

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO**

**MÁRCIA FARIAS ROLIM**

**FREQUÊNCIA DE ANTICORPOS ANTI-*Anaplasma phagocytophilum*  
EM EQUÍDEOS DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO E SEUS  
FATORES DE RISCO**

Campos dos Goytacazes

2012

MÁRCIA FARIAS ROLIM

FREQUÊNCIA DE ANTICORPOS ANTI-*Anaplasma phagocytophilum*  
EM EQUÍDEOS DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO E SEUS FATORES  
DE RISCO

Tese apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como requisito parcial par obtenção do grau de Doutor em Ciência Animal, na Área de Concentração de Sanidade Animal.

ORIENTADOR Prof. Francisco Carlos Rodrigues de Oliveira

Campos dos Goytacazes

2012

MÁRCIA FARIAS ROLIM

FREQUÊNCIA DE ANTICORPOS ANTI-*Anaplasma phagocytophilum* EM EQUÍDEOS DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO E SEUS FATORES DE RISCO

Tese apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como requisito parcial par obtenção do grau de Doutor em Ciência Animal, na Área de Concentração de Sanidade Animal.

Aprovada em 10/12/2012

BANCA EXAMINADORA

---

PhD.Carlos Wilson Gomes Lopes - UFRRJ

---

DSc Paula Alessandra Di Filippo - UENF

---

DSc Antônio Peixoto Albernaz - UENF

---

DSc Edwards Frazão Teixeira - UENF

---

Prof. Francisco Carlos Rodrigues de Oliveira – UENF  
(orientador)

À memória de Yolanda, João, Elvira e Miguel, meus avós  
A Orlando e Schirley, meus pais  
Ao Flávio Augusto, meu marido  
A Daniel e Luizah, meus filhos

## AGRADECIMENTOS

A Deus por estar sempre presente no meu caminho, e tornar tudo possível.

Aos meus pais, Orlando Rolim e Schirley Farias, por suas lições sábias de compreensão, amor, fé e reconhecimento.

Aos meus irmãos, Janaína Rolim, Marcelo Rolim, Eliz Saules e Miguel Farias, pelo companheirismo e carinho indispensáveis em muitos momentos ao longo da vida.

Ao meu marido, Flavio Augusto Soares Graça, por todo apoio e confiança, pela grandiosa contribuição dos seus conhecimentos, capacidade de trabalho, madrugadas de estudo e pelo amor e companheirismo.

Aos meus filhos, Daniel Graça e Luizah Rolim, que trazem luz e alegria para minha vida. Vocês são as maiores lições de dedicação e amor. Compreendem todas as minhas ausências pela minha busca profissional, sendo pacientes e amigos.

Ao Professor Gerson Cotta-Pereira (*in memoriam*), pelas lições de vida e de medicina, minha eterna admiração.

Ao Professor Doutor Francisco Carlos Rodrigues de Oliveira, agradeço por ter assumido a orientação desta tese em um tema novo para o Laboratório. Agradeço o incentivo e o fortalecimento na preparação de projetos e pesquisas, com comentários e críticas pertinentes à ciência. Agradeço, sobretudo, ao privilégio de fazer parte de temas importantes para a saúde animal os quais você vem contribuindo, seja nas aulas, nos projetos de extensão ou através de artigos.

À Professora Sílvia sou imensamente grata por sua permanente solicitude na fase laboratorial deste projeto, imprescindível para realização desta tese, sou grata.

Ao Professor Antônio Albernaz Peixoto e sua esposa Amanda, por me apresentarem ao meu Orientador, pelos incentivos acadêmicos, amizade e acolhimento. Meus agradecimentos sinceros.

Aos Professores e Técnicos do CBB, pela cortesia na disponibilização da estufa e orientações em microscopia com imunofluorescência. Sou grata.

A Médica Veterinária Dra Camile Ferão, do laboratório Photochart, com importante colaboração na importação dos Kits e pelo treinamento oferecido. Pelo incentivo a este tema que vem sendo divulgado pelos seus registros. Meus agradecimentos sinceros.

Aos pós-graduandos Edward Frazão, Murilo Boa Morte, André Maurício, Samira, Carina e aos acadêmicos Fernanda Brasil e Saulo Tinoco, meu reconhecimento e gratidão além dos colegas do curso de Pós-Graduação em Ciência Animal. Compartilhamos os mesmos ideais.

Aos meus colegas de turma e amigos Prof. Miguel Teixeira e Profa. Ticiania França, pela valiosa parceria, convívio, solidariedade e amizade compartilhadas por todos esses anos, minha sincera amizade.

A Profa. Ana Paula Aragão, pela disposição em trabalhar, força de vontade, determinação e amizade. Meus agradecimentos sinceros.

Aos meus colegas de trabalho Fabiana Pizzolato, Andrea de Souza, Elenice da Silva, Paulo Henrique Moraes, Ana Cristina, Julio César, José Geraldo, Edson, Celso e Giovanna, que compartilham comigo as dificuldades do trabalho diário, pela convivência e por toda a compreensão dada, tornando possível a concretização desta etapa profissional. Meus sinceros agradecimentos e amizade.

Aos colegas de campo, Médicas-Veterinárias, Daniele Rodrigues de Souza, Natália Rebouças Pires, Bianca Cascardo e Ana Carla, gratidão pela colaboração sem pretensão pessoal e por tudo em que se empenharam para execução deste trabalho.

Aos meus amigos, colegas de curso e a todos os professores que comigo compartilharam o seu saber. Serão guardados com carinho e amizade neste trabalho e na memória.

*A verdadeira coragem  
não está em se enfrentar  
o próximo dizendo "não".*

*A verdadeira coragem  
está em enfrentar a si  
mesmo dizendo "sim".*

## RESUMO

*Anaplasma phagocytophilum* é um hemoparasito, transmitido por carrapatos, causador da anaplasmoze granulocítica, patógeno emergente no Brasil e diagnosticado em diversas espécies de animais domésticos, silvestres e humanos. Com o objetivo de investigar a frequência de anticorpos anti- *Anaplasma phagocytophilum* em equídeos do estado no Rio de Janeiro e associar aos possíveis fatores de risco para a infecção, foram coletadas 612 amostras de sangue provenientes de equídeos de 15 municípios do estado e aplicado um questionário epidemiológico no qual foram avaliados aspectos ligados à propriedade, manejo sanitário, a enfermidade e ao estado individual do animal avaliado. Para o diagnóstico realizou-se a Imunofluorescência Indireta. No presente trabalho, foram encontrados 124 animais (20,26%) com anticorpos IgG anti- *A. phagocytophilum* com títulos de 1:80. Pela análise de regressão logística multivariável, observou-se que a propriedade ( $P < 0,0001$ ), procedência ( $P = 0,0095$ ) e a idade ( $P = 0,0236$ ) dos animais são os reais fatores de risco para a infecção do estado no Rio de Janeiro. Isto permitiu inferir que o parasito está distribuído em todas as mesorregiões do estado do Rio de Janeiro e que os focos em propriedades são importantes na permanência do parasito nos equídeos. Foi observado também que animais oriundos de outros estados podem introduzir a infecção e tornar as propriedades foco de doença. Os muares, pela primeira vez, foram identificados também como importantes hospedeiros da infecção. Animais, independente da idade, devem ser o foco da investigação, quando se pretende monitorar a doença nos plantéis de equídeos, com atenção às doenças de caráter sistêmico para o diagnóstico diferencial.

Palavras-chave: Anaplasmoze granulocítica, carrapatos, diagnóstico, hemoparasitos, equídeos, RIFI.

## ABSTRACT

*Anaplasma phagocytophilum* is a hemoparasite, transmitted by ticks, emerging in Brazil, which causes granulocytic anaplasmosis and diagnosed in several species of domestic and wild animals and humans. With the objective of investigate the frequency of anti-*Anaplasma phagocytophilum* in horses in the state of Rio de Janeiro and associate the possible risk factors for infection were collected 612 blood samples from horses of 15 municipalities of the state and applied an epidemiological questionnaire that assessed aspects related to property, sanitary handling, disease and animal evaluated. For the diagnosis was carried out indirect immunofluorescence. In this work we detected 124 animals (20.26%) with IgG antibodies with titers of 1:80 *A. phagocytophilum*. By multivariable logistic regression analysis showed that the property, origin and age of the animals were the real risk factors for infection by *A. phagocytophilum*. It was observed that the parasite is spread at all mesoregions in the state of Rio de Janeiro and focuses on properties that are important in the residence of the parasite in horses. Animals from other states can introduce infection and make the properties outbreak of disease. The mules also has importance as hosts of the infection. independently of age animals should be the focus of research when trying to monitor the disease in herds of horses with the diseases of systemic character for the differential diagnosis.

Key words: Equids, diagnostic, granulocytic anaplasmosis, hemoparasites, IFA, tick.

## LISTA DE QUADROS

<b>Quadro 1</b>	Genogrupos do gênero <i>Ehrlichia</i> com destaque para a forma granulocítica	21
<b>Quadro 2</b>	Características das principais espécies do gênero <i>Ehrlichia</i> e <i>Anaplasma</i> ..	22
<b>Quadro 3</b>	Posição taxonômica de <i>Anaplasma phagocytophilum</i> baseado nas sequências do 16S rRNA .....	23
<b>Quadro 4</b>	Reação cruzada em testes sorológicos entre espécies da família Anaplasmataceae.....	48
<b>Quadro 5</b>	Diagnóstico diferencial de Anaplasmoses Granulocítica Equina.....	51

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b>	Risco da infecção por <i>Anaplasma phagocytophilum</i> em equídeos no estado do Rio de Janeiro quanto às propriedades pesquisadas.....	65
<b>Tabela 2</b>	Risco da infecção por <i>Anaplasma phagocytophilum</i> em equídeos no estado do Rio de Janeiro quanto aos quinze municípios pesquisados .....	66
<b>Tabela 3</b>	Risco da infecção por <i>Anaplasma phagocytophilum</i> em equídeos no estado do Rio de Janeiro quanto às sete mesorregiões .....	67
<b>Tabela 4</b>	Risco da infecção por <i>Anaplasma phagocytophilum</i> em equídeos no estado do Rio de Janeiro quanto a suplementação alimentar na época da seca.....	74
<b>Tabela 5</b>	Risco da infecção por <i>Anaplasma phagocytophilum</i> em equídeos no estado do Rio de Janeiro quanto às condições higiênico-sanitárias .....	76
<b>Tabela 6</b>	Risco da infecção por <i>Anaplasma phagocytophilum</i> em equídeos no estado do Rio de Janeiro quanto ao manejo reprodutivo .....	79
<b>Tabela 7</b>	Risco da infecção por <i>Anaplasma phagocytophilum</i> em equídeos no estado do Rio de Janeiro quanto ao tratamento de ectoparasitas .....	79
<b>Tabela 8</b>	Risco da infecção por <i>Anaplasma phagocytophilum</i> em equídeos no estado do Rio de Janeiro quanto à idade.....	89
<b>Tabela 9</b>	Risco da infecção por <i>Anaplasma phagocytophilum</i> em equídeos no estado do Rio de Janeiro quanto à raça.....	91
<b>Tabela 10</b>	Risco da infecção por <i>Anaplasma phagocytophilum</i> em equídeos no estado do Rio de Janeiro quanto à procedência .....	92
<b>Tabela 11</b>	Risco da infecção por <i>Anaplasma phagocytophilum</i> em equídeos no estado do Rio de Janeiro quanto ao quadro de anemia de animal .....	93
<b>Tabela 12</b>	Fatores de risco da infecção por <i>Anaplasma phagocytophilum</i> em equídeos no estado do Rio de Janeiro estimado pelo método de regressão logística multivariada .....	95

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b>	Fotomicroscopia de corpúsculo de inclusão em neutrófilo .....	24
<b>Figura 2</b>	Mapa do estado do Rio de Janeiro com a localização das coletas, número de propriedades visitadas e número de animais pesquisados (N) .....	53
<b>Figura 3</b>	Kit RIFI Equine Antibody -Fuller Laboratories© para diagnóstico de <i>Anaplasma phagocytophilum</i> .....	56
<b>Figura 4</b>	Teste de Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) dos equídeos pesquisados no Estado do Rio de Janeiro (Kit <i>Anaplasma phagocytophilum</i> IFA Equine Antibody - Fuller Laboratories©) .....	64
<b>Figura 5</b>	Mapa do estado do Rio de Janeiro com a localização das coletas, número de amostras sanguíneas por município e número de animais soropositivos .....	64
<b>Figura 6</b>	Frequência de equídeos soropositivos e negativos para <i>Anaplasma phagocytophilum</i> em propriedades do estado do Rio de Janeiro, Brasil, com assistência veterinária comparadas com propriedades sem assistência veterinária .....	68
<b>Figura 7</b>	Frequência de equídeos soropositivos e negativos para <i>Anaplasma phagocytophilum</i> em propriedades do estado do Rio de Janeiro, Brasil, com manejo extensivo, semi-intensivo, intensivo .....	69
<b>Figura 8</b>	Frequência de equídeos soropositivos e negativos para <i>Anaplasma phagocytophilum</i> em propriedades do estado do Rio de Janeiro, Brasil, com sistema familiar de produção, empresarial e pré-empresarial .....	70
<b>Figura 9</b>	Frequência de equídeos soropositivos e negativos para <i>Anaplasma phagocytophilum</i> em propriedades do estado do Rio de Janeiro, Brasil, que fazem viagens frequentes ou não .....	71
<b>Figura 10</b>	Frequência de equídeos soropositivos e negativos para <i>Anaplasma phagocytophilum</i> em propriedades do estado do Rio de Janeiro, Brasil, que recebem animais para reprodução frequentemente, raramente e em propriedades que não recebem animais para reprodução .....	73
<b>Figura 11</b>	Frequência de equídeos soropositivos e negativos para <i>Anaplasma phagocytophilum</i> em propriedades do estado do Rio de Janeiro, Brasil, quanto ao tipo de alimentação .....	74
<b>Figura 12</b>	Frequência de equídeos soropositivos e negativos para <i>Anaplasma phagocytophilum</i> em propriedades do estado do Rio de Janeiro, Brasil, quanto à suplementação mineral .....	75
<b>Figura 13</b>	Frequência de equídeos soropositivos e negativos para <i>Anaplasma phagocytophilum</i> em propriedades do estado do Rio de Janeiro, Brasil, quanto ao manejo sanitário .....	76
<b>Figura 14</b>	Frequência de equídeos soropositivos e negativos para <i>Anaplasma phagocytophilum</i> em propriedades do estado do Rio de Janeiro, Brasil, com outras criações concomitantes .....	78
<b>Figura 15</b>	Frequência de equídeos soropositivos e negativos para <i>Anaplasma phagocytophilum</i> em propriedades do estado do Rio de Janeiro, Brasil, quanto a participação em aglomerações .....	80
<b>Figura 16</b>	Frequência de equídeos soropositivos e negativos para <i>Anaplasma phagocytophilum</i> em propriedades do estado do Rio de Janeiro, Brasil, com animais com histórico de anemia .....	81

<b>Figura 17</b>	Frequência de equídeos soropositivos e negativos para <i>Anaplasma phagocytophilum</i> em propriedades do estado do Rio de Janeiro, Brasil, com presença de cães ou não. ....	82
<b>Figura 18</b>	Frequência de equídeos soropositivos e negativos para <i>Anaplasma phagocytophilum</i> em propriedades do estado do Rio de Janeiro, Brasil, com abastecimento de água de fonte própria comparadas às com rede de abastecimento. ....	83
<b>Figura 19</b>	Frequência de equídeos soropositivos e negativos para <i>Anaplasma phagocytophilum</i> em propriedades do estado do Rio de Janeiro, Brasil, com criação de bovinos associada com aquelas com criação exclusiva de equídeos.....	84
<b>Figura 20</b>	Frequência de equídeos soropositivos e negativos para <i>Anaplasma phagocytophilum</i> em propriedades do estado do Rio de Janeiro, Brasil, quanto à presença de animais silvestres. ....	85
<b>Figura 21</b>	Frequência de equídeos soropositivos e negativos para <i>Anaplasma phagocytophilum</i> em propriedades do estado do Rio de Janeiro, Brasil, quanto a comercialização de equídeos. ....	86
<b>Figura 22</b>	Frequência de equídeos soropositivos e negativos para <i>Anaplasma phagocytophilum</i> em propriedades do estado do Rio de Janeiro, Brasil, com relação aos animais machos comparada com as fêmeas. ....	87
<b>Figura 23</b>	Frequência de equídeos soropositivos e negativos para <i>Anaplasma phagocytophilum</i> em propriedades do estado do Rio de Janeiro, Brasil, de acordo com a faixa etária. ....	90
<b>Figura 24</b>	Frequência de equídeos soropositivos e negativos para <i>Anaplasma phagocytophilum</i> em propriedades do estado do Rio de Janeiro, Brasil, quanto a atividade equestre. ....	93
<b>Figura 25</b>	Frequência de equídeos soropositivos e negativos para <i>Anaplasma phagocytophilum</i> em propriedades do estado do Rio de Janeiro, Brasil, quanto aos tipos de vacinas. ....	94

## LISTA DE ABREVIATURAS

EUA	Estados Unidos da América
RNA	Ácido ribonucleico
rRNA	Componente molecular ribossomal
DNA	Ácido desoxirribonucleico
µm	Micrometro
µL	Microlitro
dL	Decilitro
mL	Mililitro
HL-60	Linhagem de célula leucêmica promielocítica humana
IDE8	Células endoteliais cultivadas in vitro
ISE6	Células endoteliais cultivadas in vitro
P-selecinas	Glicoproteínas de superfície
PGSL-1	Glicoproteínas de superfície
RIFI	Reação de imunofluorescência indireta
Western blot,	Ensaio imunoenzimático
ELISA	Enzyme –linked immunosorbent assay
spp	Espécies
PCR	Reação em cadeia da polimerase
AG	<i>Anaplasma phagocytophilum</i>
AGH	Anaplasrose granulocítica humana
AGE	Anaplasrose granulocítica equina
EME	Erliquiose monocítica equina
mg	Miligrama
Kg	Kilograma
p.v	Peso vivo
GTP	Trifosfato de guanidina
GTPase	Enzima hidrolase da gtp
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleotídeo
O <sup>-2</sup>	Radical superóxido
groESL	Gene
MSP	Proteína de superfície
ankA	Gene
IBGE	Instituto brasileiro de geografia e estatística
IgG	Imunoglobulina classe g
PBS	Tampão fosfato alcalino
pH	Potencial hidrogeniônico ou hidrogênico iônico
MET	microscopia eletrônica de transmissão

## LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
°C	Grau Celsius

## SUMÁRIO

RESUMO .....	8
ABSTRACT .....	9
<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>18</b>
<b>2 REVISÃO LITERATURA .....</b>	<b>20</b>
2.1 AGENTE .....	20
2.2 EPIDEMIOLOGIA .....	25
2.2.1 Distribuição .....	25
2.2.2 Transmissão .....	28
2.2.3 Reservatório .....	30
2.3 HISTÓRICO DA ANAPLASMOSE GRANULOCÍTICA .....	32
2.3.1 Humanos .....	32
2.3.2 Equídeos .....	34
2.4 OUTRAS ESPÉCIES DA FAMÍLIA Anaplasmataceae DE IMPORTÂNCIA EM EQUÍDEOS .....	35
2.5 PATOGENIA .....	37
2.6 ACHADOS CLÍNICO PATOLÓGICOS DA ANAPLASMOSE GRANULOCÍTICA .....	39
2.6.1 Humanos .....	39
2.6.2 Equinos .....	40
2.6.3 Outras espécies .....	42
2.7 DIAGNÓSTICO .....	43
2.7.1 Clínico .....	43
2.7.2 Hematológico .....	44
2.7.3 Sorológico .....	46
2.7.4 Molecular .....	48
2.7.5 Patologia .....	49
2.8 DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL .....	50
2.9 TRATAMENTO .....	52
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>53</b>
3.1 PERÍODO E LOCAL DE REALIZAÇÃO DA PESQUISA .....	53
3.2 AMOSTRAGEM .....	54
3.3 COLETA DE AMOSTRAS .....	54
3.4 PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS DE SANGUE .....	54
3.5 SOROLOGIA .....	55
3.6 INQUÉRITO EPIDEMIOLÓGICO .....	56
3.6.1 Identificação da propriedade .....	56
3.6.2 Parte física e habitacional das propriedades .....	57
3.6.3 Manejo .....	58
3.6.4 Perguntas referentes à anaplasnose equina .....	60
3.6.5 Questionário individualizado .....	61
3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	62
<b>4 RESULTADOS .....</b>	<b>63</b>
<b>5 DISCUSSÃO .....</b>	<b>96</b>
<b>6 CONCLUSÕES .....</b>	<b>108</b>
<b>7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>109</b>



## 1 INTRODUÇÃO

*Anaplasma phagocytophilum* é uma bactéria intracelular obrigatória que parasita granulócitos de mamíferos domésticos e selvagens, aves e humanos. No Brasil foi descrita em equinos, cervídeos, cães, aves migratórias e carnívoros selvagens. Apesar de ser considerada uma zoonose, a cadeia de transmissão de *A. phagocytophilum* que compreende carrapatos, reservatórios e diversos outros hospedeiros é pouco estudada no Brasil, principalmente em animais próximos ao homem como os equídeos.

