

**Acompanhamento clínico e laboratorial de equinos naturalmente infectados por *Anaplasma phagocytophilum*<sup>1</sup>**

Clinical and laboratory follow up of *Anaplasma phagocytophilum* naturally infected equines

**Luan Gavião Prado\*<sup>2</sup>; Maristela Silveira Palhares<sup>3</sup>; Ana Luísa Soares de Miranda<sup>4</sup>**

---

**Resumo:** O presente trabalho identificou as principais alterações clínicas e laboratoriais de equinos naturalmente infectados por *Anaplasma phagocytophilum* e tratado utilizando-se oxitetraciclina de longa ação como único medicamento, num total de cinco aplicações. Foram avaliados seis equinos com infecção natural pelo agente *Anaplasma phagocytophilum* apresentando sintomatologia clínica e com diagnóstico definitivo realizado por meio de exame direto de esfregaço sanguíneo e PCR. Os animais apresentaram alterações nos valores hematimétricos e bioquímicos antes do tratamento, compatíveis com infecções de caráter agudo. Ao longo do tratamento observou-se melhora clínica e retorno aos valores de referência para a maioria dos parâmetros avaliados. Os animais com infecção aguda diagnosticada pela presença de inclusão intracitoplasmática ou PCR apresentaram hipoalbuminemia, hiperglobulinemia e diminuição nas concentrações de ALT e AST no momento do diagnóstico retornando aos valores de referência após o tratamento. A utilização de oxitetraciclina de longa ação em equinos deve ser realizada com muita cautela devido aos riscos de miosite e diarreias e se faz necessário o acompanhamento laboratorial, do perfil bioquímico destes animais, a fim de se evitar quaisquer problemas ao longo do tratamento.

**Palavras-chave:** Perfil bioquímico. Hemograma. Oxitetraciclina.

**Abstract:** This study identified the main clinical and laboratorial alterations of *Anaplasma phagocytophilum* naturally infected horses that were treated using oxytetracycline as the only medicine, totalizing 5 treatments. It was evaluated six horses presenting clinical symptoms with a definitive diagnostic by direct observation of blood smears or PCR. All the animals showed alterations on hematology and serum biochemistry, compatible to an acute infection. During the treatment, it was seen that the values of almost all the evaluated parameters returned to normal. Animals diagnosed with acute infection presented hypoalbuminemia, hyperglobulinemia and diminished values of ALT and AST. The use of oxytetracycline in equines must be done with caution due to the risk of myositis and diarrhea and is necessary the biochemistry profile follow up to avoid any problems during the treatment.

**Key words:** Biochemistry profile. Hemogram. Oxytetracycline.

---

Autor para correspondência. E-mail: luangprado@gmail.com

Recebido em 13.01.2017. Aceito em 30.09.2017

<sup>2</sup> Trabalho extraído da dissertação de monografia do autor

<sup>2</sup> Médico Veterinário. E-mail: luangprado@gmail.com

<sup>3</sup> Professora da Escola de Veterinária da UFMG. E-mail: maristelapalhares@gmail.com

<sup>4</sup> Doutoranda em Ciência Animal pela Escola de Veterinária da UFMG

<http://dx.doi.org/10.5935/1981-2965.20170031>

## Introdução

A Anaplasmosse Granulocítica Equina é causada por uma bactéria intracelular obrigatória, Gram-negativa, membro da família Anaplasmataceae incluída na ordem das Rickettsiales (Mezerville e Padilla–Cuadra, 2007). Baseados em análises no RNA ribossômico 16S e no gene *groESL*, na presença de antígenos e características biológicas comuns, o agente da Erliquiose Granulocítica Humana (EGH), *Ehrlichia equi*, agente da Erliquiose Granulocítica Equina (EGE), e *Ehrlichia phagocytophila*, agente da Febre do Carrapato em ruminantes, foram reagrupadas em uma única espécie: *Anaplasma phagocytophilum* (Dumler et al., 2001; von Loewenich et al., 2003). A bactéria infecta leucócitos polimorfonucleares do hospedeiro, principalmente os neutrófilos (Carlyon e Fikring, 2003).

