa doença se mostra um problema de saúde pública, já que em estudo realizado por VIEIRA *et*

al., (2016), foram encontrados antígenos do patógeno em equinos de carroça que tem contato íntimo com seus proprietários de baixa-renda, em cidades do Sul do Brasil.

Supõe-se que os vetores do agente da anaplasmoze granulocítica equina no Brasil sejam os carrapatos *Amblyomma cajennense*, *Amblyomma spp*, e *Dermacentor nitens*, pelo fato desses carrapatos terem sido encontrados em equinos doentes (SALVAGNI *et al.*, 2010; VIEIRA *et al.*, 2016); na Europa, Ásia e América do Norte, os carrapatos do gênero *Ixodes*, parecem ser o vetor da doença (FOLEY *et al.*, 2004; SALEEM *et al.*, 2018a); na África acredita-se que os carrapatos *Hyalomma marginatum* (MGHIRBI *et al.*, 2012) e *Rhipicephalus sanguineus* (GHAFAR; AMER, 2012), possam transmitir a enfermidade.

Experimentalmente cavalos, burros, cabras, ovelhas, cães, gatos, macacos e babuínos foram infectados com *A. phagocytophilum*, e foi observado corpúsculo de inclusão em todos os animais descritos, assim, conclui-se que esses animais servem como reservatório da doença junto com animais silvestres, aves migratórias também podem levar para novas áreas, populações de carrapatos, porém apenas cavalos e burros apresentaram sinais clínicos da doença; carrapatos podem transmitir o agente para todas as espécies relatadas acima, porém a transmissão transovariana, ou seja, carrapato adulto para ovos, não ocorre, então, as larvas precisam do repasto sanguíneo junto a animais doentes para serem infectadas e se tornarem capazes de transmitir a doença (DUMLER *et al.*, 2001; LEWIS, 1976; RIKIHISA, 2011; SALEEM *et al.*, 2018; UEHLINGER F. D.; CLANCEY, N. P.; LOFSTEDT, J, 2011). Já no vetor, o agente precisa mudar para um próximo estágio de vida, onde será capaz de parasitar um hospedeiro vertebrado que esteja suscetível a partir de um novo repasto sanguíneo (RIKIHISA, 2011).

2.1.3 Patogenia da doença

Quando o carrapato se infecta durante o repasto sanguíneo, o vetor é capaz de transmitir a doença durante todos estágios de sua vida, desde seu estado larval, até a forma adulta, porém, a transmissão horizontal e vertical não ocorre (RIKIHISA, 2011; SALEEM *et al.*, 2018a).

Acredita-se que o período de incubação da doença quando acontece de forma natural é de em média 14 dias, já sua duração e prognóstico dependerá, por exemplo, da idade e do estado imunológico geral do animal, sabe-se que animais mais jovens (menos de quatro anos), e que são naturais de regiões onde a doença é frequente, apresentam manifestações mais

brandas da doença, enquanto equinos mais velhos e de regiões não endêmicas apresentam a enfermidade na sua forma mais grave (MADIGAN, 1993; PLIER *et al.*, 1999; PUSTERLA; MADIGAN, 2013; UEHLINGER F. D.; CLANCEY, N. P.; LOFSTEDT, J, 2011). Equinos com histórico de infestações de carrapatos também apresentam maiores riscos de adquirir a doença do que animais sem este histórico (SALEEM *et al.*, 2018b), contudo, em todas as situações sabe-se que óbitos decorrentes da anaplasmosse não são frequentes (PARRA; FERNANDES, 2009; UEHLINGER F. D.; CLANCEY, N. P.; LOFSTEDT, J, 2011).

Após o equino se contaminar, a bactéria penetra nas células alvo e se multiplica por divisão binária no interior dos fagossomos, formando assim as mórulas, que amadurecem, provocam a lise do citoplasma que leva a bacteremia e infecção de novas células (KOHN *et al.*, 2008; RIKIHISA, 1991; SALEEM *et al.*, 2018a). Em animais não tratados a anaplasmosse geralmente é uma doença autolimitante com duração de até três semanas, infecções crônicas são menos comuns (PUSTERLA; MADIGAN, 2013; TAKAHIRA, 2016, p. 1249).

2.1.4 Sinais clínicos

Os sinais clínicos da anaplasmosse são geralmente sinais inespecíficos como febre alta e intermitente nos dois primeiros dias, anorexia, perda de peso, letargia, anemia e edema de membros (LEWIS, 1976; PUSTERLA; MADIGAN, 2013; SALVAGNI *et al.*, 2010; SISKI *et al.*, 2013), como também depressão, petéquias nas mucosas oculares e oral, icterícia, ataxia e relutância em se movimentar nos casos mais graves (DZIEGIEL *et al.*, 2013; PUSTERLA; MADIGAN, 2013; SALEEM *et al.*, 2018a).

Na realização do exame físico geral os achados mais comuns são depressão, taquicardia, taquipneia, febre, diminuição do escore corporal, edema de membros, ataxia, desidratação e icterícia (SALEEM *et al.*, 2018a; SISKI *et al.*, 2013). Óbitos podem ocorrer por infecções secundárias, e abortos não foram observados em éguas prenhes (SALEEM *et al.*, 2018a).

2.1.5 Diagnóstico

Para o diagnóstico da anaplasmosose são utilizados, tanto exames diretos quanto indiretos, além da análise dos sinais clínicos; para isso é necessário a colheita do sangue do animal em um tubo com e sem EDTA (LEPIDI *et al.*, 2000; PARRA; FERNANDES, 2009; PRADO *et al.*, 2017; UEHLINGER F. D.; CLANCEY, N. P.; LOFSTEDT, J, 2011).