Os principais vetores de *A. phagocytophilum* são carrapatos do gênero *Ixodes*, os quais incluem *I. persulcatus*, *I. ricinus*, *I. pacificus* e *I. scapularis* fora do Brasil. Alguns pesquisadores identificaram diferenças na capacidade vetorial em diversos gêneros, o que pode explicar as variações de incidência, e gravidade da anaplasmoze granulocítica, além dos hospedeiros vertebrados acometidos.

A anaplasmoze granulocítica produz uma síndrome febril aguda com características clínicas e laboratoriais comuns ao homem e o equino. A forma clínica em equinos caracteriza-se também por diminuição de desempenho, depressão, petéquias, edema de membros e ataxia. Entretanto, sua incidência não é bem conhecida e a infecção tem sido frequentemente diagnosticada sem sinais clínicos aparentes com curso autolimitante, o que favorece o potencial desta espécie como reservatório. Adicionalmente à capacidade de produção de anticorpos anti- *A. phagocytophilum* pelos equinos, é suficiente para a detecção em testes comerciais por um período de seis meses e confere a esta espécie característica de sentinela antes da ocorrência de surtos em seres humanos.

Outro fator a ser considerado é o diagnóstico diferencial com outras doenças inclusive as babesioses equinas, principalmente nos casos clínicos, seja pela dificuldade de detecção do parasito no esfregaço de sangue periférico ou pela ausência de resposta ao tratamento quimioterápico.

Considerando que existem poucos relatos na literatura sobre a cadeia epidemiológica de *A. phagocytophilum* no Brasil e que a população de equídeos nacionais é quarta mundial (MAPA, 2011), além da intensificação das atividades que colocam estes animais em contato direto com o homem, esta pesquisa se justifica

por determinar a frequência de equídeos que tiveram contato com o agente etiológico associando a fatores de risco a infecção. Desta forma, este trabalho tem como objetivos verificar a frequência de anticorpos anti- *A. phagocytophilum* em equídeos no Estado do Rio de Janeiro utilizados em atividades ligadas ao trabalho, passeio, reprodução, hipismo clássico e rural, corrida e policiamento; identificar os possíveis fatores de risco à infecção de forma a contribuir com a vigilância sobre este agente etiológico em áreas urbanas e rurais; dar atenção à importância da anaplasmoze granulocítica equina como diagnóstico diferencial com outras enfermidades sistêmicas; e fornecer parâmetros para estudos da cadeia epidemiológica do *Anaplasma phagocytophilum* no Brasil.

## 2 REVISÃO LITERATURA

### 2.1 AGENTE

*Anaplasma phagocytophylum*, pertencente à ordem *Rickettsiales*, família *Anaplasmataceae*, foi renomeado por Dumler et al. (2001), como bactéria gram negativa de células granulocíticas, dentre elas neutrófilos e eosinófilos, de diversas espécies de animais inclusive humanos. Foi identificado como causador da febre do carrapato dos ruminantes em 1940 e como o agente da anaplasmoose granulocítica equina em 1969, canina em 1982 e em humanos (Quadro 1) na década de 90 (CHEN et al., 1994; GORDON; BROWNLEE; WILSON, 1940; GRIBBLE, 1969; MADEVALL; GRIBBLE, 1982).

O gênero *Ehrlichia* foi nomeado em 1945 por Paul Ehrlich, compreendia bactéria gram negativa, obrigatoriamente intracelular e era classificada no  $\alpha$  subgrupo das Pro bactérias (OGDEN; WOLDEHIWET; HART, 1998). A primeira classificação utilizou como critério as características de tropismo celular das espécies do gênero *Ehrlichia* (PHILIP, 1974). De acordo com esse sistema, eram divididas em formas monocíticas, destacando-se as *E. canis* e *E. risticii*, as formas trombocíticas como a *E. platys* e ainda as formas granulocíticas que incluem as *E. ewingii* e *E. equi* (Ibid.). Entre as espécies do grupo da forma granulocítica da *Ehrlichia*, essas eram denominadas (Quadro 2) de acordo com a primeira identificação do hospedeiro vertebrado ou onde eram identificadas com frequência (OGDEN; WOLDEHIWET; HART, 1998). Após a comprovação que o tropismo não era estritamente específico ao tipo celular, houve a necessidade de uma atualização (COHN, 2003; PADDOCK; CHILDS, 2003). Com o desenvolvimento das técnicas de biologia molecular, a reclassificação passou a ser determinada por meio da comparação de homologia das sequências ribossomais (DUMLER et al., 1995; EGENVALL et al., 2001; PETROVEC et al., 1997; SUMNER; NICHOLSON; MASSUNG, 1997). Esse novo padrão resultou na realocação (Quadro 3) de algumas espécies do gênero *Ehrlichia*, família *Rickettsiaceae*, para a família *Anaplasmataceae* (DUMLER et al., 2001). Portanto, os gêneros que atualmente constituem a família *Anaplasmataceae* são os gêneros *Ehrlichia*, *Anaplasma*,

*Neorickettsia*, *Wolbachia*, *Aegyptianella* e *Candidatus Neoehrlichia* (LILLINI et al., 2006; RIKIHISA, 2006). Desta forma, segundo Dumler et al. (2001), *Ehrlichia equi* que posteriormente teve sua classificação alterada para *Ehrlichia phagocytophyla* (Quadro 2), atualmente é denominada *A. phagocytophilum* (Quadro 3).

**Quadro 1.** Genogrupos do gênero *Ehrlichia* com destaque para a forma granulocítica por Ogden, Woldehiwet e Hart (1998)

GENOGRUPO	ESPÉCIE AFETADA	TRANSMISSÃO	CÉLULAS SANGUÍNEAS	DISTRIBUIÇÃO
<b>Grupo 1</b>				
<i>E. canis</i>	Caninos	<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	Monócito e Macrófago	EUA
<i>E. chaffensis</i>	Homem, cervídeos	<i>Amblyomma americanum</i> , <i>Dermacentor variabilis</i>	Monócito e Macrófago	EUA
<i>E. ewingi</i>	Caninos	<i>A. americanum</i>	Neutrófilo	EUA
<i>E. muris</i>	Roedores	desconhecido	Monócito e Macrófago	EUA
<i>Cowdria ruminantium</i>	Ruminantes	<i>Amblyomma</i> spp.	Endoteliais	Trópicos e diversos países
<b>Grupo 2</b>				
<i>E. phagocytophila</i>	Ovinos, bovinos, equinos, cães e cervídeos	<i>Ixodes ricinus</i>	Neutrófilo	EUA, Europa e Inglaterra
<i>E. equi</i>	Equinos, cães (exper. e gatos, primatas)	<i>I. pacificus</i>	Neutrófilo	EUA, Europa
<i>E. microti</i>	Roedores	<i>I. scapularis</i>	Neutrófilo	EUA
<i>E. granulocítica humana</i>	Homem, cervídeos e roedores	<i>I. scapularis</i> , <i>I. pacificus</i> , <i>I. ricinus</i>	Neutrófilo	EUA, Europa
<i>E. granulocítica da Alpaca</i>	Alpaca	<i>I. pacificus</i>	Neutrófilo	EUA
<i>E. platys</i>	Caninos	Desconhecido	Plaquetas	EUA
<i>Anaplasma marginale</i>	Bovinos	<i>Boophilus</i> spp.	Eritrócito	EUA
<i>A. ovis</i>	Ovinos	<i>Rhipicephalus</i> spp., <i>D. andersoni</i>	Eritrócito	EUA
<b>Grupo 3</b>				
<i>E. sennetsu</i>	Homem	Ingestão de peixe cru	Monócito e macrófago	EUA / Japão
<i>E. risticii</i>	Equinos, caninos, felinos	Artrópodes	Monócito e eritrócito	EUA
<i>Neorickettsia helminthoeca</i>	Caninos	Ingestão de salmão	Macrófago	EUA
<i>N. elokominica</i>	Caninos	Ingestão de salmão	Macrófago	diversos países

**Quadro 2.** Características das principais espécies do gênero *Ehrlichia* e *Anaplasma* de acordo com a nova classificação de Dumler et al. (2001)

<b>PATÓGENO</b>	<b>ESPÉCIE AFETADA</b>	<b>DOENÇA</b>	<b>CÉLULAS INFECTADAS</b>
<i>Ehrlichia canis</i>	Homem	raro	Monócito
	Cão	Erlichiose canina	
<i>E chaffensis</i>	Homem	Erlichiose monocítica humana	Monócito
	Cão	Não nomeado	
	Carneiro	Não nomeado	
<i>E ewingi</i>	Homem	Erlichiose humana	Granulócito
	Cão	Erlichiose granulocítica canina	
<i>Ehrlichia ruminantium (Cowdria ruminantium)*</i>	Ruminantes	Caudriose	Endoteliócito
<i>Anaplasma phagocytophilum</i>	Homem	Erlichiose granulocítica humana	Granulócito
	Cão	Erlichiose granulocítica canina	
	Gato	Anaplasmosse granulocítica felina	
<i>Anaplasma phagocytophilum (Ehrlichia equi)*</i>	Cavalo	Erlichiose granulocítica equina	Granulócito
<i>Anaplasma phagocytophilum (Ehrlichia phagocytophila)*</i>	Ruminantes	Erlichiose granulocítica	Granulócito
<i>Anaplasma platys (Ehrlichia platys)*</i>	Cão	Trombocitopenia cíclica canina	Plaquetas
<i>Anaplasma marginale</i>	Bovino	Anaplasmosse bovina	Eritrócito
<i>Neorickettsia risticii (Ehrlichia risticii)*</i>	Cavalo	Erlichiose monocítica	Monócito
<i>Ehrlichia phagocytophila*</i>	Ruminantes	Erlichiose granulocítica	Granulócito

\*Nomenclatura anterior

**Quadro 3.** Posição taxonômica de *Anaplasma phagocytophilum* baseado nas sequências do 16S rRNA com modificações a partir de Dumler et al. (2001)

<b>TAXONOMIA</b>	
<b>REINO</b>	<i>Procariotae</i>
<b>FILO</b>	<i>Proteogacteria</i>
<b>CLASSE</b>	<i>Alphaproteobacteria</i>
<b>ORDEM</b>	<i>Rickettsiales</i>
<b>FAMÍLIA</b>	<i>Anaplasmataceae</i>
<b>GÊNERO</b>	<i>Anaplasma</i> <i>A. centrale</i> <i>A. marginale</i> <i>A. bovis</i> * <i>A. platys</i> * <b><i>A. phagocytophilum</i>*</b>
	<i>Ehrlichia</i> <i>E. ruminantium</i> * <i>E. canis</i> <i>E. chaffeensis</i> <i>E. muris</i> <i>E. ewingii</i>
	<i>Neorickettsia</i> <i>N. helminthoeca</i> <i>N. risticii</i> * <i>N. sennetsu</i> *
	<i>Wolbachia</i> <i>W. pipientes</i>
	<i>Aegyptianella</i> <i>Ae. pullorum</i>
	<i>Candidatus Neoehrlichia</i> <i>Ca. Neoehrlichia mikurensis</i>
	<i>Rickettsia</i> <i>Rickettsia rickettsii</i>
<b>FAMÍLIA</b>	<i>Rickettsiaceae</i>
<b>GÊNERO</b>	<i>Orientia</i> <i>Orientia tsutsugamushi</i>

\* espécies incluídas na reorganização

*Anaplasma phagocytophilum* é uma bactéria gram negativa, pleomórfica, podendo apresentar formas cocoides a elipsoidais, intracelulares obrigatórias e observadas em neutrófilos e eosinófilos que se cora mais nitidamente por Giemsa, em púrpura-azulada, ou de Leishman em estiraços de sangue periférico. Essas bactérias formam colônias denominadas mórulas contidas em vacúolos intracitoplasmáticos conhecidos como fagossomos, derivados das membranas de células eucarióticas dos hospedeiros, de tamanhos variados entre 1,5 µm a 6,0 µm de diâmetro e pode-se verificar mais de uma mórula no interior dos polimorfonucleares (LILLINI et al., 2006). No hospedeiro vertebrado, as espécies do gênero *Anaplasma* multiplicam-se em células hematopoiéticas maduras e imaturas principalmente as mieloides, como neutrófilos e eosinófilos, no sangue periférico e

nos tecidos dos órgãos hematopoiéticos como baço, fígado e medula óssea (DUMLER et al., 2001). O mecanismo de divisão desta bactéria é a fusão binária, que é observada quando cultivada em linhagens de células promielocíticas de humanos (HL-60), linhagens de células de ácaros da espécie *Ixodes scapularis* (IDE8 e ISE6) e nas células endoteliais de humanos, primatas não humanos e bovinos (GOODMAN et al, 1996; WOLDEHIWET, 2010). Segundo Herron et al. (2005), este organismo se adere aos receptores dos neutrófilos através da ligação com glicoproteínas de superfície as P-selecninas (PGSL-1). A resistência da bactéria no ambiente não está estabelecida, mas a criopreservação mantém as células infectadas por mais de um ano (WOLDEHIWET, 2010). Todos os genótipos de *A. phagocytophilum* são sensíveis as oxitetraciclina e as doxiciclina e resistentes às penicilinas, cloranfenicol, estreptomicinas e ampicilinas, podendo ser administradas as quinolonas e as rifampinas em humanos quando há intolerância as tetraciclina (HOROWITZ et al., 2001; KLEIN et al., 1997).

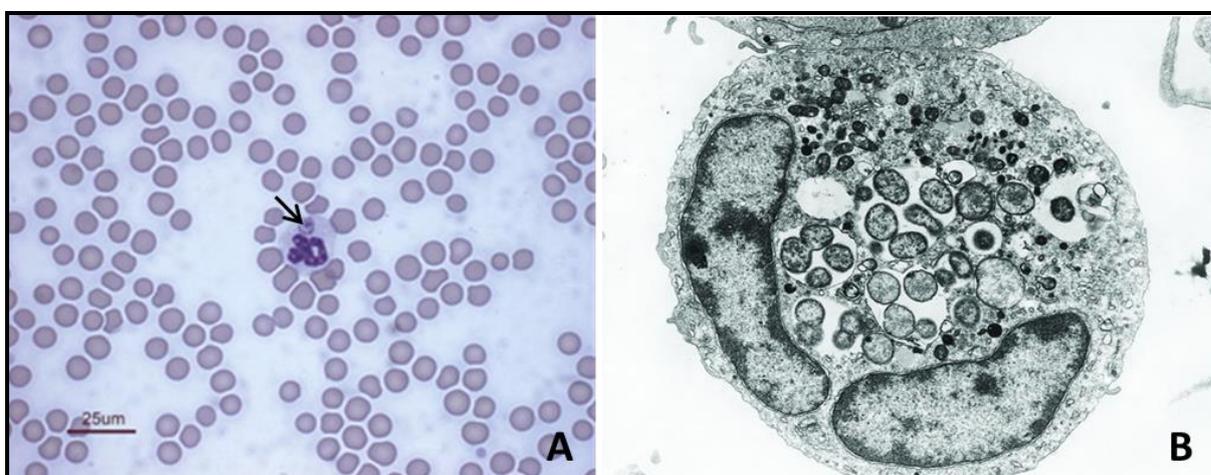


Figura 1. Fotomicroscopia de corpúsculo de inclusão em neutrófilo. Em **A**, seta indica *Anaplasma phagocytophilum* em um neutrófilo em estirado de sangue periférico de um equino (LEWIS et al., 2009) e em **B**, detalhe da bactéria em MET (DUMLER, 2005).

## 2.2 EPIDEMIOLOGIA

### 2.2.1 Distribuição

A prevalência da anaplasmoose granulocítica está relacionada à população e à espécie de carrapato, à densidade e à susceptibilidade dos animais, inclusive humanos, às espécies de reservatórios e às cepas de *A. phagocytophilum* circulantes dentro da área geográfica (FOLEY, J.; FOLEY, P.; MADIGAN; PUSTERLA, 2000). A manutenção do ciclo biológico do agente etiológico depende das espécies envolvidas e a densidade de carrapatos (McQUISTON; McCALL; NICHOLSON, 2003). As espécies de animais selvagens e a localização geográfica também podem influenciar na permanência do agente no ambiente (PREZIOSI; COHN, 2002; SUSKSAWT; HEGARTY; BREITSCHWERDT, 2000).

Teglas et al. (2005) relataram que na América Central a soroprevalência de *A. phagocytophilum* foi 52% em bovinos e 13% em equinos, além de ser identificado por reação em cadeia de polimerase (PCR) em 27,6% desses hospedeiros. As espécies de carrapatos identificadas nos animais durante este estudo foram o *Amblyomma cajennense*, *Dermacentor nitens* e *Rhipicephalus microplus*, os quais foram considerados como possíveis transmissores desta infecção por estes pesquisadores.