A anaplasmosse granulocítica equina (AGE) é caracterizada por sinais clínicos de hipertermia, anorexia, depressão, edema de membros, ataxia e baixa mortalidade. Corpúsculos de inclusão em neutrófilos, leucopenia, trombocitopenia e anemia leve são as alterações hematológicas mais relatadas (Gribble, 1969; Salvagni et al., 2010). Agüero-Rosenfeld (2002), ao trabalhar com seres humanos observou que a doença pode levar a aumento de enzimas hepáticas, principalmente AST e ALT. Lepidi et al., (2000), ao avaliarem histologicamente órgãos de seis equinos infectados experimentalmente, puderam observar presença de inflamação em tais órgãos, principalmente no fígado, baço e vasos sanguíneos. Os autores sugerem que a alteração encontrada no fígado possa levar ao aumento

sérico das enzimas hepáticas. No Brasil, por se tratar de uma doença emergente, pouco se sabe sobre sua epidemiologia, fisiopatologia e transmissão. Há levantamentos soropidemiológicos nos estados de Minas Gerais (Gavião Prado et al., 2011), Goiás e Distrito Federal (Salvagni et al., 2010).

Em equinos a doença é considerada auto limitante e, normalmente, os animais se recuperam sem qualquer tipo de sequela ou necessidade de tratamento (Gribble, 1969; Salvagni et al., 2010). O diagnóstico da AGE é realizado por meio dos sinais clínicos e presença de inclusões intracitoplasmáticas em granulócitos, principalmente neutrófilos (Stannard et al., 1969; de La Fuente et al., 2005; Salvagni et al., 2010).

A AGE ainda é uma doença sub diagnosticada em todo o território brasileiro. Ainda não se sabe qual impacto econômico e de saúde pública e por se tratar de uma doença de caráter zoonótico, o conhecimento sobre seu ciclo na natureza e nos animais domésticos é importante para que se evite a infecção de seres humanos e suas consequências.

O presente trabalho tem por objetivo demonstrar as alterações clínicas e laboratoriais de equinos naturalmente infectados por *Anaplasma phagocytophilum* e tratados utilizando-se oxitetraciclina de longa ação como único medicamento.

## Material e métodos

O experimento foi conduzido de acordo com os conceitos e preceitos éticos, após aprovação no CEUA UFMG sob protocolo nº 167/2013. Foram atendidos seis casos de anaplasmosse granulocítica equina na Clínica

Médica de Equídeos do HV-EV/UFMG entre os anos de 2010 e 2013. Todos os casos foram encaminhados ao HV devido a queixas diferentes à AGE. Durante a internação dos animais, sinais clínicos característicos da afecção foram observados, tais como: anorexia, hipertermia, trombocitopenia e anemia. Avaliação da capa leucocitária, bem como dos perfis hematológicos e bioquímicos dos animais foram realizados para se chegar ao diagnóstico definitivo. Todos os animais foram positivos ao exame de capa leucocitária, mas apenas um foi positivo para a PCR. As coletas de sangue foram realizadas no dia do diagnóstico e a cada 48-72 horas após o início do tratamento. O tratamento realizado foi a base de oxitetraciclina de longa ação administrada por via intramuscular com intervalos de 72 horas entre as três primeiras aplicações e de 96 horas entre as duas últimas, totalizando cinco aplicações do medicamento.

A coleta do sangue foi realizada através de venopunção da jugular externa, após contenção dos animais em tronco e antisepsia do local, utilizando algodão embebido em álcool 70%. Foram coletados dois tubos a vácuo, sendo um deles sem anticoagulante e outro contendo ácido etilenodiamônio tetra-acético (EDTA).

No mesmo dia da coleta de sangue, a partir do tubo com EDTA, foram confeccionados, em duplicata, esfregaços sanguíneos, corados pelo método de Romanowsky<sup>5</sup>, para exame celular diferencial. Com o auxílio de uma centrífuga de microhematócrito<sup>6</sup> foram preparados microtubos utilizados para a determinação do hematócrito, das proteínas plasmáticas totais, do fibrinogênio e para a confecção de esfregaços com a capa de

leucócitos, também em duplicata. A hematimetria foi determinada em contador automático de células<sup>7</sup>, através do método de impedância. Os esfregaços sanguíneos e de capa leucocitária foram confeccionados de acordo com a técnica descrita por Cowell e Tyler (2002) e secos à temperatura ambiente.

A contagem diferencial de leucócitos foi realizada em microscópio óptico e sob imersão. Foram contados 100 leucócitos ao longo do corpo do esfregaço sanguíneo. Após a obtenção dos valores relativos, foram calculados os valores absolutos.

Para determinação do fibrinogênio utilizou-se a técnica descrita por Kaneko *et al.* (2008) e realizadas duas leituras, através de refratometria, do plasma. A primeira, logo após centrifugação do tubo capilar e a segunda após aquecimento do tubo capilar a 56° C por três minutos e nova centrifugação. O valor do fibrinogênio foi obtido pela diferença entre as duas leituras.