Com uma fração do sangue com anticoagulante (EDTA) é importante que seja feito um esfregaço sanguíneo, pois, na fase aguda da doença pode se observar a presença de mórulas no interior das células granulocíticas, neutrófilos e eosinófilos; essas mórulas na maioria das vezes se apresentam individualmente, mas também é possível observar mais de uma inclusão em cada célula granulocítica, cada uma se apresenta dentro de vacúolos citoplasmáticos, o que a difere dos outros organismos do gênero *Rickettsia* onde suas mórulas se apresentam livres no citoplasma, este esfregaço pode ser corado por Giemsa, contudo, a não presença de mórulas do *Anaplasma phagocytophilum* no esfregaço sanguíneo não significa ausência da infecção, pois predominantemente são observadas na fase aguda da doença, por isso é necessário a realização de outros exames, para que não haja resultados falsos negativos (LEWIS, 1976; MUNDERLOH *et al.*, 2004; PASSAMONTI *et al.*, 2010; PUSTERLA; MADIGAN, 2013; SALVAGNI *et al.*, 2010; SELLS *et al.*, 1976; UEHLINGER F. D.; CLANCEY, N. P.; LOFSTEDT, J, 2011; RIKIHISA, 2011).

Em exames clínicos laboratoriais pode se observar trombocitopenia, linfopenia, anemia normocrômica e normocítica, neutropenia com desvio leve para a esquerda, corpúsculos de inclusão, hiperbilirrubinemia, hiponatremia, hiperfibrinogenemia, hiperglobulinemia, hemorragia e/ou hemólise e decréscimo do anion GAP (CALDERÓN RIVERA, L. G.; MOTTA DELGADO, P. A, 2013; DZIEGIEL *et al.*, 2013; LEWIS, 1976; SISKI *et al.*, 2013; UEHLINGER F. D.; CLANCEY, N. P.; LOFSTEDT, J, 2011), diminuição do hematócrito (DZIEGIEL *et al.*, 2013) e também ao avaliar corte histológico à necropsia, inflamação em vasos sanguíneos, baço e fígado, com elevação das enzimas AST e/ou ALT (PRADO *et al.*, 2017).

Os exames clínicos laboratoriais também conferem baixa especificidade devido a inúmeras doenças compartilharem dos mesmos achados, portanto, podem não ser tão eficientes, por isso a necessidade de testes sorológicos (ELISA) e moleculares (PCR) (MUNDERLOH *et al.*, 2004; PARRA, 2009; PASSAMONTI *et al.*, 2010; PUSTERLA; MADIGAN, 2013).

Para o teste de ELISA é necessário amostra de sangue sem EDTA para a centrifugação e separação do plasma da amostra, já que para o teste é utilizado o soro sanguíneo para avaliação do título para o *A. phagocytophilum* (PUSTERLA; MADIGAN, 2013; UEHLINGER F. D.; CLANCEY, N. P.; LOFSTEDT, J, 2011), no entanto o teste de ELISA pode apresentar reação cruzada com outros microrganismos da mesma família (PARRA, 2009).

É interessante também a realização do PCR (Nested-PCR) para *A. phagocytophilum* em amostra de sangue total com EDTA (SISKA *et al.*, 2013; UEHLINGER F. D.; CLANCEY, N. P.; LOFSTEDT, J, 2011), pois o PCR é um teste de extrema sensibilidade e especificidade, ideal para diagnósticos de infecções recentes e/ou tardias, onde a visualização de mórulas é mais difícil.

Teste de ELISA positivo e PCR negativo pode significar que o animal teve contato com o patógeno em alguma fase da vida, mas não há infecção no momento do teste e/ou reação cruzada com outros microrganismos da mesma família (PARRA, 2009; PASSAMONTI *et al.*, 2010), e teste de ELISA negativo e PCR positivo pode significar infecção tardia (MGHIRBI *et al.*, 2012).

Ainda é importante reafirmar que a doença é de início súbito, porém quando sem complicações o prognóstico é favorável com curso auto limitante, e raramente ocorre morte (BURGESS *et al.*, 2012; PARRA; FERNANDES, 2009; PUSTERLA; MADIGAN, 2013; UEHLINGER F. D.; CLANCEY, N. P.; LOFSTEDT, J, 2011).

2.1.6 Diagnósticos diferenciais

O diagnóstico diferencial é importante devido aos sinais clínicos inespecíficos da doença, e deve ser realizado para babesiose, theileriose (PUSTERLA; MADIGAN, 2013; SALVAGNI *et al.*, 2010; UEHLINGER F. D.; CLANCEY, N. P.; LOFSTEDT, J, 2011), herpesvírus, anemia infecciosa equina, arterite viral equina, leptospirose, púrpura hemorrágica e vasculites, *Borrelia burgdorferi* (MGHIRBI *et al.*, 2012), hepatopatias e as encefalites (PUSTERLA; MADIGAN, 2013).

Os sinais clínicos da babesiose (*Babesia caballi*) e theileriose (*Theileria equi*) se assemelham ao da anaplasmoose granulocítica equina devido à aparição de febre, icterícia e anemia (FONSECA *et al.*, 2011).

Febre e anorexia também estão presentes no herpesvírus (LARA *et al.*, 2003) e na anemia infecciosa equina além da depressão, anemia, icterícia, hemorragias petequiais, edema e perda de peso (RODRIGUES, T. R.; AVANZA, M. F. B.; ZAPPA, V, 2009).