Na região Centro-Oeste do Brasil, precisamente em animais domésticos, foi verificado que 65% dos cavalos positivos tinham sintomas semelhantes às hemoparasitoses (SALVAGNI et al., 2010). Já na região Sudeste, observou-se soroprevalência de 3% em cavalos aparentemente saudáveis (PARRA, 2009). Ainda na mesma região, 7,11% dos cães positivos foram diagnosticados por PCR para este agente etiológico (SANTOS et al., 2011).

Na Colômbia já foram identificadas através da Reação de imunofluorescência indireta (RIFI) soroprevalência 2% de anticorpos anti- *A. phagocytophilum* em soros de 100 equinos com sintomatologia clínica e em 20% de humanos habitantes de áreas rurais (MATTAR; PARRA, 2006).

Nos EUA, a incidência, a gravidade e os hospedeiros susceptíveis à anaplasose granulocítica variam conforme a região, pois o número de registros da doença em humanos é aproximadamente 100 vezes maior nas regiões Nordeste e Centro-Oeste do que na região Oeste, onde a doença é primariamente registrada em equinos (TEGLAS; FOLEY, 2006). Na região oeste dos EUA, a determinação da susceptibilidade de bovinos para *A. phagocytophilum* foi experimentalmente testada e verificada a sua baixa susceptibilidade a este agente, além de não serem observadas alterações clínicas e hematológicas nesta espécie quando comparados aos equinos também testados (PUSTERLA et al., 2001). A soroprevalência da anaplasose granulocítica equina é de 29% nos estados de Nova York e Connecticut e de 17,6% em Minnesota e Wisconsin, em áreas endêmicas em carrapatos (FOLEY et al., 2004).

Na Europa, sinais clínicos de anaplasose granulocítica já foram descritos em ovinos, caprinos, bovinos, cavalos, cães, gatos, renas, cervos e no homem (STUEN, 2007). Neste continente, este agente tem sido detectado por PCR em carrapatos e diversos mamíferos domésticos e silvestres, e têm sido sugeridos como importantes reservatórios roedores silvestres e como reservatórios naturais os ovinos e os cervídeos (OGDEN et al., 2002; STUEN, 2007). Na Holanda, a soroprevalência em equinos foi de 83,3%, 17,03 % na Itália, 16,7% na Suécia, 11,3% na França e 6,5% na Espanha (ALBERTI et al., 2005; BUTLER et al., 2008; FRANZÉN, 2008). Na Dinamarca, a soroprevalência em equinos variou de 16,7% em áreas urbanas a 33,3% nas áreas rurais e dentre os fatores de risco avaliados neste estudo destacaram-se a idade acima de 11 anos, criações em ambiente rural e a época do ano, sendo os meses de verão e outono os de maior densidade populacional de carrapatos adultos (HANSEN et al., 2010). Na Itália, Ebaní et al. (2008) verificaram, mesmo em propriedades com condições higiênicas sanitárias e manejo satisfatórios a prevalência de anticorpos anti- *A. phagocytophilum* em 16,89% dos 793 equinos e de 46% entre os 119 cervídeos pesquisados. Na Alemanha, a AG foi descrita em cães e nos equinos, e detectado o agente etiológico em carrapatos e roedores (SCHARF et al., 2011; VON LOEWENICH et al., 2003). Estes mesmos autores descreveram sinais clínicos leves para moderados da doença em cervídeos e nos ovinos, com prevalência de 94% e 4%, respectivamente. A taxa de infecção de *A. phagocytophilum* em carrapatos na Alemanha variou de 1% a 3,8% e a soroprevalência em humanos de até 14%, porém há falhas no

diagnóstico clínico da doença devido a características das cepas; neste caso, pode ser pela baixa patogenicidade para humanos (FINGERLE et al., 1997; HARTELT et al., 2004). Na Federação Russa foi diagnosticada Anaplasmosse Granulocítica Humana (AGH), associada a achados clínicos e laboratoriais, porém com diferenças das cepas norte-americanas e das europeias (SIDELNIKOV et al., 2002).

Dentre as espécies de carrapatos identificados na Europa como responsáveis pela transmissão da bactéria para o homem e para animais, destacam-se *Ixodes ricinus* na região oeste e *Ixodes persulcatus* na região leste e na Ásia (DE LA FUENTE et al., 2005; TEGLAS; FOLEY, 2006).

Anaplasmosse granulocítica de cães, equinos, gatos e no homem ocorre na América do Norte e na Europa (WOLDEHIWET, 2010); entretanto, existem diferenças entre ambos os continentes na epidemiologia da anaplasmosse granulocítica humana e de ruminantes, pois em 2008, mil e nove casos de AGH foram relatados para os centros norte americanos de controle e prevenção de doenças, porém, na Europa, existem poucos registros desta zoonose (HOLDEN et al., 2003; OGDEN et al., 2002; SCHARF et al., 2011; TEGLAS; FOLEY, 2006). Em contraste, a “febre do carrapato” transmitida aos bovinos e aos ovinos induzida por *A. phagocytophilum*, comum na Europa, não foi relatada até o momento nos EUA (STUEN, 2007). Isto pode ser explicado pela variabilidade da patogenicidade das cepas de *A. phagocytophilum*, área geográfica, reservatórios e espécies de carrapatos envolvidas na transmissão (PUSTERLA et al., 2001; SCHARF et al., 2011; STUEN, 2007; TEGLAS; FOLEY, 2006).

Na Ásia, a enfermidade não tem sido observada em animais domésticos apenas em humanos (TEGLAS; FOLEY, 2006). Na Coreia do Sul foram encontrados, através da RIFI e *Western blot*, anticorpos anti- *A. phagocytophilum* em humanos, gatos, equinos e bovinos e por PCR em roedores selvagens, cervídeos e carrapatos, assim como na China até 4,6% dos carrapatos encontravam-se infectados e 8,8% dos roedores (CAO et al., 2003; 2006; KANG et al., 2011; KIM, et al., 2003). No Japão, foram identificados por PCR a coinfeção de espécies de *Anaplasma* nos bovinos e em carrapatos (JILINTAI et al., 2009; OOSHIRO et al., 2008; YOSHIMOTO et al., 2010). Na China, foram identificadas diversas espécies de carrapatos que podem estar envolvidos na transmissão e manutenção de *A. phagocytophilum*, identificado por PCR em roedores e ovinos, como *Dermacentor*

*silvarum*, *Ixodes persulcatus*, *Haemaphysalis longicornis* e *H. concinna*, os quais tem ampla distribuição neste país (JIANG et al., 2011; ZHAN et al., 2010).

Embora ainda pouco estudado na África, *A. phagocytophilum* já foi detectado em carrapatos e nos cães (INOKUMA; RAOULT; BROUQUI, 2000; M'GHIRBI et al., 2009; SARIH et al., 2005).

### 2.2.2 Transmissão

A detecção de *A. phagocytophilum* nas espécies de *Ixodes* foi relatada pela primeira vez por Pancholi et al. (1995). Estes artrópodes podem ser disseminados pelos hospedeiros, através do trânsito de animais no próprio território ou ainda pela entrada de animais de fora do país, além das aves migratórias (STUEN, 2007). As mudanças climáticas podem influenciar na longevidade e na dinâmica populacional dos carrapatos facilitando o aumento da resistência destes no ambiente (VOROU; PAVASSILIOU; TSIODRAS, 2007).

Os principais vetores de *A. phagocytophilum* são carrapatos do gênero *Ixodes*, os quais incluem *I. persulcatus*, *I. ricinus*, *I. pacificus* e *I. scapularis* (CAO et al., 2006; HOLDEN et al., 2003; MACLEOD, 1962; YOSHIMOTO et al., 2010).

Alguns pesquisadores identificaram diferenças na capacidade vetorial das diversas espécies do gênero *Ixodes*, identificadas como possíveis transmissores de *A. phagocytophilum*, o que pode explicar as variações ecológicas e o aparecimento da AG em diferentes regiões demográficas. Isto corrobora a incidência e a gravidade da doença, além dos hospedeiros vertebrados acometidos (HOLDEN et al., 2003; MACLEOD, 1962; TEGLAS; FOLEY, 2006). Estes pesquisadores reforçam esta hipótese pelo fato de que na Europa a doença é registrada nos ruminantes; na Califórnia, nos equídeos; na Ásia, os casos registrados são em humanos e não nos animais domésticos; já no leste dos EUA, nos cães e no homem.

Em diversas espécies de carrapatos foram detectadas fragmentos do DNA de *A. phagocytophilum*, incluindo as espécies *I. persulcatus*, *I. ricinus*, *I. pacificus*, *I. scapularis*, *I. ovatus*, além dos carrapatos dos gêneros *Dermacentor*, *Rhipicephalus* e *Haemaphysalis*, considerados também importantes vetores deste agente para os

animais domésticos (BALDRIDGE et al., 2009; BARANDIKA et al., 2008; CAO et al., 2006; HOLDEN et al., 2003; MACLEOD, 1962).

O principal vetor nos EUA e na Europa são os carrapatos do gênero *Ixodes*, destacando-se o *I. scapularis* no leste dos EUA, *I. pacificus* na Califórnia e *I. ricinus* no continente europeu. Este último também é implicado como vetor no continente africano (FOLEY et al., 2004; SARIH et al., 2005; STRLE, 2004). No entanto, a transmissão de *A. phagocytophilum* também tem sido associada a outras espécies de carrapatos. Nos EUA, foi associada ao *Dermacentor albipictus* (BALDRIDGE et al., 2009), *D. variabilis* e *D. occidentalis* (HOLDEN et al., 2003); na Europa, *Haemaphysalis punctata*, *H. concinna*; *Rhipicephalus bursa* na Espanha (BARANDIKA et al., 2008); no Reino Unido, *Ixodes trianguliceps* (BOWN et al., 2003); e na Itália, *Rhipicephalus turanicus* (SATTA et al., 2011).

Na América Central algumas espécies de carrapatos foram relatadas como prováveis vetores de *A. phagocytophilum* como *Amblyomma cajennense*, *Dermacentor nittens* e *Rhipicephalus microti* (TEGLAS et al., 2005).

*Anaplasma phagocytophilum* foi identificado na China, nas espécies de carrapatos *Ixodes persulcatus* e *Dermacentor silvarium*, coletados da vegetação e diagnosticados através de PCR com taxas de positividade de 4,0% e 0,7%, respectivamente (CAO et al., 2006). Nesta mesma pesquisa, observou-se que houve 8,8% de animais reagentes em 102 roedores avaliados. Na fronteira entre China e a Federação Russa, foram identificados, através de PCR, presença desta bactéria nos carrapatos do gênero *Haemaphysalis* como *H. concinna* e *H. longicornis*, além dos já identificados na China (JIANG et al., 2011).

No Japão, foi detectado fragmento do DNA de *A. phagocytophilum* em *I. persulcatus* e *I. ovatus* e caracterizado como possível vetor o *Haemaphysalis megaspinosa* (OHASHI et al., 2005; YOSHIMOTO et al., 2010).

Na Sérvia, foi relatada a identificação de *A. phagocytophilum* nas espécies de carrapatos *I. ricinus*, *Dermacentor reticulatus* e *H. concinna* (MILUTINOVIC et al., 2008; TOMANOVIC et al., 2012).

A prevalência da infecção de *A. phagocytophilum* é maior em carrapatos adultos quando comparados às ninfas (LILLINI et al., 2006), sendo a doença variável geograficamente e de acordo com as fases de desenvolvimento do carrapato. Por esse motivo, é uma doença considerada sazonal (DONG et al., 2008). Na Califórnia, o vetor responsável pela transmissão de *Anaplasma* é *Ixodes pacificus*, com três

cepas do agente identificadas e com mais casos da doença registrada em humanos durante os meses de verão onde as ninfas deste artrópode parecem ser responsáveis. Entretanto, no inverno e início da primavera, os casos em equinos e cães são predominantes, correspondendo ao pico de atividade do *I. pacificus* adulto (FOLEY et al., 2004; REUBEL et al., 1998). Porém, Holden et al. (2003) relatam dúvidas a respeito desta influência sazonal na Califórnia, relacionada ao estágio de vida do carrapato, já que foi observada alta incidência de eritemas reacionais à picada de carrapatos em humanos mesmo nos períodos de inverno e primavera.

Para perpetuação, *A. phagocytophilum* mantém-se através do processo de muda dos carrapatos, principalmente através da transmissão transtádial. Durante a fase larval, o carrapato adquire o agente e se torna infeccioso nas fases de ninfa e adulto (OGDEN; WOLDEHIWET; HART, 1998). Segundo MacLeod (1936), a transmissão transovariana de *A. phagocytophilum* por algumas espécies de carrapatos infectados não ocorre ou sua eficiência nesse processo é baixa. Estas observações também são citadas por Ogden, Woldehiwet e Hart (1998). A transmissão transovariana de *A. phagocytophilum* por espécies de carrapatos já foram descritas em *D. albipicus* (BALDRIDGE et al., 2009) e *H. megaspinosa* (YOSHIMOTO et al., 2010) nos EUA e Japão, respectivamente.

Baseado em estudo experimental dos EUA sobre a transmissão de *A. phagocytophilum*, sugere-se que a susceptibilidade do hospedeiro e a transmissibilidade da bactéria possuem um papel mais importante que o próprio vetor (TEGLAS; FOLEY, 2006).

### 2.2.3 Reservatório

Os reservatórios de *A. phagocytophilum* variam conforme a área geográfica e funcionam como mantenedores do patógeno na natureza. Nos EUA, já são bem estabelecidos os principais reservatórios, entre eles o rato de patas brancas, *Peromyscus leucopus* e os cervídeos como *Odocoileus virginianus*, que podem também abrigar cepas não patogênicas para os seres humanos (BALDRIDGE et al., 2009; BELONGIA et al., 1997; MASSUNG et al., 2005; MICHALSKI et al., 2006).

*Anaplasma phagocytophilum* foi também identificado em diversos roedores, como esquilos, ratazanas e camundongos no mesmo país (REJMANEK; BRADBURD; FOLEY, 2012). Fato importante que pode contribuir para a disseminação e a manutenção de *A. phagocytophilum* no EUA é que os cervídeos são persistentemente bacteriêmicos, ao contrário dos roedores onde a infecção é transitória (FOLEY et al., 2004). Em coiotes, leões, ursos, cães selvagens, quatis, gatos do mato e gambás a infecção por *A. phagocytophilum* também já foi descrita (FOLEY et al., 1999; 2004).

Na Europa, *A. phagocytophilum* também foi detectado em cervídeos e roedores, porém o papel desses animais no ciclo de transmissão não está bem esclarecido (SCHARF et al., 2011). Segundo Vorou, Pavassiliou e Tsiodras (2007), os roedores são considerados os principais reservatórios do *A. phagocytophilum* neste continente e contribuem efetivamente para manutenção do parasito no meio ambiente. *Anaplasma phagocytophilum* foi identificado por PCR em grande parte dos países europeus em diversos mamíferos (SMRDEL, 2010; STUEN, 2007), como, gatos (BJOERSDORFF et al., 1999), cães (BELLSTRO, 1989; MADEVALL; GRIBBLE, 1982), equinos (BJOERSDORFF et al., 1990), bisões (STUEN, 2007), javalis (PETROVEC et al., 2002), raposas vermelhas (PETROVEC et al., 2003), jumento (DE LA FUENTE et al., 2005), pequenos roedores (CHRISTOVA; GLADNISHKA, 2005; LIZ et al., 2000), alces (JENKINS et al., 2001) e veados (PETROVEC et al., 2002). Anticorpos anti- *A. phagocytophilum* também foram detectados em lebres (GROEN et al., 2002) e lincos (STUEN, 2007). Nos animais domésticos, já foi diagnosticado em caprinos, ovinos, bovinos, além de javalis criados em cativeiro (OTHEO; BROUQUI, 2005).

A prevalência de cervídeos positivos para *A. phagocytophilum* em testes sorológicos e PCR foi de 95,7 na Republica Tcheca, 94 na Alemanha e na Polônia, 60,9 na Suíça, 29 na Espanha, 28,6 na Dinamarca e 18,4% positivos na Áustria (STUEN, 2007).

No Brasil, alguns prováveis reservatórios já foram identificados, dentre eles o cervídeo *Blastocerus dichomotus* com 16,78% de soropositividade para o antígeno de *A. phagocytophilum* (SACCHI, 2009). Foi detectada, por métodos moleculares no sangue periférico de aves carnívoras migratórias capturadas em território brasileiro, a presença de *A. phagocytophilum* entre outras Ehrlichias, o que indica a

importância do carreamento deste agente para o continente sul americano, mais especificamente para o Brasil (MACHADO et al., 2012).

As aves migratórias têm sido implicadas como potenciais reservatórios silvestres e veiculadores do artrópode transmissor (STUEN, 2007). Pesquisas já identificaram em aves migratórias as mesmas cepas de *A. phagocytophilum* circulantes em humanos e animais domésticos na Suécia. Entretanto, o DNA deste agente etiológico não foi detectado nas fases larval e adulta dos carrapatos e em apenas 8% das ninfas presentes nas aves, o que demonstra serem reservatórios de menor relevância epidemiológica (BJOERSDORFF et al., 2001).

Masuzawa et al. (2011) detectam *A. phagocytophilum* em javali e cervídeos em diversas regiões do Japão, porém o reservatório neste país ainda não é bem caracterizado. Outras pesquisas também identificam esses animais como prováveis reservatórios das diversas espécies de *Anaplasma* nesse país (JILINTAI et al., 2009; KAWAHARA et al., 2006).

Embora o equino seja considerado o hospedeiro final, a característica auto limitante da enfermidade, na grande maioria dos casos, faz com este animal funcione também como um reservatório de *A. phagocytophilum* (EBANI et al., 2008).

## 2.3 HISTÓRICO DA ANAPLASMOSE GRANULOCÍTICA

### 2.3.1 Humanos

Erlichiose é o nome genérico para a infecção de bactérias da família *Anaplasmataceae*, dividida nos gêneros *Ehrlichia* e *Anaplasma*. A infecção por um agente patogênico desta família foi diagnosticado pela primeira vez em humanos em 1953 e identificado como *Ehrlichia sennetsu* (DUMLER et al., 2007). Porém as espécies de maior interesse em saúde pública são as *E. chaffeensis*, *E. ewingii* e *A. phagocytophilum*. *Ehrlichia chaffeensis* infecta monócitos e causa a Erlichiose Monocítica Humana (EMH); *Ehrlichia ewingii* causa a Erlichiose Ewingii Humana e parasitam os neutrófilos; e *A. phagocytophilum* infecta granulócitos e causa a AGH

(OTHEO; BROUQUI 2005). Esta última atualmente é considerada como uma zoonose emergente (BLANCO; OTEO, 2002; McBRIDE; WALKER, 2007; PETROVEC et al., 1997).