O restante do sangue total foi aliquoteado em tubos plásticos cônicos de 0,5 ml e armazenados em freezer a temperatura de -20°C para posterior análise da presença do *A. phagocytophilum*, por meio da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR).

Após a retração do coágulo, o tubo sem anticoagulante foi centrifugado<sup>8</sup> a 3000 rotações por minuto (rpm) (1106,82 x g), durante cinco minutos, e o soro obtido foi congelado a -20°C, em pelo menos seis alíquotas de 0,5 ml.

O soro foi analisado em aparelho semiautomático de bioquímica sanguínea<sup>9</sup>, com

<sup>5</sup> Panótico para colorações de esfregaço – Laborclin – Pinhais, Brasil  
<sup>6</sup> H-240 - Centribio

<sup>7</sup> Abacus Júnior Vet – Hematology Analyser, Diatron – São Paulo, Brasil

<sup>8</sup> Excelsa Baby – Fanem Ltda – São Paulo, Brasil

<sup>9</sup> Analisador Semi automático

*kits* específicos<sup>10</sup>. As análises realizadas constaram do perfil renal (uréia e creatinina) e hepático (Gama glutamiltransferase [GGT], Aspartato aminotransferase [AST], Alanina aminotransferase [ALT], Fosfatase alcalina [FA], albumina e proteínas totais). As lâminas de esfregaço de capa leucocitária foram analisadas em microscopia óptica, em aumento de 1000 vezes e em objetiva de imersão para procura de inclusões intracitoplasmáticas de *A. phagocytophilum* em neutrófilos. A leitura foi feita em toda a extensão do esfregaço, totalizando a contagem de 100 neutrófilos. Foi considerado positivo o animal que apresentasse inclusões intracitoplasmáticas, independentemente do percentual de células infectadas.

Para realização da PCR foram utilizadas as amostras de sangue total, alíquotadas e congeladas em *freezer* a -20°. A extração de DNA das amostras foi realizada com o kit Wizard® Genomic DNA Purification<sup>11</sup>, de acordo com o recomendado pelo fabricante para extração de amostras de 300 µL.

Para amplificação do DNA extraído das amostras foi utilizado a técnica de *nested* PCR, com o objetivo de aumentar a sensibilidade do teste. Esta técnica se baseia em submeter as amostras a duas reações de amplificação do alvo desejado. Durante a primeira reação há amplificação do alvo contendo maior número de pares de base e na segunda há amplificação de uma parte específica de pares de base contidos dentro do que foi amplificado na primeira reação.

Os produtos obtidos após a segunda reação foram submetidos à eletroforese em gel de agarose 1% em tampão TAE (0,5 X). Foram aplicados 5µL dos produtos, juntamente com 1µL do corante gel red<sup>13</sup> (1µl/10µl de TAE 0,5X) em cada canaleta do gel. Como padrão foi utilizado 1Kb Ladder Plus<sup>14</sup>. Após aplicação dos produtos e padrão, o gel foi submetido a um campo elétrico de 100V, por aproximadamente 25 minutos e, então, observado em lâmpada de UV. Observou-se a formação de banda nas canaletas das amostras e comparou-se com as bandas formadas pelo padrão e pela amostra positiva. Além disso, observou-se se houve formação de bandas nos brancos, tanto da primeira quanto da segunda reação a fim de se descartar possíveis contaminações durante o processo.

## Resultados

Os equídeos atendidos no HV-EV/UFMG apresentaram alterações hematológicas caracterizadas por leucocitose com neutrofilia e desvio a esquerda (aumento no valor de bastonetes relativos) apenas na terceira coleta. Os valores médios dos perfis hematológicos e bioquímicos estão apresentados nas Tabelas 1., Tabelas. 2 e Tab. 3.