Na arterite viral equina os sinais comuns entre as duas doenças são a febre, anorexia, apatia, leucopenia e edema de membros (FUKUNAGA *et al.*, 1981). Já na leptospirose observa-se febre, icterícia, anorexia e letargia (BARWICK *et al.*, 1998).

A púrpura hemorrágica e as vasculites imunomediadas levam a edemas e hemorragias petequiais (PUSTERLA; MADIGAN, 2013; UEHLINGER F. D.; CLANCEY, N. P.; LOFSTEDT, J, 2011). Na *Borrelia burgdorferi* observa-se a perda de peso, laminites, febre, edema de membros, depressão (MGHIRBI *et al.*, 2012).

As hepatopatias tem sinais como a icterícia e o edema (QUEIROZ *et al.*, 2016); e as encefalites são diagnósticos diferenciais devido as sintomatologias neurológicas, como por exemplo ataxia e relutância em se movimentar. (PUSTERLA; MADIGAN, 2013).

2.1.7 Tratamento

O tratamento é realizado a partir da administração de antibioticoterapia com oxitetraciclina que é um antibiótico de amplo espectro da classe das tetraciclinas, bacteriostático, que tem boa ação sobre bactérias gram-negativas como o *Anaplasma phagocytophilum*, na dose de 7 mg/kg (PUSTERLA; MADIGAN, 2013; SISKI *et al.*, 2013; UEHLINGER F. D.; CLANCEY, N. P.; LOFSTEDT, J, 2011) ou 6,6 mg/kg (LEWIS *et al.*, 2009) intravenoso, SID, administrado a partir do período febril durante cinco a dez dias (LEWIS *et al.*, 2009; PUSTERLA; MADIGAN, 2013; SISKI *et al.*, 2013; UEHLINGER F. D.; CLANCEY, N. P.; LOFSTEDT, J, 2011).

Vale ressaltar que a utilização de oxitetraciclina de longa ação em equinos deve ser realizada com cautela, pois são altos os riscos de miosite se a forma escolhida de aplicação da oxitetraciclina for a intramuscular, e se a forma escolhida for a intravenosa devido ao potencial quelante ao cálcio das tetraciclinas, também em relação a diarreias pela destruição da flora intestinal, já que a oxitetraciclina é um dos fármacos que possui via de eliminação fecal, podendo facilitar a proliferação de microrganismos não desejáveis como o *Clostridium difficile* e *Salmonella*, já que são resistentes a tetraciclinas (LOPÉZ *et al.*, 2000; PRADO *et al.*, 2017).

Como tratamento de suporte, SISKÁ *et al.*, (2013) e LEWIS *et al.*, (2009) indicam concomitantemente ao uso da oxitetraciclina o uso de anti-inflamatórios não esteroidais, como o flunixin meglumine 1,1 mg/kg, intravenoso, SID (SISKÁ *et al.*, 2013); já RIVERA e DELGADO (2013) aconselham junto a oxitetraciclina a administração de 3,3 mg/kg intramuscular de dipropionato de imidocarb para o tratamento de doenças que possam estar ocorrendo concomitantemente, como Babesiose e Theileriose e também para tratamento profilático das mesmas, repetir a dose após oito dias, e para estimular a medula óssea decanoato de nandrolona 0,55 mg/kg intramuscular que também se repete após oito dias (DZIEGIEL *et al.*, 2013).

Também como tratamento de suporte recomenda-se o uso de bandagem compressiva nos quatro membros para amenizar o edema, e antes da alimentação molhar com água o feno, para estimular a alimentação (UEHLINGER F. D.; CLANCEY, N. P.; LOFSTEDT, J, 2011).

Um tratamento alternativo, em situações onde não se é possível a internação o animal, é recomendado o uso de doxiciclina oral, 10 mg/kg de BID de sete a dez dias, após duas doses intravenosas iniciais de oxitetraciclina (PUSTERLA; MADIGAN, 2013).

O animal também pode apresentar úlceras gástricas e perda de apetite, por isso é indicado também o uso de Sucralfato 20 mg/kg, oral, TID a partir do terceiro dia de tratamento até que o animal apresente a volta do apetite normal, porém como o Sucralfato tem efeito criando uma película protetora sobre úlceras já existentes, pode se fazer o uso concomitantemente ao início do tratamento de Omeprazol 1 – 5 mg/kg, oral, SID, de forma profilática, já que se é conhecido a irritação tecidual causada pela oxitetraciclina (UEHLINGER F. D.; CLANCEY, N. P.; LOFSTEDT, J, 2011).

Espera-se que após o primeiro dia de tratamento o animal não apresente febre, já sinais como icterícia, edema de membros e linfadenopatias é esperado melhora gradativa com solução em seis dias depois de iniciado o tratamento com oxitetraciclina (PUSTERLA; MADIGAN, 2013; UEHLINGER F. D.; CLANCEY, N. P.; LOFSTEDT, J, 2011); contudo, falhas no tratamento pode levar a piora do animal e quando não tratada a doença pode ser auto limitante e durar cerca de duas a três semanas (PUSTERLA; MADIGAN, 2013).

2.1.8 Profilaxia e controle

A profilaxia contra o *A. phagocytophilum* se dá através do controle e prevenção de carrapatos, já que até o presente, não existe no mercado vacina contra anaplasmoose granulocítica equina (PUSTERLA; MADIGAN, 2013; SALEEM *et al.*, 2018a), e impedir que equinos se alimentem de tegumentos (pele e anexos) de animais (DZIEGIEL *et al.*, 2013).