Em diversos países da Europa, EUA e Canadá, há registros de aumento dos casos da AGH em regiões endêmicas da infecção por *Borrelia burgdorferi* e ambas são transmitidas pelo mesmo vetor, carrapatos do gênero *Ixodes* (AGUERO-ROSENFELD et al., 2002; BARANDIKA et al., 2008; BLANCO; OTEO, 2002; LEVIN; FISH, 2001; STANCZAK, 2006; VOROU; PAVASSILIOU; TSIODRAS, 2007).

A AGH foi descrita pela primeira vez em 1994, nos EUA, e depois em 1997, na Europa, mais especificamente na Eslovênia e na Holanda (CHEN et al., 1994). Na Alemanha, a soroprevalência pode variar de 2,6 a 14% em grupos de risco e nos carrapatos da espécie *I. ricinus*. *A. phagocytophilum* ocorre de 1,6 a 4,1%, porém nenhum caso de AGH foi relatado neste país, apesar de ser encontrado sequenciamento genético idêntico entre as cepas que causam AGH em outros países da Europa e nos carrapatos estudados e de Von Loewenich et al. (2003) terem relatado casos de Anaplasose Granulocítica Equina (AGE) na Alemanha.

O número de casos diagnosticados da AGH elevou-se caracterizando-a como a segunda infecção transmitida por carrapatos nos EUA (BAKKEN et al., 1994). Até 2005 foram diagnosticados 2963 de AGH neste país e estima-se que esta doença esteja sendo subnotificada, já que as taxas de notificação são de até 58 casos por 100.000 habitante nas regiões nordeste e centro-oeste (DUMLER et al., 2007). Em outras regiões dos EUA, as maiores incidências por 100.000 habitantes de AGH tem sido registrada nos estados de Connecticut 14 a 16, Wisconsin 24 a 58 e Nova York 2,7. Neste país, através de uma vigilância ativa, registra-se taxa de incidência em áreas endêmicas de mais de 50 casos por 100.000 habitantes (ISMAIL; BOLCK; McBRIDE, 2010).

Com o aumento dos casos de AGH nos EUA, principalmente nas regiões do centro-oeste e nordeste, alguns estudos experimentais demonstraram que o agente da AGH pode induzir a doença clínica em equinos, além de proteger a subseqüentes infecções, o que é importante quando consideramos a possibilidade dos equinos atuarem como reservatório e fonte infecção para AGH (BARLOUGH et al., 1995).

Na América do Sul, o primeiro caso de AGH foi descrito na Venezuela, em 1996 como erliquiose humana (ARRAGA-ALVARADO et al., 1996). No Brasil, Calic e

colaboradores descreveram, em 2003, os primeiros casos de erlichiose humana através de achados clínicos e sorológicos (CALIC et al., 2004).

Na China, a AGH foi notificada pela primeira vez em 2008 em um inquérito sorológico com 20% de soropositividade entre 323 trabalhadores sadios com atividades rurais, florestais e de caça, considerados grupos de risco para a doença devido à alta infestação por carrapatos nas áreas central e nordeste do país, onde foi feita a pesquisa (KRAUSE; WORMSER, 2008; ZHANG et al., 2009).

Em outras regiões como a Austrália, 16% dos pacientes com sintomas de erlichiose foram soropositivos para AGH (MAYNE, 2011) e para todo o mundo a forma mais comum de transmissão de *A. phagocytophilum* para o homem é pela picada do carrapato. Porém já foram descritas as transmissões perinatal, pelo contato com sangue infectado de mamíferos e por transfusão sanguínea (BAKKEN et al., 1996; BAKKEN; DUMLER, 2000; DHAND et al., 2007; HOROWITZ et al., 1998; JEREB et al., 2012; QASBA et al., 2011).

### 2.3.2 Equídeos

*Anaplasma phagocytophilum* foi descrito como erlichiose granulocítica equina pela primeira vez na Califórnia em 1969 (GRIBBLE, 1969; STANNARD; GRIBBLE; SMITH, 1969). Desde então tem sido relatado em diversos países, como Alemanha (BÜSCHER et al., 1984; VON LOEWENICH et al., 2003); Brasil, nos estados de Minas Gerais, São Paulo e Goiânia (MESQUITA NETO et al., 1984; PARRA, 2009; SALVAGNI et al., 2010); Inglaterra (KORBUTIAK; SCHNEIDERS, 1994; MCNAMEE; CULE; DONNELLY, 1989); Suécia (JOHANSSON et al., 1995); Canadá (BERRINGTON; MOATS; LESTER, 1996); Suíça (PUSTERLA et al., 1998); França (BERMANN et al., 2002); Guatemala (TEGLAS et al., 2005); Itália (ALBERTI et al., 2005); Espanha (AMUSATEGUI; SAINZ; TESOURO, 2006); Israel (LEVI et al., 2006); República Checa (ZEMAN; JAHN, 2009); Polônia (ADASZEK; WINIARCZYK; LUKASZEWSKA, 2009) e Nova Escócia (UEHLINGER; CLANCEY; LOFSTEDT, 2011).

Os equinos foram caracterizados como hospedeiros finais, entretanto a manutenção deste agente foi identificada em animais silvestres (BARLOUGH et al., 1995; FOLEY et al., 2004).

Nos EUA, desde a caracterização da AGE, os índices de prevalência em diversas regiões é elevado, principalmente na Califórnia, sempre com um caráter sazonal e elevados registros de casos no inverno e início da primavera (HOLDEN et al., 2003). A imunidade a *A. phagocytophilum* nos equinos persiste por pelo menos dois anos e não está associada à infecção latente ou curso crônico da doença (BARLOUGH et al., 1995).

Estudos a partir da inoculação de *A. phagocytophilum*, proveniente de humanos infectados, em equinos que desenvolveram a doença e posteriormente a imunidade cruzada, sugerem que os agentes patogênicos das distintas espécies apresentam a mesma antigenicidade e a capacidade de infectar ambas as espécies (BARLOUGH et al., 1995). Já na Europa, a variante patogênica de *A. phagocytophilum* é frequentemente diagnosticada em ruminantes e a inoculação deste agente, oriundo de bovinos ou carneiros, em equinos não foi capaz de causar a doença, mas foi responsável pela imunidade cruzada (FRANZÉN et al., 2005).

A partir de estudos filogenéticos foi possível identificar diferentes cepas de *A. phagocytophilum* isoladas em equinos originados do EUA e diversos países da Europa e correlacioná-las a sua patogenicidade, partindo da premissa de que as cepas de *A. phagocytophilum* americanas estão associadas a taxas de mortalidade em humanos e a doenças nos equinos. Já na Europa, poucos casos são registrados dessas espécies, inclusive com menor severidade (AGUERO-ROSENFELD et al., 1996; ALBERTI et al., 2005; BLANCO; OTEO, 2002).

## **2.4 OUTRAS ESPÉCIES DA FAMÍLIA Anaplasmataceae DE IMPORTÂNCIA EM EQUÍDEOS**

*Neorickettsia risticii*, anteriormente denominada *Ehrlichia risticii* é o agente etiológico da Erliquiose Monocítica Equína (EME), também conhecida como Febre do Rio Potomac, Erliquiose Colítica Equina e Síndrome da Diarreia Aguda Equina (HOLLAND et al., 1985b; PALMER, 1993; RISTIC et al., 1986). Foi primeiramente

identificada em 1979 nas cidades de Maryland e Virginia nos EUA (HOLLAND et al., 1985a). Tem como vetor suspeito o trematódeo *Nanophytes salmincola* que infectam lesmas do gênero *Juga* (Pleuroceridae) (BARLOUGH et al., 1998; PUSTERLA et al., 2000a; REUBEL; BARLOUGH; MADIGAN, 1998). Além dos EUA, a EME foi descrita no Canadá, França, Austrália, Índia, Venezuela, Uruguai e Brasil (DUTRA et al., 2001).

No Brasil, a EME foi diagnosticada apenas no Estado do Rio Grande do Sul, endêmica em propriedades situadas a margem do rio Mirim e é reconhecida como importante responsável por mortalidades em equinos e asininos (COIMBRA 2003; DUTRA et al., 2001). No Estado do Rio Grande do Sul, cepas de *N. risticii* foram identificadas em caramujos dos gêneros *Pomacea* e *Heleobia* que albergam cercárias de trematódeos como portadoras de *N. risticii* (COIMBRA et al., 2005). Nesta região, a enfermidade é vulgarmente conhecida como “churrido equino” e apresenta letalidade que varia de 10 a 46% (COIMBRA et al., 2005; DUTRA et al., 2001). Esta enfermidade apresenta ocorrência sazonal, com maior prevalência dos casos no verão e restrita aos vales alagados na beira dos rios (RIKIHISA, 1991).

*Neorickettsia risticii* infecta, principalmente, monócitos de equinos com um quadro clínico severo caracterizado por febre, depressão, anorexia, leucopenia, enterocolite aguda, laminite e letalidade de até 30% (KNOWLES et al., 1983). As áreas do intestino mais acometidas são o ceco e o colón maior (OLIVER; STÄMPFLI, 2006). No âmbito reprodutivo a enfermidade pode causar reabsorção embrionária, abortamento ao sétimo mês e neonatos fracos (SELLON; LONG, 2007).

O método de diagnóstico mais comum é o sorológico pela RIFI, seguido de Ensaio Imunoenzimático (ELISA). A PCR e o isolamento por hemocultura têm sido desenvolvidos para identificação do agente etiológico (OLIVER; STÄMPFLI, 2006; PUSTERLA et al., 2000b). Além do tratamento de suporte para diarreias agudas, utiliza-se como tratamento específico para EME a administração intravenosa de 7mg por kg/pv de oxitetraciclina uma vez ao dia, durante cinco dias ou a sua associação com eritromicina e rifampina com respostas mais efetivas (OLIVER; STÄMPFLI, 2006).

Vacinas inativadas com as cepas de *N. risticii* encontradas no campo são comercializadas em áreas endêmicas e possuem a capacidade de prevenir a ocorrência dos sinais clínicos com exceção dos abortamentos, podendo conferir

proteção por até dois anos. Entretanto, as possíveis falhas vacinais têm sido atribuídas à heterogeneidade de cepas encontradas, o que reforça a necessidade de medidas de manejo associadas, como a restrição do acesso à água de rios, principalmente durante o período de risco (SELLON; LONG, 2007). *Ehrlichia sennetsu*, outra espécie da família Anaplasmataceae, é apatogênica para os equídeos, porém confere proteção a infecções de *N. risticii* (RIKIHISA, 1991).

## 2.5 PATOGENIA

No ciclo de vida de *A. phagocytophilum* este passa por hospedeiros invertebrados, os carrapatos, e hospedeiros vertebrados, mamíferos e aves, nos quais as células alvos são de origem hematopoiética (RIKIHISA, 2010a; RIKIHISA; LIN, 2010). Neutrófilos correspondem de 50 a 70% dos leucócitos e são o principal alvo de *A. phagocytophilum* (RIKIHISA, 1991). Neutrófilos são capazes de englobar micro-organismos e formar o fagossoma, posteriormente ocorre fusão com o lisossoma e liberação de enzimas hidrolíticas e de espécies reativas de oxigênio que levam a destruição dos micro-organismos. *Anaplasma phagocytophilum*, através de mecanismos químicos, inibe a enzima GTPase, que é responsável pela liberação de energia da GTP e, conseqüentemente, pela ligação do lisossoma ao fagossomo, que é dependente de energia para essa ligação ocorrer. A ação da NADPH oxidase, responsável pela produção dos ânions de superóxido ( $O_2^-$ ), espécies reativas de oxigênio que degradam os micro-organismos, é inibida por estratégias multifocais (CARLYON; FIKRIG, 2006).

A bactéria para compensar a sua lenta taxa de multiplicação, duplica o tempo de permanência dos neutrófilos infectados na circulação periférica, retardando a apoptose de modo a favorecer sua sobrevivência e patogenicidade (YOSHIE et al., 2000).

As espécies do gênero *Anaplasma* sobrevivem e replicam dentro das células do intestino e da glândula salivar dos carrapatos (RIKIHISA, 2010b). Os animais silvestres como os cervídeos e os ratos silvestres são considerados reservatórios primários para este agente e o cão pode servir como reservatório secundário para o homem (RIKIHISA; LIN, 2010). Existem fortes indícios de que, quando os

hospedeiros susceptíveis são picados por carrapatos infectados, *A. phagocytophilum* permanece em níveis sanguíneos indetectáveis ou replicam em outros tecidos, como pulmões e baço, nas primeiras 96 horas antes da fase de bacteremia a qual se manifesta de quatro a sete dias pós-infecção (WOLDEHIWET, 2010). Alguns pesquisadores sugerem que esta bactéria infecta as células precursoras mielóides da medula óssea (DUMLER et al., 1995; KLEIN et al., 1997). Por outro lado, Woldehiwet (2010) verificou que ao infectar as células endoteliais, *A. phagocytophilum* controlou a resposta inflamatória no que abrange a permeabilidade vascular e a ação de leucócitos e citocinas pró-inflamatórias (WOLDEHIWET, 2010). Observou-se na histopatologia do fígado e do pulmão lesões extensas decorrentes de processos inflamatórios oriundos do sequestro de polimorfonucleares infectados já que as análises imunohistoquímicas comprovaram o baixo número de microorganismos nestes tecidos (LEPIDI et al., 2000). *Anaplasma phagocytophilum* utiliza células endoteliais para impedir que o sistema imune humoral seja acionado, o que facilita a passagem do agente de célula para célula polimorfonuclear e assim completa o seu ciclo de vida, disponível no sangue, ao servir de alimento para o hospedeiro intermediário (HERRON et al., 2005).

Na bacteremia, as células alvo dos equinos são os eosinófilos, neutrófilos e monócitos, que se tornam infectados no fim desta fase e, durante o pico da infecção, pode-se encontrar até 30% destas células com a presença de mórula (STANNARD; GRIBBLE; SMITH, 1969). Associa-se, então, a observação dos sinais clínicos, principalmente, hipertermia, aproximadamente aos sete dias pós-infecção e que pode permanecer por longo período ou apresentar-se de forma recorrente, acompanhada de alterações hematológicas como leucopenia e trombocitopenia, mais pronunciadas nos equinos, que manifestam clinicamente hemorragias, petéquias, equimoses e edemas nos membros, além de depleção linfóide esplênica (LEPIDI et al., 2000).

Diversos hospedeiros vertebrados como equinos, cães, ovinos, caprinos, bovinos e o homem, podem desenvolver a anaplasiose granulocítica de forma leve ou grave (DE LA FUENTE et al., 2005). Verificou-se que a bactéria pode causar lesões inflamatórias no interstício pulmonar e nos órgãos do sistema fagocítico mononuclear, patologicamente constatadas por depleção linfóide, eritrofagocitose no baço, inflamação dos vasos sinusóides e perivenular, apoptose no fígado, histiocitose e hiperplasia dos nódulos linfóides (LEPIDI et al., 2000). Entretanto a

sobrevivência intracelular e a multiplicação de *A. phagocytophilum* não tem correlação com a gravidade dos sinais clínicos (DUMLER, 2012).

## **2.6 ACHADOS CLÍNICO PATOLÓGICOS DA ANAPLASMOSE GRANULOCÍTICA**

### **2.6.1 Humanos**

O período de incubação da AGH é de 5 a 21 dias (média 11 dias) (OTHEO; BROUQUI, 2005). As erlichioses humanas apresentam manifestações clínicas semelhantes e inespecíficas incluindo febre súbita acima de 39° C, mialgia, dor de cabeça, eritema, indisposição, com menor frequência diarreia, vômitos, tosse, e artralgia (WALKER; DUMLER, 1996). Quanto aos achados laboratoriais, pode-se destacar a trombocitopenia, leucopenia e elevações das enzimas hepáticas. A faixa etária mais comum está em torno de 50 anos e os homens são mais acometidos que as mulheres (DUMLER et al., 2007). Na inspeção física, observam-se ocasionalmente adenopatias e conjuntivites; no entanto, as hepatomegalias e esplenomegalias não estão presentes. Pode ser confundido com diversas viroses, como influenza (DUMLER, 2005). As complicações clínicas podem estar presentes na forma de pneumonia, gastroenterites, síndrome do abdome agudo, meningites, rabdomiólise, miocardite, falência renal e imunossupressão (DUMLER et al., 2007). Entretanto, na maioria dos casos, a sintomatologia da enfermidade é inaparente e a evolução dura poucos dias devido à cura espontânea e, em alguns casos, há necessidade de antibioticoterapia e internação (BAKKEN; DUMLER, 2000). A virulência das cepas europeias é menor quando comparada as cepas americanas, alguns casos de pneumonia atípica e raros são os casos de óbito, menos de 1% e, quando ocorrem, são mais comuns em idosos e pacientes imunocomprometidos em contraste com a AGH na América do Norte, onde até 5% dos pacientes vão a óbito (OLANO; WALKER, 2002).

A AGH foi considerada causadora de óbitos na China, com base nos critérios clínico-epidemiológico, laboratorial e terapêutico. Nos casos mais graves foram observadas complicações como a Síndrome da Resposta Inflamatória Sistêmica, a Síndrome da Disfunção Orgânica Múltipla e mortalidade (LI et al., 2011).

Segundo Scharf et al. (2011), Zeman e Jahn (2009) as diversidades biológicas, clínicas e de patogenicidade entre hospedeiros podem ser atribuídas à existência de linhagens ou genótipos diversos de *A. phagocytophilum*. Através de análises filogenéticas foram determinadas diferenças nas cepas de *A. phagocytophilum* americanas, associadas com maiores taxas de mortalidade em humanos, e nas europeias, que são menos graves (BLANCO; OTEO, 2002; SCHARF et al., 2011).

Alguns pesquisadores através de estudos experimentais em equinos inoculam as linhagens de *A. phagocytophilum* detectadas em humanos, o que resultou em alterações clínicas e laboratoriais indistinguíveis da AGE (BARLOUGH et al., 1995; MADIGAN; PUSTERLA, 2000; PUSTERLA et al., 2000c; PUSTERLA et al., 2001).

### 2.6.2 Equinos

A AGE apresenta período de incubação de até 14 dias (FRANZÉN et al., 2009; MADIGAN, 1993). A enfermidade cursa de forma aguda com sinais clínicos inespecíficos que se confundem com outras enfermidades ou muitas vezes não são valorizados devido aos discretos sinais clínicos apresentados. Pode ser caracterizada por letargia, febre, icterícia, relutância ao andar, ataxia, linfadenopatia, anorexia, edema pulmonar, edema nos membros e petéquias nas mucosas (FRANZÉN et al., 2005; MADIGAN, 1993; MADIGAN; PUSTERLA, 2000; REUBEL et al., 1998). A especificidade do hospedeiro e a susceptibilidade são importantes, pois influenciam na intensidade e evolução da AGE (SILAGHI; LIEBISCH; PFISTER, 2011).