<sup>10</sup> Bioclin – Quibisa Química Básica – Belo Horizonte, Brasil

<sup>11</sup> Promega Corporation – USA

**Tabela 1:** Perfil hematológico dos animais atendidos no HV-EV/UFGM nos anos de 2010 a 2013 apresentando AGE, com diagnóstico através de capa leucocitária ou PCR

Parâmetro avaliado	Coleta 1 Diagnóstico	Coleta 2 48-72h após início do tratamento	Coleta 3 96-144h após início do tratamento
Eritrócitos ( $\times 10^6/\mu\text{l}$ )	7,58	6,93	7,34
Hematócrito (%)	29,83	29,25	30,33
Hemoglobina (g/dl)	10,41	10,3	10,6
VCM (fl)	39,93	44,23	41,95
HCM (pg)	14,21	15,81	15,04
CHCM (g/dl)	35,43	36,15	35,88
Plaquetas ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ )	108,80	135,50	190,00

Valores de referência: Hematócrito: 24-44; Hemoglobina: 8-14; Eritrócitos: 5,5-9,5; Volume globular médio (VGM): 37-58,5; Concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM): 31-38; Hemoglobina Corpuscular Média (HCM): 12,3-19,7; Plaquetas: 120-256  $\times 10^3/\mu\text{l}$ . Fonte: Jain (1993); Oliveira (2007).

À bioquímica, no momento do diagnóstico, foram observados: hiperfibrinogenemia, hipoalbuminemia, diminuição sérica da AST e aumento da ALT e GGT. O hematócrito dos animais mesmo dentro dos valores de referência está baixo. Isso se deve ao fato de os animais apresentarem, além da AGE, outras afecções (doença neurológica, diarreia, politraumatismo, flebite de jugular e afecção do trato reprodutivo) que podem levar à queda do hematócrito devido a diversas causas. Além disso, dentre os animais atendidos, estão animais pertencentes ao Projeto Carroceiros, animais estes que recebem alimentação muitas vezes deficiente que pode levar à diminuição do número de eritrócitos e também do hematócrito. Um animal apresentou anemia normocítica normocrômica. Os

valores de eritrócito e de hematócrito voltaram aos valores de normalidade após a instituição do tratamento com oxitetraciclina longa ação (dose 15mg/kg, IM, durante cinco aplicações intervaladas de 48h entre a primeira e a segunda aplicações e 72h nas demais aplicações).

Os animais apresentaram trombocitopenia, no momento do diagnóstico, com retorno aos valores de referência 48-72 horas após instituição do tratamento. Em dois animais observou-se trombocitopenia grave durante a internação (15000 e 43000 células/ $\mu\text{l}$ ). Ambos apresentaram melhora do número de plaquetas após o início do tratamento. Um deles, mesmo com tratamento, foi a óbito devido à afecção primária (quadro neurológico).

**Tabela 2:** Perfil leucocitário dos animais atendidos no HV-EV/UFGM nos anos de 2010 a 2013 apresentando AGE, com diagnóstico através de capa leucocitária ou PCR

Parâmetro avaliado	Coleta 1 Diagnóstico	Coleta 2 48-72h após início do tratamento	Coleta 3 96-144h após início do tratamento
Leucócitos (células/ $\mu\text{l}$ )	11993,33	12605,00	16166,66
Bastonete absoluto (células/ $\mu\text{l}$ )	84,25	433,50	1773,33
Segmentado absoluto (células/ $\mu\text{l}$ )	9193,00	7507,75	10096,96
Linfócito absoluto (células/ $\mu\text{l}$ )	2455,91	3577,45	3359,33
Monócito absoluto (células/ $\mu\text{l}$ )	259,75	709,00	926,66
Basófilo absoluto (células/ $\mu\text{l}$ )	0	97,06	0
Eosinófilo absoluto (células/ $\mu\text{l}$ )	0	609,00	1152,00
Relação Neutrófilo:Linfócito	3,71	2,09	3,01

Valores de referência (Jain, 1993): Leucócitos Totais: 5200-13900 cels/ $\mu\text{l}$ ; Basófilo absoluto: 0-290 cels/ $\mu\text{l}$ ; Eosinófilo absoluto: 100-1000 cels/ $\mu\text{l}$ ; Neutrófilo absoluto: 2200-8500 cels/ $\mu\text{l}$ ; Bastonete absoluto: 0-1000 cels/ $\mu\text{l}$ ; Linfócito absoluto: 1500-7000 cels/ $\mu\text{l}$ ; Monócito absoluto: 0-1000 cels/ $\mu\text{l}$ ; Relação Neutrófilo:Linfócito: 1:2 – 1:3

Observou-se leucocitose apenas na terceira coleta, embora o aumento tenha sido evidenciado a partir da segunda coleta. De forma similar a contagem de bastonetes, tanto relativo quanto absoluto, acompanhou o aumento dos leucócitos. Provavelmente, a causa deste aumento é a afecção primária dos animais. Um animal havia sofrido politraumatismo e apresentava feridas infeccionadas em três regiões do corpo; outro animal foi encaminhado devido a sintomatologia neurológica; dois animais apresentavam diarreia; um animal flebite de jugular grave e o último animal problemas reprodutivos.