O controle e prevenção de carrapatos é realizado, por exemplo, através de banhos com carrapaticidas sobre os estágios iniciais de vida do carrapato (LABRUNA *et al.*, 2004). Para o controle do *Dermacentor nitens* o combate pode ser feito na primavera e verão devido a maiores infestações e sensibilidade do carrapato decorrente da maior temperatura e umidade, e compreende na pulverização do carrapaticida em toda extensão do corpo do animal, com intervalos de 24 dias durante quatro meses, e após o procedimento os cavalos devem voltar para o mesmo pasto, servindo de uma armadilha para que os carrapatos presente no pasto não sejam capazes de chegar à fase adulta; já para o controle do *Amblyomma cajennense* acredita-se que o roçamento da pastagem pelo menos uma vez ao ano seja a medida mais efetiva, por manter o pasto limpo e livre de carrapatos já que a maior parte de sua vida é na pastagem, expor o solo significa dificultar suas condições de sobrevivência, outra forma de controle é o uso de carrapaticidas a cada sete ou dez dias durante sua fase de linfa ou larva, além de também voltar o animal para sua pastagem de origem (BIOLOGIA, 2007). Sabe-se, no entanto que apenas a remoção dos carrapatos da pele dos animais não exclui a possibilidade de infecção (OTEO, J. A.; BLANCO, J. R.; IBARRA, V., 2001).

O uso profilático de tetraciclinas, como a doxiciclina, 3 mg/kg, via oral, SID, tem sido recomendado em situações especiais, como no caso de trânsito de animais para áreas endêmicas (TAKAHIRA, 2016, p. 1249).

3 RELATO DE CASO

Um equino, macho, castrado, sem raça definida, pesando 370 kg e de aproximadamente 19 anos (figura 1), foi encaminhado ao Hospital Veterinário da Universidade Federal de Uberlândia pela Secretaria Municipal de Agropecuária após ser encontrado na rua, para que fosse realizada avaliação clínica e liberação para adoção.

Figura 1 – Equino SRD com aproximadamente 19 anos de idade.

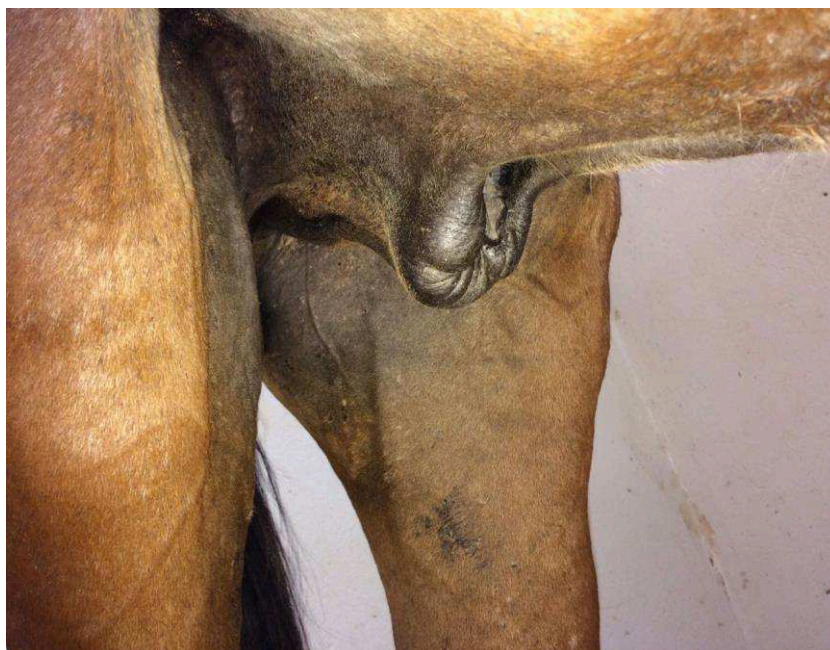


Fonte: Clínica Médica e Cirúrgica de Grandes Animais HV-UFU.

À inspeção o animal estava apático, em estação, com escore de condição corporal 3/9 (figura 1), andar incoordenado e aumento de volume nos membros e prepúcio (figura 2). No exame físico constatou-se que as áreas aumentadas de volume descritas acima se tratavam de edema, além de também apresentar 5% de desidratação, turgor cutâneo 3 segundos, frequência cardíaca a 48 bpm, frequência respiratória 20 mpm, temperatura 37,5 °C, tempo de preenchimento capilar dois segundos, mucosas pálidas, presença de carrapatos *Amblyomma cajennense* pelo corpo principalmente em pavilhão auricular e períneo. Na inspeção da cavidade oral pôde se observar desgaste irregular, diastema aberto entre o segundo e primeiro molar, primeiro e segundo pré-molar e entre o segundo e o terceiro pré-molar da hemiarcada inferior direita, também entre o terceiro pré-molar e o primeiro molar, e entre o segundo e terceiro pré-molar da hemiarcada inferior esquerda, além de degrau no segundo molar da hemiarcada inferior direita, e ainda doença periodontal no terceiro pré-molar e primeiro molar

da hemiarcada superior direita e no primeiro molar da hemiarcada superior esquerda. Durante a internação o cavalo apresentou febre intermitente.

Figura 2 - Prepúcio edemaciado



Fonte: Clínica Médica e Cirúrgica de Grandes Animais HV-UFU.

Foi solicitado exame de hemograma, onde foi constatada anemia e trombocitopenia (tabela 1), e leucograma onde se pôde observar leucocitose por neutrofilia (tabela 2).

Pelo fato do cavalo apresentar picos de febre associado com anemia e trombocitopenia, algumas possibilidades diagnósticas foram levantadas, como a babesiose, theileriose, tripanossomose, ehrlichiose monocítica e anaplasmose granulocítica.