Alguns estudos mostraram que apenas 5 a 10% dos equinos evoluem clinicamente para AGE (HANSEN et al., 2010) e estima-se que 50% dos equinos em áreas endêmicas são soropositivos para *A. phagocytophilum* e se recuperam

espontaneamente (FRAZÉN et al., 2009). Nos estados de Minnesota e Wisconsin, foi realizado levantamento sorológico para *A. phagocytophilum* em 375 equinos com 10% de soroprevalência, entretanto apenas 10% dos soropositivos apresentavam sinais clínicos compatíveis com a infecção (BULLOCK et al., 2000).

Observou-se que a manifestação clínica da doença é mais intensa em equinos com mais de quatro anos e potros com menos de um ano e estes apresentam apenas um quadro febril passageiro (MADIGAN; GRIBLE, 1987; MADIGAN; PUSTERLA, 2000).

A AGE pode se apresentar sob a forma de uma síndrome vasculítica, observada geralmente na fase aguda em equinos e apenas em músculos esqueléticos e tendões das extremidades (LEPIDI et al., 2000).

Madigan et al. (1996) relataram surto de anaplasiose granulocítica em cavalos da região nordeste dos EUA, com histórico de infestação por carrapatos e com sinais clínicos iniciados por febre de até 41 °C, anorexia, icterícia, elevação da taxa cardíaca e edema de membros.

Na Itália, em regiões com alto índice de doenças transmitidas por carrapatos em humanos, foram analisadas por PCR 20 amostras de sangue de equinos que apresentavam infestação por carrapatos, febre, anemia, anorexia, mialgia, icterícia e apatia das quais três apresentaram resultado positivo para *A. phagocytophilum* (ALBERTI et al., 2005).

Equinos infestados por ninfas e carrapatos adultos experimentalmente contaminados por cepas humanas de origem norte americana de *A. phagocytophilum* desenvolveram quadro clínico em até 11 dias, semelhante aos equinos naturalmente infectados por este agente. Febre de até 40°C com duração de quatro dias, seguido de depressão, anorexia, icterícia com duração de quatro dias, petéquias nas mucosas oral, nasal e na terceira pálpebra com duração de seis dias, edema nos quatro membros com duração de cinco dias e relutância à movimentação foram os sinais clínicos. Os animais tornaram-se assintomáticos 18 dias pós-infecção (PUSTERLA et al., 2002).

Franzén et al. (2005) descreveram os achados clínicos agudos em equinos, experimentalmente infectados com cepas europeias de *A. phagocytophilum* e observaram em todos os seis cavalos sintomas iniciais caracterizados por febre com duração de cinco a dez dias. Após este período, os animais apresentaram diminuição do estado de alerta, anorexia, aumento das frequências cardíaca e

respiratória, seguidos pela resistência à locomoção e edema de membros posteriores, no decorrer de dois a quatro dias. Os animais recuperaram-se em 22 dias, com exceção de um, que veio a óbito. No entanto, a AGE pode ter curso agudo, com óbito em dois dias, como observado nas pesquisas de Franzén et al. (2005; 2007), em cavalos que foram infectados experimentalmente por *A. phagocytophilum*.

Nos cavalos doentes com sinais clínicos de hemoparasitoses, pesquisados por Adaszek, Winiarczyk e Lukaszewska (2009) na Polônia, foram observados falta de apetite, fraqueza, efusão sinovial, relutância aos exercícios, edema e dor nos membros posteriores, ataxia, petéquias nas mucosas, pulso e frequência cardíaca aumentados, seguidos de febre de até 38,8°C, o que levou estes autores a pensar em infecções concorrentes como a babesiose e a borreliose.

A AGE pode ainda resultar em graves complicações clínicas como, por exemplo, as infecções secundárias, doenças respiratórias causadas por reações inflamatórias alveolares e fraturas muitas vezes decorrentes da fraqueza e das quedas (LEPIDI et al., 2000).

Apesar da fase crônica não ser reconhecida dentro do estudo da fisiopatogenia da AGE, verificou-se em alguns experimentos em equinos, com dificuldade de recuperação, a identificação de sinais clínicos inespecíficos como fadiga, relutância ao exercício, distúrbios comportamentais, laminites e miopatias. Estes animais apresentaram melhora significativa após a administração da oxitetraciclina, entretanto ainda existem dúvidas entre a possibilidade de ocorrerem infecções recorrentes ou latentes (ARTURSSON et al., 1999; FRAZÉN et al., 2009).

### 2.6.3 Outras espécies

A infecção persistente tem sido descrita em ovinos, cães e bovinos. Nessas espécies, a doença pode ter caráter subclínico ou ocorrer intercorrências clínicas e infecções secundárias. Cepas de *A. phagocytophilum* de ovinos e bovinos possuem baixa patogenicidade para os equinos, não conseguem induzir doença clínica apesar de ocorrer a soroconversão nesses animais (FRANZÉN et al., 2009).

*Anaplasma phagocytophilum* foi descrito como agente causador do “Complexo Tristeza Parasitária” em bovinos, ovinos e caprinos, em 1940, sendo a transmissão deste agente ligada ao carrapato (GORDON; BROWNLEE; WILSON, 1940). O mesmo agente foi reconhecido como causa da Tristeza Parasitária em ruminantes em diversos países da Europa, como, Inglaterra, Irlanda e Escandinávia (WOLDEHIWET, 2010).

A infecção subclínica foi descrita em bovinos, ovinos, cães, equinos e humanos. A proporção de casos com sintomatologia não é conhecida, entretanto achados clínicos envolvem febre, diminuição acentuada da produção de leite, hemorragias, subfertilidade e abortamentos. Em carneiros, a ocorrência da forma clínica pode ser favorecida por infecções primárias como a pneumonia bacteriana, levando inclusive a quadros hiperagudos de febre alta e morte súbita (FRANZÉN, 2008; LILLINI et al., 2006).

A infecção persistente tem sido descrita em algumas espécies de animais, cães, bovinos e ovinos, sem sinais clínicos aparentes, apenas sendo descritas a perda do ganho de peso e a predisposição a infecções em cordeiros. Ademais, algumas cepas de *A. phagocytophilum* possuem baixa patogenicidade entre espécies de ruminantes e equinos (FRAZÉN et al., 2009).

## 2.7 DIAGNÓSTICO

### 2.7.1 Clínico

O diagnóstico baseado nos sinais clínicos não é definitivo; entretanto é na fase aguda, com duração de sete a 14 dias, que os achados poderão ser observados com mais facilidade (MADIGAN; GRIBLE, 1987). A identificação das áreas endêmicas pode fornecer informações epidemiológicas que vão auxiliar o diagnóstico (FRAZÉN et al., 2005). A partir da ocorrência de diagnóstico de anaplasmoose granulocítica em outras espécies pode-se sustentar a suspeita clínica da doença no equino (BULLOCK et al., 2000).

A incidência da doença clínica em cavalos é pouco conhecida, pois a infecção subclínica com *A. phagocytophilum* em áreas endêmicas é comum, visto que muitos animais desenvolvem títulos sem sintomas clínicos (FRANZÉN et al., 2005).

Na Europa, alguns casos de equinos com títulos sorológicos elevados para *A. phagocytophilum*, ao apresentarem sintomas de laminite, mialgia, intolerância ao exercício e inapetência, podem ser diagnosticados como portadores da infecção na forma crônica. Entretanto, a existência da infecção persistente com sinais clínicos nesta espécie é amplamente questionada por pesquisadores norte-americanos que relatam em sua experiência apenas os títulos altos sem sintomas correlacionados (ENGVALL; ENGENVALL, 2002; MADIGAN et al., 1996).

A imunidade dos equídeos não está associada à forma latente ou crônica da infecção. Algumas pesquisas mostram que o agente pode permanecer por até quatro meses nos equinos, porém podem ocorrer variações individuais relacionadas a fatores endógenos e exógenos, como uso de medicamentos ou hormônios, além do estresse dos transportes e treinos. Franzén et al. (2009) também não observaram sinais clínicos durante a fase crônica da doença apesar da presença de *A. phagocytophilum* nesses animais.

Na Guatemala, os equinos das áreas rurais que vivem em áreas endêmicas das infecções por *Babesia* e *Anaplasma* e que tendem a sofrer infestações frequentes por carrapatos apresentam condição corporal ruim que podem servir de indício para a suspeita clínica destas infecções (TEGLAS et al., 2005).

### 2.7.2 Hematológico

Os achados laboratoriais incluem a presença de corpúsculo de inclusão em 1 a 6% dos neutrófilos após 48 a 72 horas da infecção e que podem persistir até 15 dias pós-infecção. Estes também são observados nos eosinófilos dos equinos, além de trombocitopenia e leucopenia. (MADIGAN; GRIBBLE, 1987; MADIGAN; PUSTERLA, 2000; PASSAMONTI et al., 2010; PUSTERLA et al., 1998). A visualização das mórulas nos granulócitos é específica para o diagnóstico, porém a baixa sensibilidade devido ao curto período de tempo durante a doença pode

caracterizar casos falso-negativos (FRANZÉN et al., 2005). As mórulas podem ser encontradas em 40% dos neutrófilos circulantes durante o pico da bacteremia e estão ausentes durante os primeiros dias de febre e após a fase aguda (UEHLINGER; CLANCEY; LOFSTEDT, 2011). Alguns pesquisadores relataram observar a presença de mórulas em 16% dos neutrófilos por períodos mais curtos que visualizados em ruminantes (UEHLINGER; CLANCEY; LOFSTEDT, 2011; WOLDEHIWET, 2010). Whist et al. (2003) observaram em ovinos a diminuição dos leucócitos (linfócitos, neutrófilos e eosinófilos) durante as três primeiras semanas pós-infecção. Essa persistente leucopenia caracteriza-se pela diminuição da capacidade fagocítica da célula hospedeira e predisposição para infecções pelo hospedeiro (WHIST et al., 2003).

Adaszek, Winiarczyk e Lukaszewska (2009), após 48 horas de infecção, encontraram 4% dos neutrófilos parasitados por *A. phagocytophilum*, com mais de uma mórula por granulócito, contendo formas pleomórficas, em bastonetes, ovais ou redondos, que se coram pelo Giemsa na tonalidade azul-escuro ou púrpura. Estas inclusões citoplasmáticas, localizadas em vacúolos envoltos por membrana, permaneceram detectáveis na proporção de 1 a 3% das células parasitadas.

A ocorrência de trombocitopenia grave, ou seja, abaixo de 40.000/ $\mu$ l, valor de referência 100.000 a 350.000/ $\mu$ l (KANEKO; HARVEY; BRUSS, 2008), na anaplasose granulocítica, é uma alteração hematológica possível. Entretanto sua origem não está bem esclarecida, mas pode ser explicada por alguns fatores, dentre eles o extravasamento difuso por pequenos vasos sanguíneos manifestados clinicamente por hemorragias petequiais nas mucosas nasal, oral, nictitante, genital e na esclerótica (ADASZEK; WINIARCZYK; LUKASZEWSKA, 2009; KANEKO; HARVEY; BRUSS, 2008; VAN DER KOLK; VAN DER WIJDEN; JONGEJAN, 1993). Outras causas relevantes consistem na destruição imunológica de parte das plaquetas pelos macrófagos e na hipoplasia medular provocada pela endotoxemia decorrente da infecção (LEPIDI et al., 2000).

A anaplasose granulocítica pode se iniciar logo após a invasão do hospedeiro com mecanismos desencadeados por uma cascata de inflamação mediada principalmente por neutrófilos, pois o dano tecidual ao hospedeiro desencadeia diversos mecanismos oxidativos, enzimáticos e quimiotáticos que levam ao aumento do número de leucócitos circulantes (LEPIDI et al., 2000).

Em contraste, outros autores descrevem a leucopenia e anemia como consequências da infecção das células progenitoras medulares pelo *Anaplasma*, além de uma disfunção neutrofílica que pode culminar com um estado de

imunossupressão que clinicamente resulta nas graves complicações da AGE (LEPIDI et al., 2000).

O aumento dos níveis do fibrinogênio plasmático, que normalmente se encontra < 400 mg/dl, é relatado por alguns autores (ADASZEK; WINIARCZYK; LUKASZEWSKA, 2009; BERMANN et al., 2002; MADIGAN et al., 1996), outros pesquisadores não encontram alterações neste parâmetro (BERMANN et al., 2002; PUSTERLA et al., 1998).

Elevações das enzimas hepáticas foram observadas em algumas pesquisas devido aos danos hepatocelulares (LEPIDI et al., 2000; MADIGAN; GRIBBLE, 1987).

### 2.7.3 Sorológico

O estudo da imunidade humoral ou dos anticorpos presentes no soro dos equinos é comumente conhecido por sorologia ou imunoensaio, que envolve a detecção de anticorpos específicos no soro, isto é, com especificidade para *A. phagocytophilum* tais anticorpos anti- *A. phagocytophilum* são detectados de 14 a 30 dia pós-infecção (PUSTERLA et al., 2002; REUBEL et al., 1998).

Os testes mais utilizados para o diagnóstico de AGE são os sorológicos, entre eles o mais utilizado na rotina laboratorial é a RIFI, seguida pelo ELISA e pelo Teste de Western Immunoblotting (ZIMMERMAN; CRISMAN, 2008).

Para confirmar a existência de infecção ou de período pós-infecção deve-se registrar o aumento dos títulos de anticorpos para *A. phagocytophilum* (ARTURSSON et al., 1999; ZIMMERMAN; CRISMAN, 2008). O aumento da titulação em sorologia pareada quatro vezes o valor inicial durante o período de convalescência da infecção por este agente pode caracterizar o diagnóstico positivo (UEHLINGER; CLANCEY; LOFSTEDT, 2011). Madigan et al. (1996) observaram em equinos aumento de cinco os títulos de anticorpos anti- *A. phagocytophilum* (1:640) por um período maior que três semanas.

Foi realizado um estudo em equinos experimentalmente inoculados com *A. phagocytophilum* que soroconverteram de 12 a 16 dias pós inoculação com

subsequente observação dos títulos por 14 semanas com elevações da titulação em até seis vezes (FRAZÉN et al., 2005).

Em outra pesquisa foram observados anticorpos anti- *A. phagocytophilum* pós infecção num período de 19 a 81 dias, com média de títulos de 1:320 no quadragésimo sexto dia, e permanência de quantificação titular por até 215 dias pós infecção. A ausência de títulos no início da infecção torna o teste sorológico limitado para determinação de uma infecção aguda (VAN ANDEL et al., 1998).

A pesquisa de anticorpos anti- *A. phagocytophilum* é uma ferramenta importante para pesquisar a circulação da bactéria e a detecção do aumento dos títulos de IgG durante as fases aguda e convalescente e ajuda a estabelecer o diagnóstico da anaplasmoze granulocítica. Porém, em animais que não apresentam sintomatologia, o uso apenas da sorologia não pode estabelecer a infecção ativa (PASSAMONTI et al., 2010).

Os potros recém-nascidos apresentam, a partir de 18 horas após a mamada do colostro, os mesmos níveis séricos de imunoglobulinas da mãe, títulos estes que declinam a partir do quinto mês de vida (NYINDO et al., 1978).

É notória a dificuldade em correlacionar os sinais clínicos da enfermidade aos resultados sorológicos já que, em uma elevada proporção de animais, os títulos se elevam significativamente sem manifestações clínicas (MADIGAN et al., 1995). Apesar de não se conhecer muito bem a cinética dos anticorpos pós infecção por *A. phagocytophilum*, sabe-se que o pico dos títulos de anticorpos anti- *A. phagocytophilum* ocorre no primeiro mês pós fase de parasitemia. Porém nem todos os animais apresentam elevações sorológicas significativas, o que pode ser explicado pela tentativa precoce de detecção sorológica ou por uma resposta rápida do sistema imune à infecção na fase final dos sinais clínicos. Estes fatores de liberação de anticorpos podem variar devido a condições de estresse, distúrbios hormonais ou até mesmo de infecções secundárias (ARTURSSON et al., 1999; ENGVALL; ENGENVALL, 2002; FRAZÉN et al., 2009).

A diferença entre infecção primária e reação cruzada entre dois patógenos é baseada na quantificação dos títulos anti- *A. phagocytophilum*, que é até quatro vezes maior do que a exposição ao patógeno quando compara as reações cruzadas com dois ou mais patógenos (COMER et al., 1999; LEVI et al., 2006). Em equinos a sorologia pode ser utilizada para diagnóstico em rotina, fazendo-se a coleta pareada em pesquisas epidemiológicas, uma vez que a reação cruzada entre as espécies

circulantes, *N. risticii* e *A. phagocytophilum*, ainda não foram comprovadas (Quadro 4) nestes animais (RIKIHISA, 1991).

**Quadro 4.** Reação cruzada em testes sorológicos entre espécies da família Anaplasmataceae (RIKIHISA, 1991)

SORO	RESPOSTA ANTIGÊNICA*				
	<i>*Neorickettsia risticii</i> ( <i>Ehrlichia risticii</i> )	<i>Ehrlichia sennetsu</i>	<i>Ehrlichia canis</i>	<i>*Anaplasma phagocytophilum</i> ( <i>Ehrlichia equi</i> )	<i>Ehrlichia ruminantium</i> ( <i>Cowdria ruminantium</i> )
<i>*Neorickettsia risticii</i> ( <i>Ehrlichia risticii</i> )	4 (4)**	3 (3)	1 (1)	0	0
<i>Ehrlichia sennetsu</i>	4 (4)	4 (4)	1 (1)	1	0
<i>Ehrlichia canis</i>	1 (1)	1 (1)	4 (4)	2	1
<i>*Anaplasma phagocytophilum</i> ( <i>Ehrlichia equi</i> )	0	1	3	4	3
<i>*Anaplasma phagocytophilum</i> ( <i>Ehrlichia phagocytophila humana</i> )	1	1	1	2	-
<i>Ehrlichia ruminantium</i> ( <i>Cowdria ruminantium</i> )	0	0		3	4

\*Nomenclatura atualizada por Dumler et al. (2001).

\*\*RIFI (Western blot) reatividade: 4 (forte), 3 (moderada); 2 (fraca), 1 (marginal), 0 (negativa) e – (não realizada).

#### 2.7.4 Molecular

Diversos ensaios de reação em cadeia de polimerase (PCR) foram desenvolvidos para caracterização dos diversos genogrupos de *A. phagocytophilum*, dentre os mais utilizados foi a análise do gene 16S rRNA. Porém, somente o sequenciamento deste gene não foi suficiente para a distinção dos genogrupos. Então, para tipificação, são incluídos o gene *groESL* e o gene *ankA*, além dos genes de diversas MSPs, identificados no gênero *Anaplasma* spp. que identificam as principais proteínas de superfície da bactéria (DE LA FUENTE et al., 2005; SCHARF et al., 2011). São considerados altamente sensíveis e específicos, principalmente durante os estágios de infecção inicial e tardio, quando os níveis de anticorpos estão

baixos ou inexistentes (ALBERTI et al., 2005; FRANZÉN et al., 2009; SCHARF et al., 2011).