A presença de formas jovens de neutrófilo indica que os animais apresentavam responsividade ao insulto e não havia alteração na granulocitopoiese. O aumento do número de neutrófilos observado explica o aumento na

relação neutrófilo:linfócito pois esta aumenta principalmente em casos de infecções agudas que leva ao aumento de neutrófilos observado (Trhall *et al.*, 2006).

As alterações observadas no perfil bioquímico destes animais são compatíveis a animais que apresentam alterações, provavelmente, de caráter infeccioso e agudo. O aumento das globulinas é um bom indicador de infecção, pois há aumento dos valores enquanto o organismo se mobiliza para conter o agente e uma das formas é pela produção de imunoglobulinas. É difícil afirmar que a maior produção de globulinas apresentadas pelos animais seja devido a AGE, mas pode-se afirmar que a afecção contribuiu para esse aumento. Apesar do aumento, os valores da relação albumina:globulina se mantiveram dentro dos valores de referência.

**Tabela 3:** Perfil bioquímico dos animais atendidos no HV-EV/UFMG nos anos de 2010 a 2013 apresentando AGE, com diagnóstico através de capa leucocitária ou PCR

Parâmetro avaliado	Coleta 1 Diagnóstico	Coleta 2 48-72h após início do tratamento	Coleta 3 96-144 após início do tratamento
Proteína total (mg/dl)	6,68	7,13	7,60
Fibrinogênio (g/dl)	500,00	400,00	466,66
Albumina (mg/dl)	2,11	2,41	2,30
Globulina (mg/dl)	3,90	4,41	5,70
Relação albumina:globulina	0,58	0,58	0,40
AST (U/L)	203,82	271,76	121,00
ALT (U/L)	35,05	32,88	41,00
GGT (U/L)	34,71	10,77	17,00
FA (U/L)	251,26	167,82	134,00
Ureia (mg/dl)	33,66	32,94	33,00
Creatinina (mg/dl)	1,40	1,12	0,7

Valores de referência (Meyer *et al.*, 1995; Kaneko *et al.*, 1997): Uréia:21,4-51,5 mg/dl; Creatinina: 0,9-2,0 mg/dl; GGT: 4-13,4 UI/l; AST: 226-366 UI/l; ALT: 3-23 UI/l; FA: 86-295 UI/l; Albumina: 2,4-4,0 mg/dl; Proteínas totais: 5,2-7,9 mg/dl; Fibrinogênio: 200-400g/dl; Globulinas: 2,62-4,04 mg/dl; Albumina:Globulina: 0,62-1,46.

A alteração das concentrações séricas das enzimas hepáticas demonstra que em algum momento, no decorrer da internação e/ou da infecção, os animais apresentaram certo grau de lesão hepática. Sabe-se que o *A. phagocytophilum*

leva a lesão hepática e conseqüentemente ao aumento de suas enzimas, principalmente ALT e AST (Lepidi *et al.*, 2000), mas também as afecções primárias, lesões musculares decorrente de decúbito prolongado ou aplicações

medicamentosas podem ter sido responsáveis pelas alterações das enzimas hepáticas encontradas.

Todos os animais apresentaram sintomatologia clínica de AGE e presença de inclusões intracitoplasmáticas após a internação por outras causas. Morbidades e internação são fatores de estresse, principalmente para equinos que costumam apresentar infecções secundárias ou reagudização de infecções crônicas após tais ocorrências, tal fato se deve pela imunodepressão causada pela maior liberação de corticosteroides endógenos (Abbas e Lichtman, 2008). Provavelmente, os pacientes internados apresentavam a infecção pelo agente, desenvolvendo sintomatologia clínica após o desenvolvimento da afecção primária e internação.

### Conclusões

Os animais com infecção aguda diagnosticada pela presença de inclusão intracitoplasmática ou PCR apresentaram hipoalbuminemia, hiperglobulinemia e diminuição nas concentrações de ALT e AST no momento do diagnóstico retornando aos valores de referência após o tratamento.

A utilização de oxitetraciclina de longa ação em equinos deve ser realizada com muita cautela devido aos riscos de miosite e diarreias e se faz necessário o acompanhamento laboratorial, do perfil bioquímico destes animais, a fim de se evitar quaisquer problemas ao longo do tratamento.

### Referências

1. ABBAS, A. A. K.; LICHTMAN, S. H. Imunologia celular e molecular. 6ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008. 566p.