Em função disso, solicitou-se novamente exame de hemograma, onde constatou-se mais uma vez anemia, trombocitopenia, e bioquímica sérica onde a função renal encontrava-se normal, e na função hepática observou-se aumento da fosfatase alcalina (tabela 3).

Durante um pico de febre, foi realizado um esfregaço sanguíneo com amostra colhida na ponta da orelha, para a pesquisa de hemoparasitas, e não foram observadas *Babesia caballi* ou *Theileria equi* porém durante leitura foi encontrada uma estrutura sugestiva de mórula de *Ehrlichia sp.* no citoplasma de um granulócito.

Para confirmação do diagnóstico, uma amostra de sangue total com EDTA foi colhida e mantida refrigerada até a realização da PCR para espécies dos gêneros *Anaplasma* e

Ehrlichia no Laboratório de Diagnóstico Molecular Veterinário (LDMVET) UNESP - Botucatu.

Como um dos diagnósticos diferenciais era tripanossomose, também foi solicitado a partir de amostra de sangue total com EDTA, exame para pesquisa de *Tripanossoma equiperdum*, utilizando-se a técnica da gota espessa, avaliação em microhematócrito e pesquisa em creme leucocitário, sendo o resultado negativo.

Para o diagnóstico de *Anaplasma* e *Ehrlichia* uma amostra de sangue total com EDTA foi colhida e mantida refrigerada até a realização da PCR. O DNA genômico foi extraído de 300 µL de sangue total utilizando o kit Illustra Blood Genomic Prep Mini Spin Kit (GE Healthcare) conforme instruções do manual operacional. O DNA foi eluído em 100 µL e armazenado em freezer -20 °C até sua utilização.

Para detecção do patógeno por PCR em tempo real (qPCR), os oligonucleotídeos iniciadores (*primers*) utilizados foram ESP F: 5' CTC AGA ACG AAC GCT GG 3' e ESP R: 5' ACC ATT TCT ART GCT ATY CCR TAC TA 3', que amplificam uma região de aproximadamente 150 pb do gene 16S ribossomal de espécies dos gêneros *Ehrlichia* e *Anaplasma*.

Para a PCR diagnóstica, uma mistura contendo 10 µL de GoTaq Master Mix (Promega), 0,6 µL de cada oligonucleotídeo específico a 10 µM e 5 µL de água *nuclease-free* foram adicionados a 4 µL de amostra de DNA. A reação foi realizada no aparelho 7500 Fast Real Time PCR System (Life Technologies), com o programa térmico de 5 minutos a 95 °C seguidos de 40 ciclos de 15 s a 95 °C e 60 s a 60 °C. Ao final da reação uma curva de dissociação foi realizada. Como controle positivo foram utilizadas amostras de DNA total canino sabidamente positivas para *Ehrlichia canis* e *Anaplasma platys*, e uma amostra canina sabidamente negativa foi utilizada como controle negativo. Uma reação com água livre de nucleases foi utilizada como controle da PCR. O produto positivo obtido na amplificação da qPCR foi utilizado para sequenciamento a fim de comprovar a infecção.

O produto da qPCR foi purificado utilizando beads magnéticas Agencourt AMPure XP (Agencourt Bioscience Corporation), com o protocolo sugerido pelo fabricante. Para o sequenciamento dos produtos de PCR (método de Sanger), utilizou-se o kit BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing (Life Technologies), em duas reações, uma com o *primer* senso e outra com o antissenso no sistema de sequenciamento automático ABI 3500 (Life Technologies). A homologia entre a sequência obtida e as sequências previamente depositadas no GenBankTM foi verificada com a ferramenta on line BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>).

A amostra do equino amplificou na qPCR diagnóstica com um Ct de 31. Sendo assim, a amostra foi considerada positiva, uma vez que a sensibilidade desta qPCR para detectar amostras positivas vai até Ct de 35. A análise da curva de dissociação da amostra testada mostrou um pico de Temperatura de “melting” compatível com o pico do controle positivo de *Ehrlichia canis*.

A sequência obtida mostrou 100% de cobertura e 95% de identidade com *Anaplasma phagocytophilum* (NC_007797.1 e LC334014.1), resultado que permitiu confirmar que o animal estava infectado pelo agente.

Como tratamento, durante a internação, realizou-se controle de ectoparasitas com Cipermetrina, *pour on* e ivermectina 1% injetável na dose de 0,2 mg/Kg/SC, DU, e foi instituído o tratamento para *Anaplasma phagocytophilum*, oxitetraciclina 6,6 mg/Kg/ IM, SID, durante 10 dias (LEWIS *et al.*, 2009) e foi realizado acompanhamento da hematimetria e plaquetemia por meio de exames de hemograma (tabela 1).

Tabela 1. Sequência de Hemogramas

<u>HEMOGRAMAS</u>							
	10/01/18	18/01/18	22/01/18	29/01/18	05/03/18	09/03/18	12/11/18
HEMATÓCRITO (32 - 53%)	27,7 ↓	20,8 ↓	24 ↓	23,4 ↓	38,6	30,2 ↓	29,1 ↓
HEMÁCIAS (6,7 - 12,9 x10 ⁶ /mm ³)	5,67 ↓	4,28 ↓	4,93 ↓	4,74 ↓	7,91	6,13	6,04 ↓
HEMOGLOBINA (11 - 19 g%)	9,3 ↓	6,8 ↓	8,1 ↓	7,5 ↓	13,2	10,0 ↓	10,5 ↓
VCM (37 - 58,5 μ m ³)	48,9	48,8	48,7	49,4	48,8	49,3	48,2
CHCM (31 - 37 g/dL)	33,6	32,7	17,4 ↓	32,1	34,2	33,1	36,1
PLAQUETAS (100.000 - 600.000 /mm ³)	36.000 ↓	169.000	208.000	277.000	55.000 ↓	90.000 ↓	138.000
LEUCÓCITOS (4.000 - 12.000 /mm ³)	7.900	12.600	18.100 ↑	6.400	5.900	4.400	7.900
PROT. TOTAL (5,8 - 8,7 g/dL)	8,0	8,2	8,4	8,2	8,0	7,6	5,2 ↓