A detecção e a identificação de espécies de *Ehrlichia* e *Anaplasma* através da técnica molecular é uma ferramenta importante para determinar a espécie circulante e a presença de coinfeção por duas ou mais espécies (STEIN; RAOULT, 1992). Estes mesmos pesquisadores citam que, para a identificação do agente, pode-se utilizar sangue total ou frações celulares, tecidos frescos ou parafinados, medula óssea e carrapatos.

#### 2.7.5 Patologia

As lesões macroscópicas caracterizam-se por hemorragias, geralmente petéquias e equimoses, no tecido subcutâneo e no epimísio e edemas localizados principalmente na parede abdominal ventral, membros e prepúcio. As lesões histológicas observadas são vasculites no subcutâneo, fáscias e nervos dos membros que podem ser proliferativa e necrosante, trombozes com infiltração perivascular primariamente de monócitos e linfócitos seguidas de polimorfonucleares, infiltrado inflamatório perivascular, intersticial e trombozes nos rins, coração, cérebro e pulmões (FRANZÉN et al., 2007; MADIGAN; PUSTERLA, 2000).

## 2.8 DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

É importante diferenciar as enfermidades com sintomatologia semelhante da AGE (Quadro 5), especialmente com aquelas que apresentam características de febre intermitente, icterícia, edema ventral e de membros. Doenças infecciosas como anemia infecciosa equina, encefalites e arterite viral equina, doenças imunológicas como púrpura hemorrágica associada com *Streptococcus equi* e outras vasculites imunomediadas e as doenças hepáticas também devem ser consideradas no diagnóstico diferencial (MADIGAN; GRIBBLE, 1987; UEHLINGER; CLANCEY; LOFSTEDT, 2011).

Os exames iniciais para o diagnóstico diferencial são os laboratoriais que incluem hemograma com pesquisa do agente nos esfregaços. As análises bioquímicas, os dados epidemiológicos e os exames sorológicos podem direcionar a um diagnóstico definitivo (UEHLINGER; CLANCEY; LOFSTEDT, 2011).

**Quadro 5: Diagnóstico diferencial de Anaplasmosse Granulocítica Equina baseado em dados de Radostits et al. (2007), Riet-Correa et al. (2007), Sellon e Long (2007)**

Enfermidade e Agente etiológico	Epidemiologia	Achados clínicos	Patologia	Diagnóstico
<b>Anemia Infecçiosa Equina</b> Vírus do gênero <i>Lentivirus</i> da família <i>Retroviridae</i>	Transmissão principalmente por <i>Stomoxys</i> spp. e <i>Culicoides</i> spp., iatrogênica (agulhas, transfusão, instrumentos cirúrgicos e dental), transplacentária, colostro e venérea	Fase aguda: febre, letargia e inapetência. Fase crônica: perda de peso, edemas, mucosas hipocoradas, petéquias, icterícia, epistaxe, ataxia e encefalites.	Fase aguda: Trombocitopenia e anemia. Fase crônica: anemia hemolítica e trombocitopenia. Necropsia observa-se edema subcutâneo, icterícia, petéquias ou equimoses das membranas serosas esplenomegalia, hepatomegalia e linfonodos aumentados.	Sinais clínicos e laboratoriais. Testes sorológicos: imunodifusão em gel de ágar (IDGA) e o ELISA competitiva (cELISA).
<b>Arterite viral equina</b> Vírus do gênero <i>Arterivirus</i> da família <i>Arteriviridae</i>	Transmissão respiratória, venérea, transplacentária, sêmen, fômites, secreções corpóreas e fetos abortados e os envoltórios.	Depressão, anorexia, febre, conjuntivite, rinite, secreções oculares e nasais, pneumonias, abortos, edemas e urticárias. Menos frequente observa-se icterícia, fotofobia, opacidade da córnea, dispneia, tosse, cólicas, diarreia, ataxia, petéquias e linfadenopatia.	Leucopenia, edema, congestão e hemorragia do tecido subcutâneo, edema pulmonar e visceral, efusão pleural e pericárdica, panvasculite, trombose vascular e nefrite.	Alterações respiratórias, aborto, testes molecular e sorológico (microneutralização), isolamento viral e exame histopatológico.
<b>Encefalites virais equina</b> Vírus do gênero <i>Alphavirus</i> da família <i>Togaviridae</i>	Isolados os alfavírus leste, oeste e venezuelano. Ocorrência sazonal (verão e outono). Animais mais novos são mais susceptíveis. Transmissão envolve aves ou roedores e mosquitos.	Febre, depressão, anorexia e alterações neurológicas como ranger de dentes, ataxia, andar em círculos, pressão da cabeça contra objetos, hiperexcitabilidade, paralisia e cegueira. Ptose labial, protusão da língua e cabeça e orelhas baixas.	Lesões principalmente no córtex cerebral, tálamo e hipotálamo com, necrose neuronal, neurofagia, manguitos perivasculares e microgliose.	Sinais clínicos, dados epidemiológico, exame histopatológico, testes sorológicos (hemaglutinação e soroneutralização) e isolamento viral.
<b>Púrpura hemorrágica</b>	Vasculite necrosante asséptica, causada por depósito de imuno-complexos nas paredes vasculares e frequentemente esta associada à infecção por <i>Streptococcus equi</i> . imunização, administração de medicamentos e toxinas.	Edema do tecido subcutâneo, principalmente da cabeça, membros e tronco, petéquias ou equimoses na pele, mucosas, nasal, oral e ocular e vísceras. Casos graves observam-se cólica, dificuldade respiratória e mialgias.	Anemia moderada com leucocitose neutrofílica e hiperfibrinogemia. Vasculite leucocitoclástica, glomerulonefrite, miocardite e tumefação da laringe e faringe.	Biópsia de pele com vasculite asséptica.
<b>Doenças hepáticas</b>	Hepatite infecciosa (herpes vírus equino tipo 1, colangiohepatite; doença de Tyzzer( <i>Bacillus piliformis</i> ) leptospirose, salmonelose, tuberculose, pasteurelose, toxoplasmose, neosporose, coccidiose e estrongilos), <i>hepatite tóxica</i> (farmacos e toxinas), <i>hepatite sérica</i> ; <i>hepatite auto-imune</i> ; <i>hepatite inflamatória</i> (não infecciosas) <i>hepatite crônica</i> , neoplasia, doença granulomatosa, <i>hepatite metabólicas</i> : lipídose, hiperamonemia; d. mellitus e hiperlipidemia; obstrutivas.	Os principais sinais clínicos são depressão, mucosas congestionadas, taquicardia, diminuição ou ausência de apetite, perda de peso, febre, icterícia, polipnéia, cólica e sinais de hepatoencefalopatia	Elevação das enzimas séricas de origem hepática, aumento dos ácidos biliares plasmáticos, hiperbilirrubinemia, hipoalbuminemia, hiperglobulinemia, aumento da concentração da amônia sanguínea ou a diminuição da uréia.	Sinais clínicos de fotossensibilização, hepatoencefalopatia e icterícia. Testes laboratoriais, associado ao diagnóstico por imagem e a biópsia hepática.
<b>Piroplasmose Equina</b> <i>Babesia caballi</i> , <i>Theileria equi</i>	Transmissão por carrapatos ( <i>Dermacentor nitens</i> , <i>Amblyomma cajennense</i> e <i>R. microplus</i> ). Endêmica em regiões tropicais e subtropicais	Formas inaparente, hiperaguda, aguda, subaguda e crônica. Inapetência, queda de desempenho, perda peso, icterícia, anemia, febre, edema de membros, taquicardia, taquipnéia, hemoglobinúria, ataxia, encefalites e síndrome neonatal (anemia aguda).	Anemia, icterícia, edema de subcutâneo e serosas, hepatoesplenomegalia, ascite, hidrotórax, hidropericárdio, hemorragias endocárdio e congestão e edema de pulmão.	Sinais clínicos e esfregaço sanguíneo. Sorologia (Fixação de complemento, RIFI, ELISA) e PCR.

## 2.9 TRATAMENTO

O tratamento da anaplasmosose consiste na administração de cloridrato de oxitetraciclina na dose de 5 a 7mg/Kg/pv, uma vez ao dia, durante sete dias, por via intravenosa ou intramuscular. A resposta ao tratamento é rápida com remissão da febre entre 12 e 24 horas. A reversão total do quadro clínico ocorre aproximadamente em sete dias, não sendo possível detectar os corpúsculos na hematoscopia. Em alguns casos, pode ocorrer cura espontânea dentro de duas ou três semanas (MADIGAN, 1993). A mortalidade é baixa, mas pode ocorrer por infecção secundária ou traumas devido à incoordenação motora na fase aguda (MADIGAN; PUSTERLA, 2000).

Até o presente momento, não existe vacina contra *A. phagocytophilum*. A profilaxia consiste em estratégias de controle dos carrapatos e do trânsito de animais (SELLON; LONG, 2007).

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 PERÍODO E LOCAL DE REALIZAÇÃO DA PESQUISA

A coleta das amostras de sangue e preenchimento dos questionários ocorreram entre outubro de 2009 e novembro de 2011, em 33 propriedades rurais visitadas, dos 15 municípios distribuídos nas sete mesorregiões do estado do Rio de Janeiro (Figura 2).

O material foi processado no Núcleo de Pesquisas Avançadas em Parasitologia (NUPAP) do Hospital Veterinário da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF).

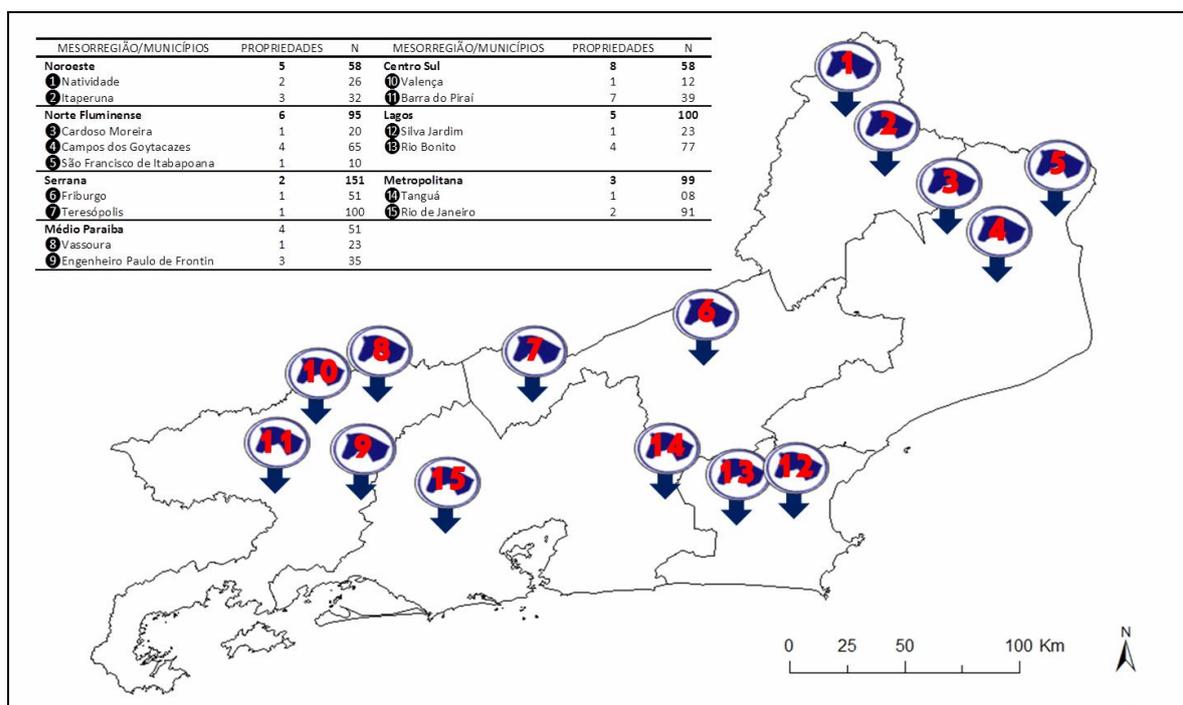


Figura 2. Mapa do estado do Rio de Janeiro com a localização das coletas, número de propriedades visitadas e número de animais pesquisados (N).

### **3.2 AMOSTRAGEM**

Foram utilizados soros de 612 equídeos, sendo o tamanho da amostra calculada por meio do programa estatístico Epi-info 2000, tomando-se por base o número total de 121.594 equídeos no estado do Rio de Janeiro (IBGE, 2010), com uma prevalência esperada de 17,03% (PASSAMONTI et al., 2010) e aceitável até 25% e intervalo de confiança de 95%.

### **3.3 COLETA DE AMOSTRAS**

Foram coletados em duplicata 10 ml de sangue dos equídeos diretamente da veia jugular, após antissepsia local com solução de álcool iodado a 2%, utilizando-se agulha descartável, 25x8, acoplada a um adaptador para tubo do tipo “vacutainer” (BD Vacutainer<sup>®</sup>), com gel separador, identificados e mantidos sob refrigeração, por gelo reciclável, até a chegada ao laboratório para o processamento.

### **3.4 PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS DE SANGUE**

O sangue foi centrifugado a 500 xg por 5 minutos para a separação do soro e este foi acondicionado em tubos plásticos tipo “Eppendorf” de 2,0 ml, em duplicata, identificados e armazenados sob a temperatura de  $-20^{\circ}\text{C}$  até o momento da realização dos exames.

### 3.5 SOROLOGIA

Realizou-se a RIFI para detectar anticorpos da classe IgG homólogos contra *A. phagocytophilum*, utilizando-se o kit IFA Equine Antibody -Fuller Laboratories<sup>®</sup> (Figura 3). Para tanto, foi realizada diluição de 1:80 em solução Salina Fosfato Tamponada (PBS) com pH 7,2. Foram depositados 10 µL da diluição em cada poço das lâminas contendo substrato antigênico de *A. phagocytophilum* (células HL60 contendo mórulas de *A. phagocytophilum*), reservados dois poços para a adição das amostras dos controles positivo e negativo. As lâminas foram incubadas a 37° C por 60 minutos em câmara úmida e, em seguida, foram lavadas em PBS e secas. Em cada poço adicionou-se 10 µL de conjugado (anti-IgG de equino marcado pelo isotocianato de fluoresceína). O material foi então novamente incubado (60 minutos a 37°C), em câmara úmida. Após três lavagens com PBS e secagem, as lâminas foram montadas com glicerol a 50% diluído em PBS. O diagnóstico foi feito com a visualização da reação antígeno/anticorpo marcado pelo isotocianato de fluoresceína em microscópio de imunofluorescência Zeiss (AXIOSHOOP 40). As imagens foram feitas com câmera digital Carl Zeiss (AXIO CAM MRC – HAL100) para captura de imagem e acoplado ao microscópio e auxiliado por um microcomputador e Software Zeiss AxionVision LE 4.8.2. Foram consideradas amostras positivas dos soros que reagiram na diluição de 1:80 e permitiram a observação de fluorescência nas mórulas, em comparação com os controles.

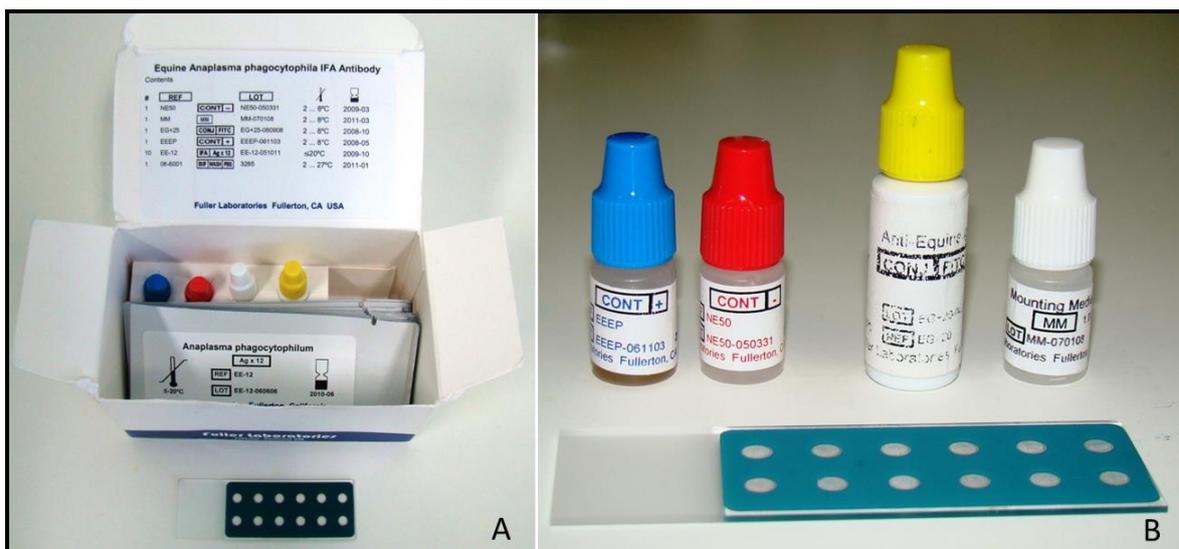


Figura 3. Kit RIFI Equine Antibody -Fuller Laboratories® para diagnóstico de *Anaplasma phagocytophilum*. Em **A**, caixa com kit completo contendo reagentes e 10 lâminas com 12 poços contendo substrato antigênico de *A. phagocytophilum* (células HL60 contendo mórulas de *A. phagocytophilum*). Em **B**, soro controle positivo (azul), controle negativo (vermelho), conjugado anti-IgG de equino marcado pelo isotocianato de fluoresceína (amarelo) e glicerina para montagem das lamínulas sobre lâminas (branco).

### 3.6 INQUÉRITO EPIDEMIOLÓGICO

Em todas as propriedades onde foram coletadas as amostras foi aplicado um questionário epidemiológico, dando-se preferência aos veterinários responsáveis pelos plantéis, seguidos dos tratadores ou treinadores ou ainda dos proprietários. A fim de facilitar a organização dos dados, o inquérito foi dividido em cinco partes, de acordo com a classificação de suas variáveis.

#### 3.6.1 Identificação da propriedade

Estas informações serviram de parâmetros para o mapeamento geográfico e delineamento da infecção no Estado do Rio de Janeiro.

---

**IDENTIFICAÇÃO DA PROPRIEDADE**

---

**1. Nome:****2. Proprietário:****3. Município:****4. Localização em coordenadas:**

---

**3.6.2 Parte física e habitacional das propriedades**

Este segmento possibilita a investigação de possíveis fatores ligados à infraestrutura da propriedade, como a população residente e flutuante de trabalhadores, além de agregados e a utilização de implementos.

---

**PARTE FÍSICA**

---

**1. Tamanho em hectares:****2. Apresenta benfeitorias?** Sim. Quais? Não**3. Material utilizado na construção:****4. Apresenta residência(s)?** Sim. Quantas? Não**5. Apresenta funcionário(s) remunerado(s)?** Sim. Quantos? Não**6. Apresenta morador(es)?** Sim. Quantos? Não

---

### 3.6.3 Manejo

Através da coleta destes dados, foi possível estratificar o rebanho, identificar a presença ou não de veterinários responsáveis, atividades equestres e raças relacionadas, trânsito e participações em aglomerações desses animais. Além disso, verificou-se o manejo empregado, o tipo de produção e exploração agropecuária, o que permite correlacioná-los aos riscos epidemiológicos e a infecções por *A. phagocytophilum*.