2. AGUERO-ROSENFELD, M. E. Diagnosis of human granulocytic Ehrlichiosis: State of art. **Vector Borne and Zoonotic Diseases**, v. 2, p. 233-240, 2002.

3. BUTLER, C. M.; NIJHOF, A. M. JONGEJAN, F.; VAN DER KOLK, J. H. *Anaplasma phagocytophilum* infection in the Netherlands. **The Veterinary Record**, v. 162, p. 216-218, 2008.

4. CARLYON, J. A.; FIRKING, E. Invasion and survival strategies of *Anaplasma phagocytophilum*. **Cellular Microbiology**, v. 5, p. 743 – 754, 2003.

5. COWELL, R.L.; TYLER, R.D. Diagnostic cytology and hematology of the horse. 2 ed. Estados Unidos: Mosby, 2002. 241 p.

6. DE LA FUENTE, J.; NARANJO, V.; RUIZ – FONS, F.; HÖFLE, U.; FERNANDEZ DE MERA, I. G.; VILLANÚA, D.; ALMAZÁN, C.; TORINA, A.; CARACAPPA, S.; KOCAN, K. M.; GORTAZÁR, C. Potencial vertebrate reservoir hosts and invertebrate vectors of *Anaplasma marginale* and *A. phagocytophilum* in central Spain. **Vector – borne and zoonotic diseases**, v.5, p.390 – 401, 2005.

7. DUMLER, J. S.; BARBET, A. F.; BEKKER, C. P. J.; DASCH, G. A.; PALMER, G. H.; RAY, S. C.; RIKIHISA, Y.; RURANGIRWA, F. R. 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 ‘HE agent’ as subjective synonyms of *Ehrlichia phagocytophila*. **IJSEM**, v. 51, p. 2145-2165, 2001.

8. GAVIÃO PRADO, L.; BASTOS, C. V.; PALHARES, M. S. Light – weight draft equids seroprevalence of *Anaplasma phagocytophilum* in urban area of Minas Gerais, Brazil. TTP7: Ticks and Tick-borne pathogens International Conference. Zaragoza (Spain), 2011.

9. GRIBBLE, D. H. Equine Ehrlichiosis. **JAVMA**, v.155, p.462 – 469, 1969.

10. JAIN, N. C. Essentials of Veterinary Hematology. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. 417 p.

Germany. **Eur. J. Microbiol. Infect. Dis.**, v. 22, p. 303 – 305, 2003.

11. KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. Clinical biochemistry of domestic animals. 6 ed. Estados Unidos: Elsevier, 2008. 916p.

12. LEPIDI, H.; BUNNEL, J. E.; MARTIN, M. E.; MADIGAN, J. E.; STUEN, S.; DUMLER, J. S. Comparative pathology and immunohistology associated with clinical illness after *Ehrlichia phagocytophila*-group infections. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 62, p. 29-37, 2000.

13. MEYER, D. J.; COLES, E. H.; RICH, L. J. Medicina de Laboratório Veterinária: Interpretação e diagnóstico. São Paulo: Roca, 1995. 308 p.

14. MEZERVILLE, V. H.; PADILLA-CUADRA, J. I. Choque séptico por ehrlichiosis. **Acta Medica Costarricense**, v. 49, p. 118-120, 2007.

15. OLIVEIRA, J. Adequação da hemodiálise em equinos hípidos: avaliação clínica e laboratorial. 2007. 257p. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

16. SALVAGNI, C. A.; DAGNONE, A. S.; GOMES, T. S.; MOTA, J. S.; ANDRADE, G. M.; BALDANI, C. D.; MACHADO, R. Z. Serologic evidence of equine granulocytic anaplasmosis in horses from central West Brazil. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.**, v.19, p.135 – 140, 2010.

17. STANNARD, A. A.; GRIBBLE, D. H.; SMITH, R. S. Equine Ehrlichiosis: A disease with similarities to tick-borne fever and bovine petechial fever. **The Veterinary Record**, 1969.

18. THRALL, M. A. (Org.) Hematologia e bioquímica clínica veterinária. 1ed. São Paulo: Rocca. 2006. 582p

19. VON LOEWENICH, F. D.; STUMPF, G.; BAUMGARTEN, B. U.; RÖLLINGHOFF, M.; DUMLER, J. S.; BOGDAN, C. A case of Equine Granulocytic Ehrlichiosis provides molecular evidence for the presence of pathogenic *Anaplasma phagocytophilum* (HE agent) in