Valores de referência: LABvet / LacVet

Tabela 2. Sequência de Leucogramas

<u>LEUCOGRAMA</u>							
	10/01 2018	18/01 2018	22/01 2018	29/01 2018	05/03 2018	09/03 2018	12/11 2018
MIELÓCITOS (0 quant./uL)	00	00	00	00	00	00	00
METAMIELÓCITOS (0 quant./uL)	00	00	00	00	00	00	00
NEUTRÓFILOS							
BASTONETES (0 – 100 quant./uL)	158 ↑	252 ↑	543 ↑	00	00	00	00
SEGMENTADOS (0 – 8.600 quant./uL)	5.056	10.206 ↑	13.575 ↑	3.520	4.425	2.860	6.715
EOSINÓFILOS (0 – 1.000 quant./uL)	00	00	00	64	59	220	79
BASÓFILOS (0 – 290 quant./uL)	79	126	00	00	00	88	00
MONÓCITOS (0 – 1.000 quant./uL)	237	00	543	64	118	440	158
LINFÓCITOS (1.500 – 7.700 quant./uL)	2.370	2.016	3.439	2.752	1.298 ↓	1.188 ↓	948 ↓

Valores de referência: LABvet / LacVet

Tabela 3. Bioquímica Sérica

<u>BIOQUÍMICA SÉRICA 18/01/2018</u>					
CREATININA (1,2 – 1,9 mg/dL)	URÉIA (21 – 51 mg/dL)	ALBUMINA (2,6 – 3,3 g/dL)	AST (0 – 366 U/L)	GGT (0 – 62 U/L)	FOSFATASE ALCALINA (0 – 395 U/L)
1,2	41,4	2,26	178	15,1	545 ↑

Valores de referência: LABvet / LacVet

4 DISCUSSÃO

4.1 Hemogramas e Leucogramas

A constatação da anemia pode ser devido ao fato de que ao invadir as células granulocíticas alvo, algumas citocinas produzidas pelas células infectadas são responsáveis pela diminuição da hematopoiese. A trombocitopenia provavelmente não ocorre pela destruição imunomediada ou pela diminuição da produção das plaquetas, mas sim pelo consumo provocado pela produção de substâncias procoagulantes pelos monócitos (TAKAHIRA, 2016, p. 1249).

O retorno da anemia, como normocítica hipocrômica pode ser por deficiência de ferro em fase inicial pela inanição por exemplo, devido aos problemas dentários relatados, já a anemia apresentada no restante dos exames não caracteriza deficiência nutricional já que inicialmente deveria ser hipocrômica, e em casos mais estabelecidos microcíticas, e não observamos isso, apenas anemia normocítica e normocrômica, sinal de anemia hemolítica, que pode ser causada por nova infecção bacteriana por exemplo, ou não recuperação completa da anaplasmosse já que também é possível se observar novamente trombocitopenia.

Com relação ao leucograma observou-se leucocitose por neutrofilia com aumento de bastonetes e neutrófilos segmentados, no entanto essa alteração não condiz com os achados frequentes da doença que predominantemente se caracteriza pela leucopenia por neutropenia (EVERTON, 2014), levando a crer que tal achado se deve a alguma infecção secundária causando inflamação e aumento de neutrófilos, no exame clínico o único foco de infecção identificado foi a doença periodontal.

4.2 Bioquímica Sérica

Sabe-se que o *A. phagocytophilum* ao invadir o fígado pela corrente sanguínea pode levar a um estado inflamatório pela produção de citocinas, que induz lesão hepática, o que pode explicar o aumento da concentração sérica de fosfatase alcalina no exame bioquímico.

4.3 Reação em cadeia da polimerase (PCR)

O resultado positivo para *Anaplasma phagocytophilum* através da detecção do patógeno por PCR em tempo real (qPCR) que amplificam uma região de aproximadamente 150 pb do gene 16S ribossomal de espécies dos gêneros *Ehrlichia* e *Anaplasma*, se deu porque o gene do ácido ribonucleico ribossômico 16S (rRNA) do *Anaplasma phagocytophilum* diferem as sequências em até três bases com relação a *Ehrlichia sp.* (homologia de 99,1%) (PUSTERLA; MADIGAN, 2013) sendo possível assim o diagnóstico que vai de encontro ao estudo epidemiológico realizado em Minas Gerais através do ensaio de imunofluorescência indireta (IFA), para a procura do agente em duas cidades do estado (Ataléia e São Vicente de Minas) onde mais de 76% dos animais se mostraram positivos ao teste, e na cidade de Belo Horizonte onde cerca de 53,57% animais também foram positivos, isso significa que o agente está presente no estado e um alto número dos equinos se infecta, no entanto, como os sinais clínicos da doença são inespecíficos, tal doença pode passar despercebida e deve ser incluída na lista de diagnósticos diferenciais (PRADO *et al.*, 2016, PRADO, L. G., 2014).