---

#### MANEJO

1. Número total de equinos:

2. Número de éguas:

3. Número total de potras:

4. Número total de potros:

5. Número total de garanhões:

6. Possui Médico Veterinário responsável?

( ) Sim

( ) Não

7. Qual o sistema de criação?

( ) Extensivo

( ) Semi-intensivo

( ) Intensivo

8. Qual o sistema de produção?

( ) Familiar

( ) Empresarial ( ) Pré-empresarial

9. Qual o tipo de atividade?

Hipismo rural - Trabalho - Reprodução – Passeio – Hipismo clássico -- Turfe

11. Qual raça predominante no rebanho?

( ) Mangalarga

( ) Mestiço

( ) Campolina

( ) PSI ( ) Outras

---

12. Realiza viagens frequentes?

( ) Sim. Onde? ( ) Não

13. Recebe animais para reprodução?

( ) Frequentemente ( ) Raramente ( ) Não

14. Os animais da propriedade são vacinados contra:

( ) Raiva ( ) Encefalomielite ( ) Influenza ( ) EHV ( )

Outras ( ) Quais?

15. Os animais se alimentam sempre de:

( ) Pastagem ( ) Feno ( ) Forragem/Leguminosas ( ) Concentrado

16. Os animais se alimentam em determinadas épocas do ano de:

( ) Feno ( ) Forragem ( ) Concentrado ( ) Outros

Feno (alfafa, Tifton, Coast cross, \_\_\_\_\_)

Forragens (quicúia, Tifton, Napie, capim Angola \_\_\_\_\_)

Outros (aveia, linhaça, milho, sorgo, soja \_\_\_\_\_)

17. Qual o tipo de suplementação mineral?

( ) Sal mineral ( ) Sal comum ( ) Ambos

18. Como é o manejo dos animais?

( ) Excelente ( ) Bom

( ) Regular ( ) Ruim

Condição física

Alimentação

Água

Treinamento

19. Como são as condições higiênicas-sanitárias?

( ) Excelente ( ) Boa

( ) Regular ( ) Ruim

1. Baia (piso, cama, bebedouro e ectoparasitas)

2. Estábulo (limpeza e organização)

3. Farmácia (limpeza e organização)

4. Pasto

20. Existe criação de outros animais no mesmo ambiente?

( ) Sim. Quais?

( ) Não

21. Qual o tipo de reprodução (monta)?

( ) Natural ( ) Inseminação artificial ( ) Ambas

( ) Transferência de embriões (.....) Todas

22. Faz algum tratamento contra ectoparasitas?

( ) sim ( ) não Frequência?

Produtos utilizados?

23. Participa de eventos ou aglomerações (feiras, cavalgadas, leilão e exposição)

( ) Sim Quais?

Frequência?

( ) Não

### 3.6.4 Perguntas referentes à anaplasmoze equina

Estes questionamentos objetivaram identificar possíveis indícios da presença da infecção no rebanho equídeo com o cuidado de não induzir os entrevistados.

---

#### PERGUNTAS REFERENTES A ANAPLASMOSE

---

**1 Propriedade apresenta equinos com histórico de anemia?**

( ) Sim

( ) Não

**2 Propriedade apresenta cães**

( ) Sim. Quantos?

( ) Não

**3 Tem contato com a fonte de água?**

( ) Sim

( ) Não

**4 Tem contato com os bovinos?**

( ) Sim

( ) Não

**5 Tem contato com a alimentação dos bovinos?**

( ) Sim

( ) Não

**6 São observados outros animais silvestres na propriedade?**

Quais ?

**7 Existe comércio de compra e venda entre os equinos?**

( ) Sim. Qual:

( ) Não

---

## 3.6.5 Questionário individualizado

A partir deste segmento, as informações coletadas voltavam-se para a análise individual dos animais incluindo histórico e ficha sanitária do mesmo.

---

**IDENTIFICAÇÃO DO ANIMAL**

---

**Nº****SEXO:****1. Nome:****2. Idade:****Faixa etária ( ) 0-2 anos ( ) 3-4 anos ( ) 5-14 anos ( ) acima 14 anos****3. Raça:** Mangalarga Mestiço Campolina PSI Outras. Qual?**4. Procedência** Propriedade Vizinhaça Município Outros Quais?**5. Aptidão:****6. Animal já apresentou anemia?** Sim Quantos? \_\_\_\_\_ Não**7. Animal já apresentou infestação por carrapatos?** Sim Não**8. O animal é vacinado contra:** Raiva ( ) Encefalomielite ( ) Influenza ( ) EHV Outras Quais?

### 3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A partir de dados coletados em ficha epidemiológica foram avaliadas as variáveis como anemia e histórico de anemia individual ou na propriedade; sexo, raça, idade e faixa etária; procedência, aptidão dos animais; mesorregião, município, propriedade onde os animais são criados; manejo de um modo geral, além de assistência veterinária, sistema de criação, sistema de produção, vacinação, alimentação, complementação alimentar, suplementação mineral, condição higiênico sanitária, fonte de água e comercialização de animais; se na propriedade há outras criações ou se os animais entram em contato com cães, ruminantes ou animais silvestres; manejo reprodutivo e entrada de animais para reprodução; presença de ectoparasitas e tratamentos, participação em eventos e viagens. Para verificar os fatores de risco relacionados entre as diversas variáveis, foi utilizado o teste não-paramétrico Qui-quadrado e a Regressão Logística, com intervalo de confiança de 95% utilizando-se o programa SAS.

## 4 RESULTADOS

No exame sorológico (Figura 4), foram observados 124 (20,26%) equídeos com anticorpos da classe IgG anti-*A. phagocytophilum* com título de 1:80, dentre os 612 animais dos 15 municípios pesquisados do estado do Rio de Janeiro (Figura 5).

Constatou-se 28 das 33 propriedades com animais soropositivos para *A. phagocytophilum* e onde cinco foram consideradas com risco de infecção pelo parasita (Tabela 1).

Dos 15 municípios avaliados no estado do Rio de Janeiro, somente em um deles não foram encontrados equídeos soropositivos para *A. phagocytophilum* entre os 10 animais pesquisados (Tabela 2). Em sete municípios, observou-se risco para a infecção ( $p=0,0401$ ).

Com exceção da região noroeste do estado do Rio de Janeiro, todas as demais apresentaram risco para a infecção por *A. phagocytophilum* em equídeos (Tabela 3).

Propriedades com ou sem assistência veterinária não diferiram estatisticamente ( $p=0,900$ ) quanto ao risco de infecção dos equídeos por *A. phagocytophilum*. Na figura 6, observa-se que o número de animais com assistência veterinária é maior nos plantéis estudados e que a diferença de 16,99% e 3,27% de animais soropositivos com ou sem assistência, respectivamente, não foi suficiente para que houvesse diferença significativa pelo teste do  $\chi^2$ .

Observou-se também que 58,50% dos animais são criados em sistema semi-intensivo e que não foram observadas diferenças significativas ( $p=0,3625$ ) quanto ao risco de infecção por *A. phagocytophilum* nos equídeos criados em sistema extensivo, semi-intensivo e intensivo que apresentaram 3,10%, 11,11% e 6,11% de animais soropositivos (Figura 7). Da mesma forma, não foram observadas diferenças significativas ( $p=0,3884$ ) quanto ao risco de infecção em relação ao sistema de produção das propriedades criadoras os equídeos avaliadas (Figura 8).

Verificou-se que 82,36% dos equídeos avaliados participavam de viagens frequentes e 16,67% destes foram sororreativos para *A. phagocytophilum*. Entretanto, não se observou diferença estatística ( $p=0,9752$ ) pelo teste do  $\chi^2$ , comparando-se aos sororreativos que não viajavam (3,59%), que eram de 17,64% positivos dos pesquisados (Figura 9).

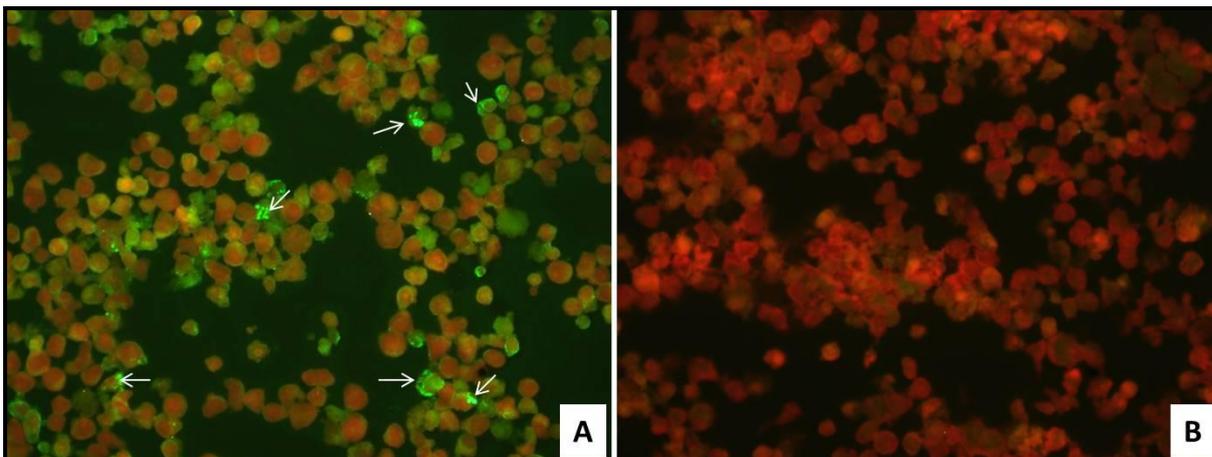


Figura 4. Teste de Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) dos equídeos pesquisados no Estado do Rio de Janeiro. Em (A), amostra positiva com setas evidenciando mórulas fluorescentes indicativas da ligação do anticorpo anti-*Anaplasma Phagocytophyllum* ao antígeno, contrastando com uma reação negativa observada em (B). Aumento de 40X. Kit *Anaplasma phagocytophilum* IFA Equine Antibody (Fuller Laboratories<sup>®</sup>)

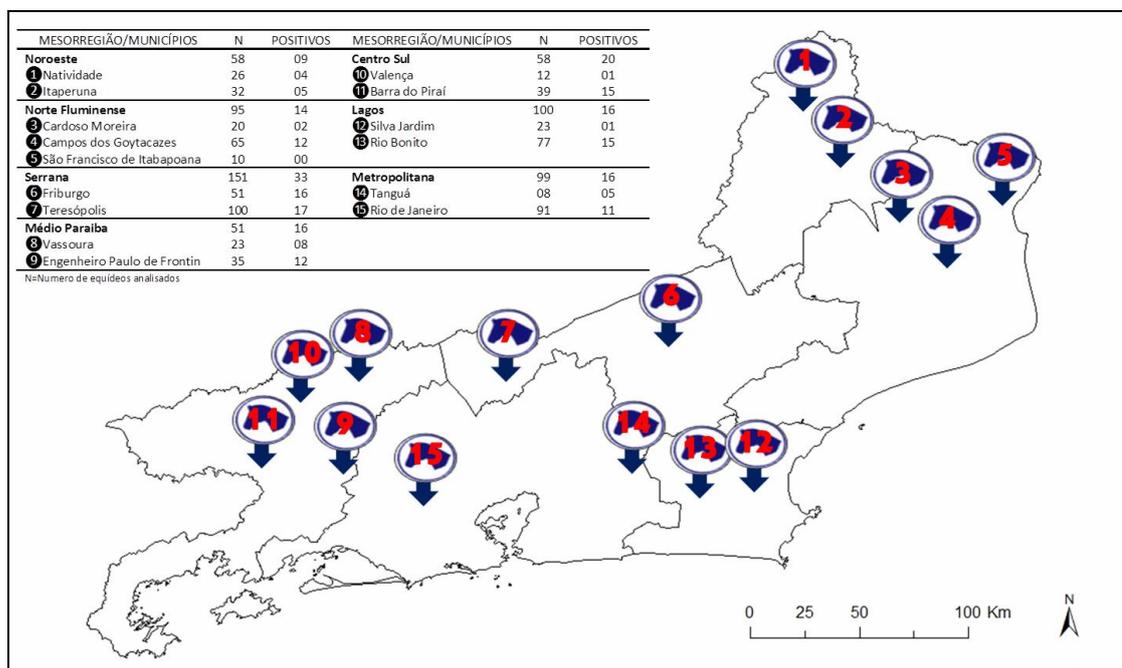


Figura 5. - Mapa do estado do Rio de Janeiro subdividido em mesorregiões com a localização das coletas, número de amostras sanguíneas por município e número de animais soropositivos.

**Tabela 1.** Frequência e risco da infecção por *Anaplasma phagocytophilum* em equídeos no estado do Rio de Janeiro quanto às propriedades pesquisadas.

Propriedades	Resultado (%)		TOTAL	Valor de P <sup>1</sup>
	Positivo	Negativo		
PEC- PM	8 (1,31) <sup>a</sup>	33 (5,39)	<b>41 (6,70)</b>	<b>&lt; 0,0001</b>
RPMont	3 (0,49) <sup>c</sup>	47 (7,68)	<b>50 (8,17)</b>	
Vale do Marmelo	17 (2,78) <sup>a</sup>	83 (13,56)	<b>100 (16,34)</b>	
GM Treinamentos	5 (0,82) <sup>b</sup>	3 (0,49)	<b>8 (1,31)</b>	
Haras Toca do Ururau	1 (0,16) <sup>c</sup>	9 (1,47)	<b>10 (1,63)</b>	
Criatório JGO	4 (0,65) <sup>c</sup>	26 (4,25)	<b>30 (4,90)</b>	
Rancho dos Amigos	8 (1,31) <sup>a</sup>	7 (1,14)	<b>15 (2,45)</b>	
Haras Bacaxá	2 (0,33) <sup>c</sup>	20 (3,27)	<b>22 (3,59)</b>	
Haras Verde e Preto	16 (2,61) <sup>a</sup>	35 (5,72)	<b>51 (8,33)</b>	
Haras Juturnaíba	1 (0,16) <sup>c</sup>	22 (3,59)	<b>23 (3,76)</b>	
Haras Ponto do Retiro	5 (0,82) <sup>b</sup>	2 (0,33)	<b>7 (1,14)</b>	
Jorge Lima Carvalho	2 (0,33) <sup>c</sup>	6 (0,98)	<b>8 (1,31)</b>	
Sítio S Joao Batista	0 (0,00) <sup>c</sup>	2 (0,33)	<b>2 (0,33)</b>	
Rancho Tropa de Elite	0 (0,00) <sup>c</sup>	2 (0,33)	<b>2 (0,33)</b>	
Sergio Righ	1 (0,16) <sup>c</sup>	4 (0,65)	<b>5 (0,82)</b>	
Fazenda Aterrado	5 (0,82) <sup>b</sup>	5 (0,82)	<b>10 (1,63)</b>	
Haras FRF	2 (0,33) <sup>c</sup>	3 (0,49)	<b>5 (0,82)</b>	
Hvet-UENF	4 (0,65) <sup>c</sup>	7 (1,14)	<b>11 (1,80)</b>	
Rancho Elba	4 (0,65) <sup>c</sup>	17 (2,78)	<b>21 (3,43)</b>	
Sítio Alto Limoeiro	0 (0,00) <sup>c</sup>	5 (0,82)	<b>5 (0,82)</b>	
Sítio Cajueiro	0 (0,00) <sup>c</sup>	18 (2,94)	<b>18 (2,94)</b>	
Central S Francisco	0 (0,00) <sup>c</sup>	10 (1,63)	<b>10 (1,63)</b>	
Curral -UENF	4 (0,65) <sup>c</sup>	11 (1,80)	<b>15 (2,45)</b>	
Sítio Trapiche	3 (0,49) <sup>c</sup>	18 (2,94)	<b>21 (3,43)</b>	
Marambaia	1 (0,16) <sup>c</sup>	9 (1,47)	<b>10 (1,63)</b>	
Sítio Água Santa	3 (0,49) <sup>c</sup>	13 (2,12)	<b>16 (2,61)</b>	
Sítio dos Palmares	3 (0,49) <sup>c</sup>	13 (2,12)	<b>16 (2,61)</b>	
Sítio Pau-Ferro	1 (0,16) <sup>c</sup>	9 (1,47)	<b>10 (1,63)</b>	
Rancho da Cachoeira	1 (0,16) <sup>c</sup>	11 (1,80)	<b>12 (1,96)</b>	
Herdade das Palmas	5 (0,82) <sup>b</sup>	6 (0,98)	<b>11 (1,80)</b>	
Haras Pedro Valente	3 (0,49) <sup>c</sup>	16 (2,61)	<b>19 (3,10)</b>	
Haras Ana C. Batista	4 (0,65) <sup>c</sup>	1 (0,16)	<b>5 (0,82)</b>	
Haras Olympo	8 (1,31) <sup>a</sup>	15 (2,45)	<b>23 (3,76)</b>	
<b>TOTAL</b>	<b>124 (20,26)</b>	<b>488 (79,74)</b>	<b>612 (100)</b>	

<sup>1</sup> Pelo Teste do  $\chi^2$

Letras iguais na coluna não diferem estatisticamente com intervalo de confiança de 95%.

**Tabela 2.** Frequência e risco da infecção por *Anaplasma phagocytophilum* em equídeos no estado do Rio de Janeiro quanto aos quinze municípios pesquisados

Município	Resultado (%)		TOTAL	Valor de P <sup>1</sup>
	Positivo	Negativo		
Rio de Janeiro	11 (1,80) <sup>a</sup>	80 (13,07)	<b>91 (14,87)</b>	<b>=0,0401</b>
Teresópolis	17 (2,78) <sup>a</sup>	83 (13,56)	<b>100 (16,34)</b>	
Rio Bonito	15 (2,45) <sup>a</sup>	62 (13,73)	<b>77 (16,18)</b>	
Silva Jardim	1 (0,16) <sup>c</sup>	22 (3,59)	<b>23 (3,75)</b>	
Campos dos Goytacazes	12 (1,96) <sup>a</sup>	53 (8,66)	<b>65 (10,62)</b>	
Cardoso Moreira	2 (0,33) <sup>c</sup>	18 (2,94)	<b>20 (3,27)</b>	
São Francisco de Itabapoana	0 (0,00) <sup>c</sup>	10 (1,63)	<b>10 (1,63)</b>	
Barra do Pirai	15 (2,45) <sup>a</sup>	24 (3,92)	<b>39 (6,37)</b>	
Itaperuna	5 (0,82) <sup>c</sup>	27 (4,41)	<b>32 (5,23)</b>	
Valença	1 (0,16) <sup>c</sup>	11 (1,80)	<b>12 (1,96)</b>	
Paulo de Frontin	12 (1,96) <sup>a</sup>	23 (3,76)	<b>35 (5,72)</b>	
Vassouras	8 (1,31) <sup>b</sup>	15 (2,45)	<b>23 (3,76)</b>	
Friburgo	16 (2,61) <sup>a</sup>	35 (5,72)	<b>51 (8,33)</b>	
Tanguá	5 (0,82) <sup>c</sup>	3 (0,49)	<b>8 (1,31)</b>	
Natividade	4 (0,65) <sup>c</sup>	22 (3,59)	<b>26 (4,25)</b>	
<b>TOTAL</b>	<b>124 (20,26)</b>	<b>488 (79,74)</b>	<b>612 (100)</b>	

<sup>1</sup> Pelo Teste do  $\chi^2$

Letras iguais na coluna não diferem estatisticamente com intervalo de confiança de 95%.