4.4 Tratamento e evolução clínica

O tratamento foi inicialmente para controle de ectoparasitas com Cipermetrina, *pour on* e ivermectina 1% injetável, no entanto apenas a retirada dos carrapatos da pele do animal não exclui a infecção (OTEO, J. A.; BLANCO, J. R.; IBARRA, V., 2001), para isso foi instituído o tratamento contra *Anaplasma phagocytophilum*, através da oxitetraciclina que é um antibiótico da classe das tetraciclinas que garante boa ação sobre doenças causadas por bactérias do gênero *Anaplasma sp.*, a dose usada foi de 6,6 mg/Kg/ IM, SID, e foi utilizada durante 10 dias, conforme recomendações (LEWIS *et al.*, 2009).

Durante os 10 dias de tratamento pôde se observar melhora nos valores hematológicos, porém apenas 14 dias após o fim do tratamento foi observado melhora da anemia no exame de hemograma, já a trombocitopenia pôde se observar melhora a partir da primeira aplicação do medicamento.

Com relação aos sinais clínicos apresentados pelo equino, 16 dias após o início do tratamento suas mucosas já se apresentavam normocoradas, e a partir da primeira aplicação da oxitetraciclina já não se observava sinais de síndrome febre, como também se observou a melhora do andar incoordenado e redução do edema de membros e prepúcio.

5 CONCLUSÃO

Os achados do exame clínico, laboratoriais, bem como a PCR do equino estudado são compatíveis com um quadro de Anaplasmosse granulocítica equina, devido à infecção por *Anaplasma phagocytophilum*, através da inoculação do agente por carrapatos.

Então pode-se concluir que a infecção por *Anaplasma phagocytophilum* está presente em cavalos na cidade de Uberlândia e deve ser incluída a lista de diagnósticos diferenciais principalmente em equinos com histórico de infestação por carrapatos para que se possa evitar diagnósticos errôneos, consequente prejuízo tanto em relação ao bem estar animal quanto em relação a prejuízos econômico de criadores.

REFERÊNCIAS

- BARWICK, R. S. *et al.* Epidemiologic features of equine *Leptospira interrogans* of human significance. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 36, n. 2, p. 153–165, 1998.
- BIOLOGIA e controle de carrapatos em equinos no Brasil. [2007]. Disponível em: <<http://www.abqm.com.br/pt/conteudos/stud-book/biologia-e-controle-de-carrapatos-em-equeinos-no-brasil/>>. Acesso em: 22 maio. 2018.
- BURGESS, H. *et al.* Granulocytic anaplasmosis in a horse from Saskatchewan. **Canadian Veterinary Journal**, v. 53, n. 8, p. 886–888, 2012.
- CALDERÓN RIVERA, L. G.; MOTTA DELGADO, P. A. Reporte de Caso Clínico de Ehrlichiosis Equina en el municipio de Florencia (Colombia) - Case report of equine ehrlichiosis in the municipality of Florencia (Colombia). **Redvet**, v. 14, n. 1, p. 1–12, 2013.
- DUMLER, J. S. *et al.* Reorganization of gene in families Rickettsiaceae and Anaplasmataceae in the order Rickettsiales: unification of some species of Ehrlichia with Anaplasma, Cowdria with Ehrlichia with neorickettsia, description of six new species combinations and designatio. **International Journal of systematic and evolutionary microbiology**, v. 51, n. 2001, p. 2145–2165, 2001.
- DZIEGIEL, B. *et al.* Equine granulocytic anaplasmosis. **Research in Veterinary Science**, v. 95, n. 2, p. 316–320, 2013.
- EVERTON, E. B. **Diagnóstico e epidemiologia molecular da Anaplasmosse e Theileriose equina do estado do Pará**. 2014. 58 f. Dissertação (Mestrado em Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários) - Universidade Federal do Pará, Belém, 2014.
- FOLEY, J. E. *et al.* Ecology of *Anaplasma phagocytophilum* and *Borrelia burgdorferi* in the western United States. **Journal of vector ecology : journal of the Society for Vector Ecology**, v. 29, n. 1, p. 41–50, 2004.
- FONSECA, L. A. *et al.* Estudo comparativo entre esfregaços de punção esplênica e de sangue periférico para diagnóstico de babesiose equina. **Ars Veterinária**, v. 27, n. 4, p. 211–215, 2011.
- FUKUNAGA, Y. *et al.* Clinical and virological findings on experimental equine viral arteritis in horses. **Bulletin of Equine Research Institute**, v. 118, n. 18, p. 110–118, 1981.
- GHAFFAR, M. W.; AMER, S. A. Prevalence and first molecular characterization of *Anaplasma phagocytophilum*, the agent of human granulocytic anaplasmosis, in *Rhipicephalus sanguineus* ticks attached to dogs from Egypt. **Journal of Advanced Research**, v. 3, n. 2, p. 189–194, 2012.
- GRIBBLE, D. H. Equine ehrlichiosis. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 155, n. 2, p. 462–469, jul. 1969.

KOHN, B. *et al.* Clinical features of canine granulocytic anaplasmosis in 18 naturally infected dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 22, n. 6, p. 1289–1295, 2008.

LABRUNA, M. B. *et al.* Controle estratégico do carrapato *Amblyomma cajennense* em equinos. **Ciência Rural**, v. 34, n. 1, p. 195–200, 2004.

LARA, M. C. C. S. H. *et al.* Ocorrência do herpesvírus equino 1 (HVE-1) em cavalos criados no Estado de São Paulo, Brasil. **Ars Veterinária**, v. 19, n. 3, p. 254–259, 2003.

LEPIDI, H. *et al.* Comparative pathology and immunohistology associated with clinical illness after Ehrlichia phagocytophila-group infections. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 62, n. 1, p. 29–37, 2000.

LEWIS, G. E. Equine ehrlichiosis: A comparison between *E. equi* and other pathogenic species of Ehrlichia. **Veterinary Parasitology**, v. 2, n. 1, p. 61–74, 1976.

LEWIS, S. R. *et al.* Equine Granulocytic Anaplasmosis: A Case Report and Review. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 29, n. 3, p. 160–166, 2009.

LÓPEZ, H. S. *et al.* Reacciones adversas de los fármacos en los equinos. **Veterinaria México**, v. 31, n. 4, p. 329–353, 2000.

MADIGAN, J. E. Equine Ehrlichiosis. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 9, n. 2, p. 423–428, 1993.

MGHIRBI, Y. *et al.* Anaplasma phagocytophilum in horses and ticks in Tunisia. **Parasites and Vectors**, v. 5, n. 1, p. 1–7, 2012.

MUNDERLOH, U. G. *et al.* Infection of endothelial cells with Anaplasma marginale and A. phagocytophilum. **Veterinary Microbiology**, v. 101, n. 1, p. 53–64, 2004.

OTEO, J. A.; BLANCO, J. R.; IBARRA, V. ¿Podemos prevenir las enfermedades transmitidas por garrapatas? **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**, v. 19, n. 10, p. 509–513, 2001.

PALMER, J. E. Potomac Horse Fever. **The Veterinary clinics of North America: Equine practice** p. 399–410, 1993.

PARRA, A. C. **Investigação diagnóstica de doença concomitante Babesiose e Anaplasmoze em rebanho equino, por técnicas de Nested PCR , c – ELISA ou ELISA indireto.** 2009. 79 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

PASSAMONTI, F. *et al.* Anaplasma phagocytophilum in horses and ticks: A preliminary survey of Central Italy. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v. 33, n. 1, p. 73–83, 2010.

PLIER, L. M. *et al.* Equine Granulocytic Ehrlichiosis: A Case Report with DNA Analysis and Species Comparison. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 28, n. 4, p. 127–130, 1999.

PRADO, L. G. *et al.* **Avaliação clínica e laboratorial de equídeos sororreagentes para *Anaplasma phagocytophilum* (Rickettsiales: Anaplasmataceae) em Minas Gerais, Brasil.** 2014. 75 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2014.

PRADO, L. G. *et al.* Serological prevalence of *Anaplasma phagocytophilum* in two cities of Minas Gerais State, Brazil. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 39, p. S50, 2016.

PRADO, L. G. P. G., *et al.* Acompanhamento clínico e laboratorial de equinos naturalmente infectados por *Anaplasma phagocytophilum*. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, p. 318–321, 2017.

PUSTERLA, N.; MADIGAN, J. E. Journal of Equine Veterinary Science Equine Granulocytic Anaplasmosis. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 33, n. 7, p. 493–496, 2013.

QUEIROZ, D. J. DE *et al.* Afecções Hepáticas Em Equinos. **Investigação**, v. 15, n. 7, p. 14–18, 2016.

RIKIHISA, Y. The tribe Ehrlichieae and ehrlichial diseases. **Clinical microbiology reviews**, v. 4, n. 3, p. 286–308, 1991.

RIKIHISA, Y. Mechanisms of obligatory intracellular infection with *Anaplasma phagocytophilum*. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 24, n. 3, p. 469–489, 2011.

RODRIGUES, T. R.; AVANZA, M. F. B.; ZAPPA, V. Anemia infecciosa equina. **Revista científica eletrônica de medicina veterinária**, v. 12, 2009.

SALEEM, S. *et al.* First molecular evidence of equine granulocytic anaplasmosis in Pakistan. **Acta Tropica**, v. 180, n. January, p. 18–25, 2018b.

SALEEM, S. *et al.* Microbial Pathogenesis Equine Granulocytic Anaplasmosis 28 years later. v. 119, n. March, p. 1–8, 2018a.

SALVAGNI, C. A. *et al.* Serologic evidence of equine granulocytic anaplasmosis in horses from central West Brazil. **Revista brasileira de parasitologia veterinária = Brazilian journal of veterinary parasitology : Órgão Oficial do Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária**, v. 19, n. 3, p. 135–40, 2010.

SANTOS, M. S. **Anemia, caquexia e desnutrição em equino de tração: Relato de caso.** 2013. 36f. Monografia (Graduação em medicina veterinária) - Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2013.

SELLS, D. M. *et al.* Ultrastructural Observations on Ehrlichia equi Organisms in Equine Granulocytes. **Infection and Immunity**, v. 13, n. 1, p. 273–280, 1976.

SISKA, W. D. *et al.* Clinicopathologic Characterization of Six Cases of Equine Granulocytic Anaplasmosis In a Nonendemic Area (2008-2011). **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 33, n. 8, p. 653–657, 1 ago. 2013.

TAKAHIRA, R. K. Enfermidades de menor frequência causadas pelos gêneros Ehrlichia, Neorickettsia e Anaplasma. In: MEGID, J.; RIBEIRO, M. G.; PAES, A. C. (Coord.). Doenças infecciosas em animais de produção e de companhia. Rio de Janeiro: **Grupo Editorial Nacional**, 2016. cap. 120, p. 1249 - 1257.

UEHLINGER F. D.; CLANCEY, N. P.; LOFSTEDT, J. Granulocytic anaplasmosis in a horse from Nova Scotia caused by infection with Anaplasma phagocytophilum. **Canadian Veterinary Journal**, v. 52, n. 5, p. 537–540, 2011.

VIEIRA, T. S. *et al.* Ehrlichia sp. infection in carthorses of low-income owners, Southern Brazil. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v. 48, p. 1–5, 2016.