**Tabela 3.** Frequência e risco da infecção por *Anaplasma phagocytophilum* em equídeos no estado do Rio de Janeiro quanto às mesorregiões

Mesorregiões	Resultado (%)		TOTAL	Valor de P <sup>1</sup>
	Positivo	Negativo		
Metropolitana	16 (2,61) <sup>a</sup>	83 (13,56)	<b>99 (16,18)</b>	<b>=0,0130</b>
Serrana	33 (5,39) <sup>a</sup>	118 (19,28)	<b>151 (24,67)</b>	
Lagos	16 (2,61) <sup>a</sup>	84 (13,73)	<b>100 (16,34)</b>	
Norte	14 (2,29) <sup>a</sup>	81 (13,24)	<b>95 (15,52)</b>	
Noroeste	9 (1,47) <sup>b</sup>	49 (8,01)	<b>58 (9,48)</b>	
Médio-Paraíba	16 (2,61) <sup>a</sup>	35 (5,72)	<b>51 (8,33)</b>	
Centro-Sul	20 (3,27) <sup>a</sup>	38 (6,21)	<b>58 (9,48)</b>	
<b>TOTAL</b>	<b>124 (20,26)</b>	<b>488 (79,74)</b>	<b>612 (100)</b>	

<sup>1</sup> Pelo Teste do  $\chi^2$

Letras iguais na coluna não diferem estatisticamente com intervalo de confiança de 95%.

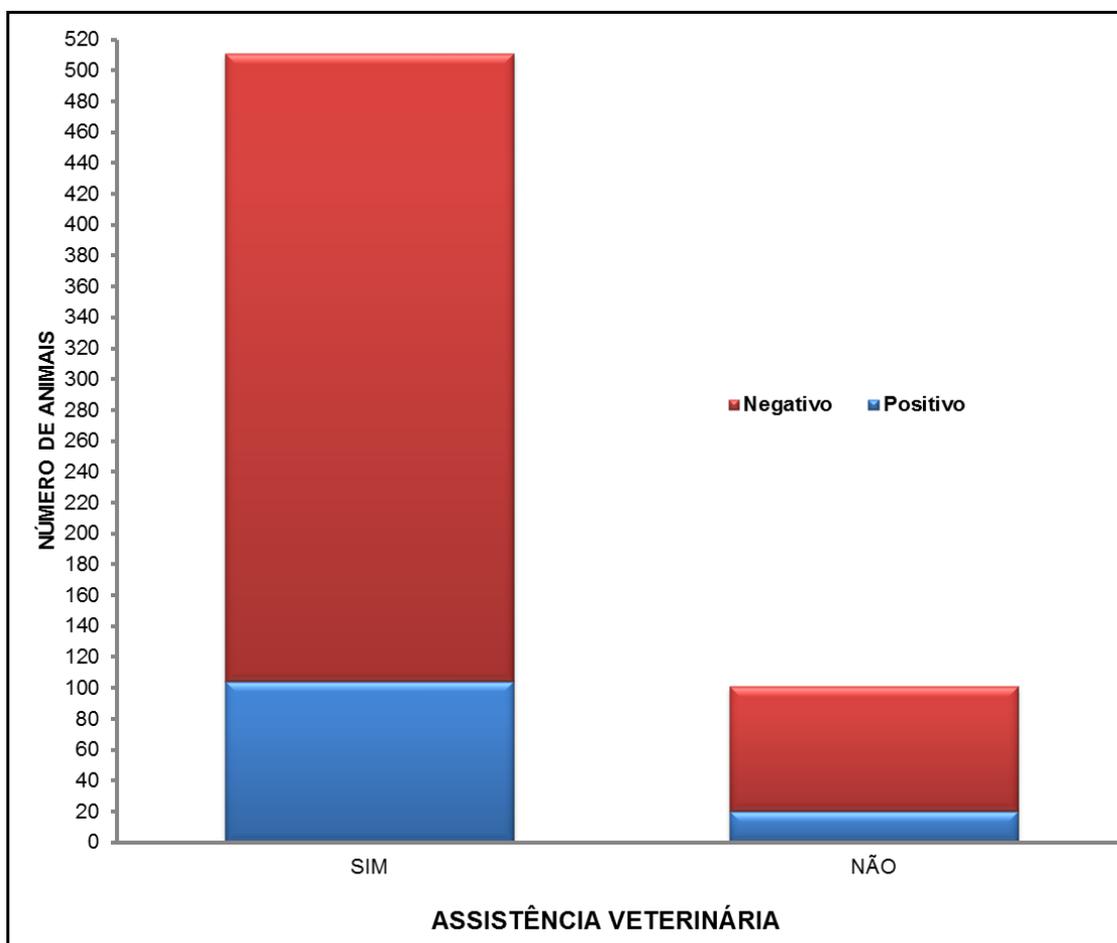


Figura 6. Frequência de equídeos soropositivos e negativos para *A. phagocytophilum* em propriedades do estado do Rio de Janeiro, Brasil, com assistência veterinária (16,99% e 66,50%) comparadas, pelo teste do  $\chi^2$ , com propriedades sem assistência veterinária (3,27% e 13,24%), respectivamente ( $p=0,9000$ ).

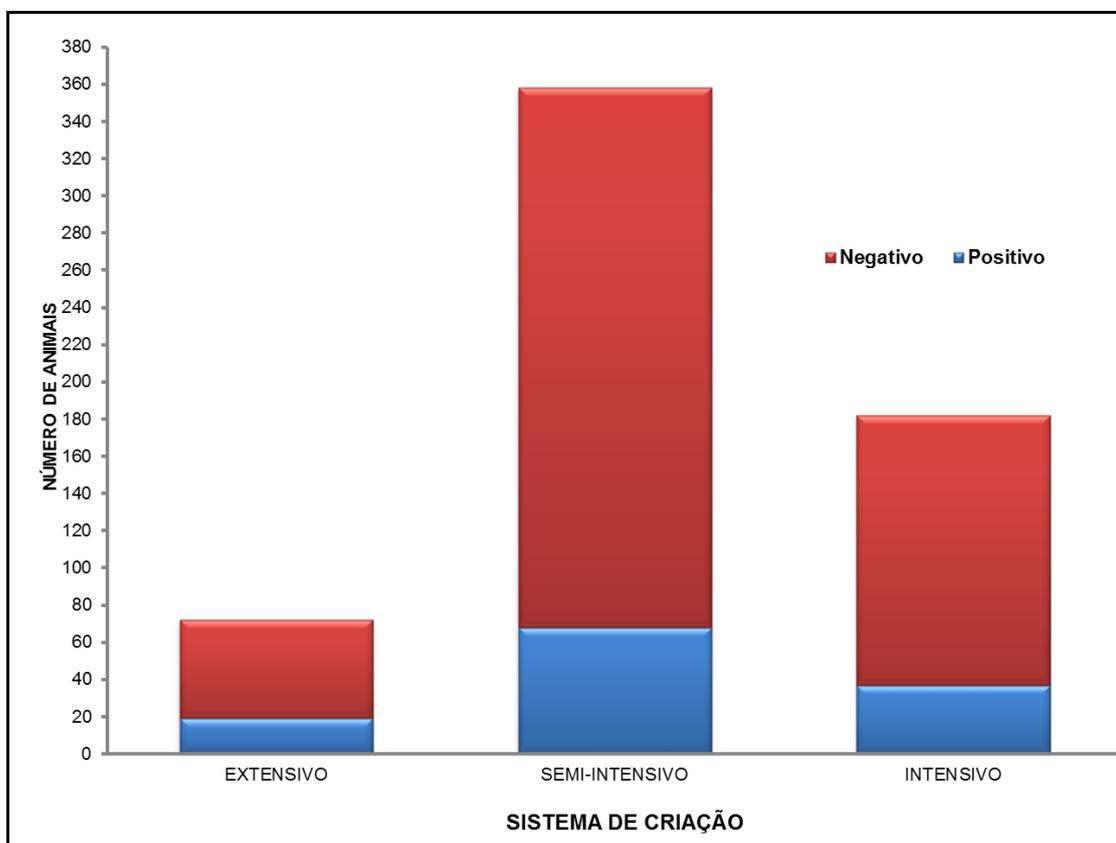


Figura 7. Frequência de equídeos soropositivos e negativos para *A. phagocytophilum* em propriedades do estado do Rio de Janeiro, Brasil, com manejo extensivo (3,10% e 8,66%), semi-intensivo (11,11% e 47,39%) e intensivo (6,05% e 23,69%) comparadas pelo teste do  $\chi^2$  ( $p=0,3625$ ), respectivamente.

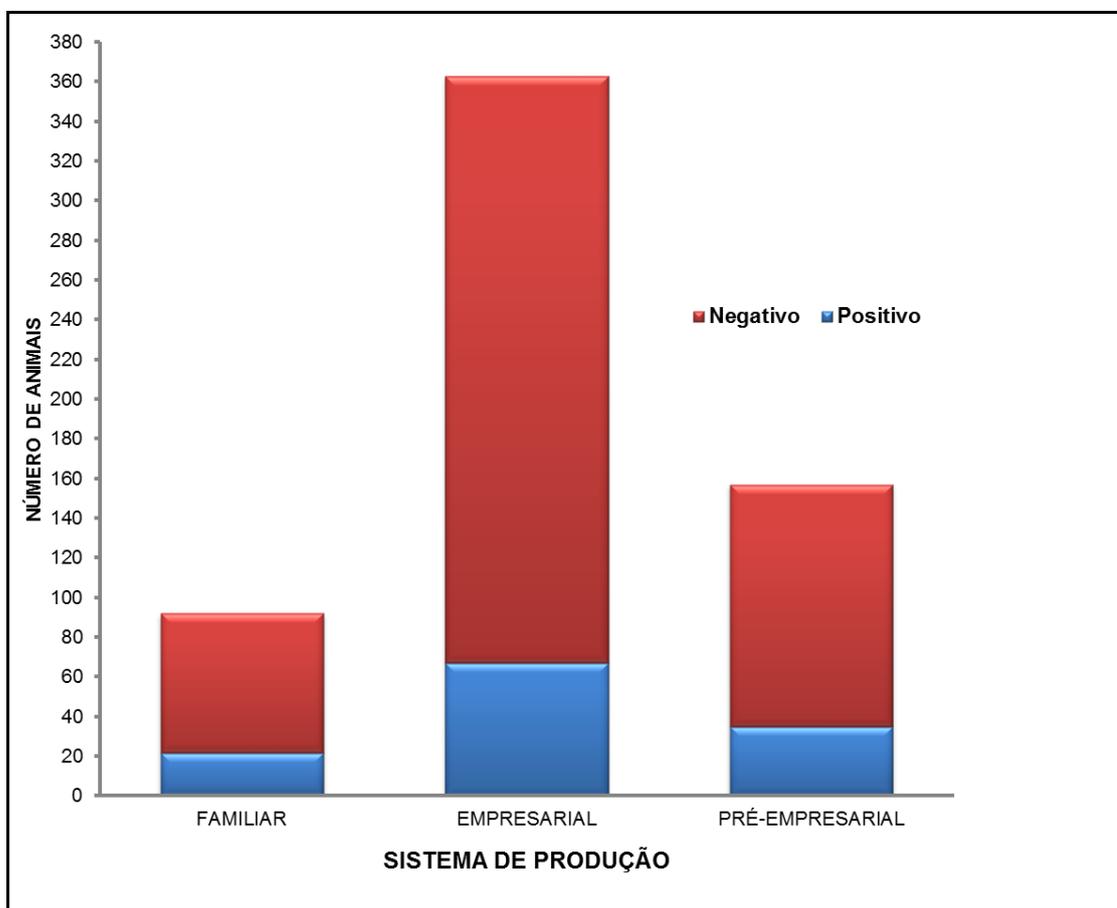


Figura 8. Frequência de equídeos soropositivos e negativos para *A. phagocytophilum* em propriedades do estado do Rio de Janeiro, Brasil, com sistema familiar de produção (3,59% e 11,44%), empresarial (10,95% e 48,37%) e pré-empresarial (5,72% e 19,93%), comparadas pelo teste do  $\chi^2$  ( $p= 0,3884$ ), respectivamente.

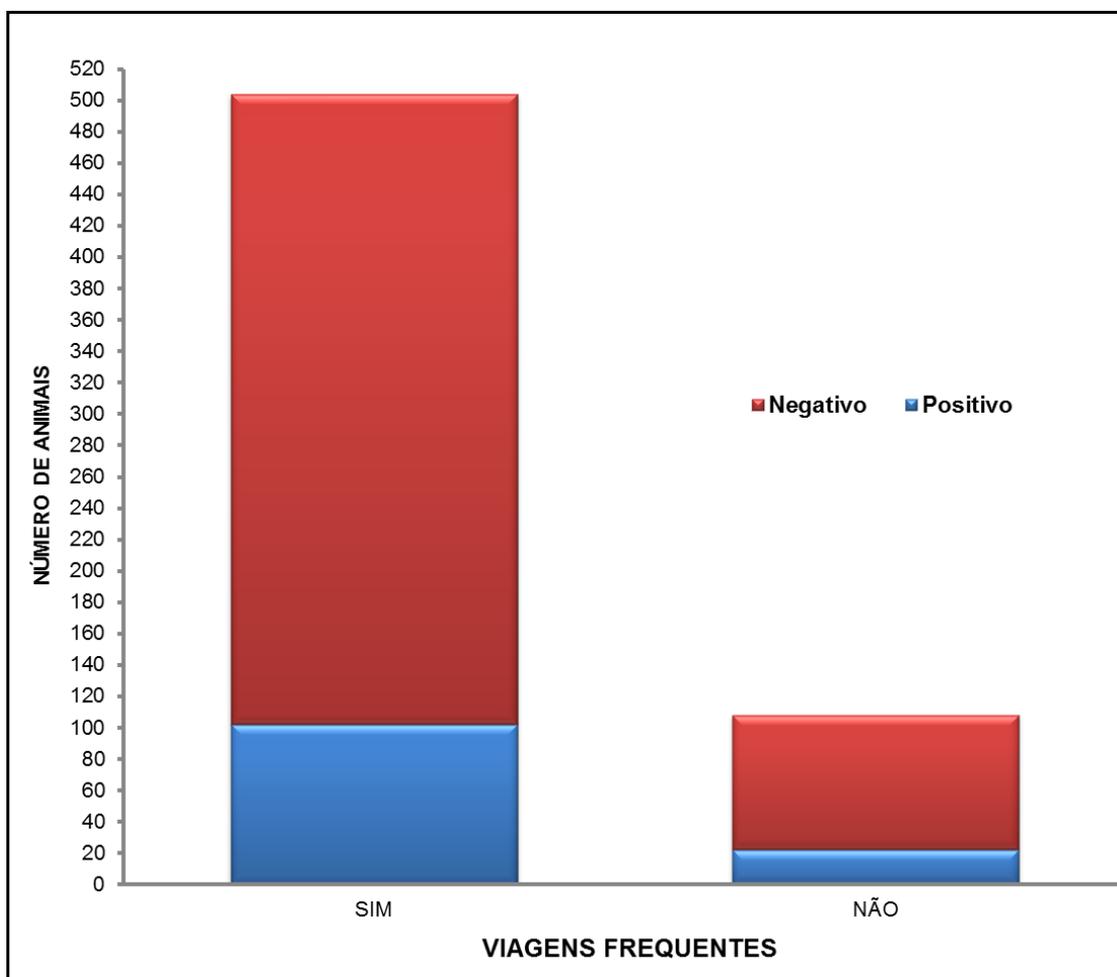


Figura 9. Frequência de equídeos soropositivos e negativos para *A. phagocytophilum* em propriedades do estado do Rio de Janeiro, Brasil, que faziam viagens frequentes (16,67% e 65,69%) comparados, pelo teste do  $\chi^2$ , com os animais que não viajavam frequentemente (3,59% e 14,05%), respectivamente ( $p=0,9752$ ).

Dos 612 equídeos avaliados, 10,46% apresentaram anticorpos anti-*A. phagocytophilum* em propriedades que não recebiam animais para reprodução, seguidos de 5,07% e 4,74% dos animais de propriedades que raramente e frequentemente tinham entradas de animais para reprodução, respectivamente. Estas diferenças não foram estatisticamente significativas ( $p=0,3624$ ) para risco da infecção nos rebanhos (Figura 10).

A alimentação não foi caracterizada como fator de risco ( $p=0,4523$ ) associado à infecção por *A. phagocytophilum* nos equídeos criados no estado do Rio de Janeiro e avaliados nesta pesquisa (Figura 11).

Quanto à suplementação alimentar em época de estiagem, foi relatada a utilização de feno de alfafa, *Medicago sativa*; tifton ou coast cross, *Cynodon* spp. Também como suplementação verificou-se a utilização de forragens como o quicuío, *Braquiaria humidicula*; capim napier, *Pennisetum purpurium*; capim angola, *Brachiaria mutica* e o tifton. Outro tipo de suplementação foi relatado durante inquérito epidemiológico, como a aveia, linhaça, milho e sorgo. Neste caso, a utilização de suplementação alimentar foi considerada fator de risco, assim como as forragens, outros suplementos e a não suplementação alimentar, quando comparados a utilização de feno e concentrado (Tabela 4).

A suplementação mineral foi utilizada em 94,44% dos equídeos pesquisados e destes apenas 1,63% recebia sal mineral comum, não sendo observado fator de risco ( $p=0,5626$ ) quando a este tipo de suplementação (Figura 12).

Na avaliação do manejo sanitário dos equídeos pesquisados, levou-se em consideração a condição física, alimentação, condições da água de beber e o treinamento. Desta forma, consideramos o manejo como excelente, bom, regular e ruim, observando positividade para *A. phagocytophilum* em 1,14%, 8,66%, 8,50 e 1,96%, respectivamente, sendo esta variável não significativa ( $p=0,2319$ ) como fator de risco para a infecção dos equídeos (Figura 13).

Como condição higiênico-sanitária, foram avaliadas as baias (pisos, cama, bebedouro e presença de ectoparasitas), estábulo (limpeza e organização), farmácia (limpeza e organização) e o pasto (limpo ou sujo). Observou-se que os animais criados em condições boa e regular correm maior risco de infecção por *A. phagocytophilum* que os animais que vivem sobre condições excelente e ruim (Tabela 5).

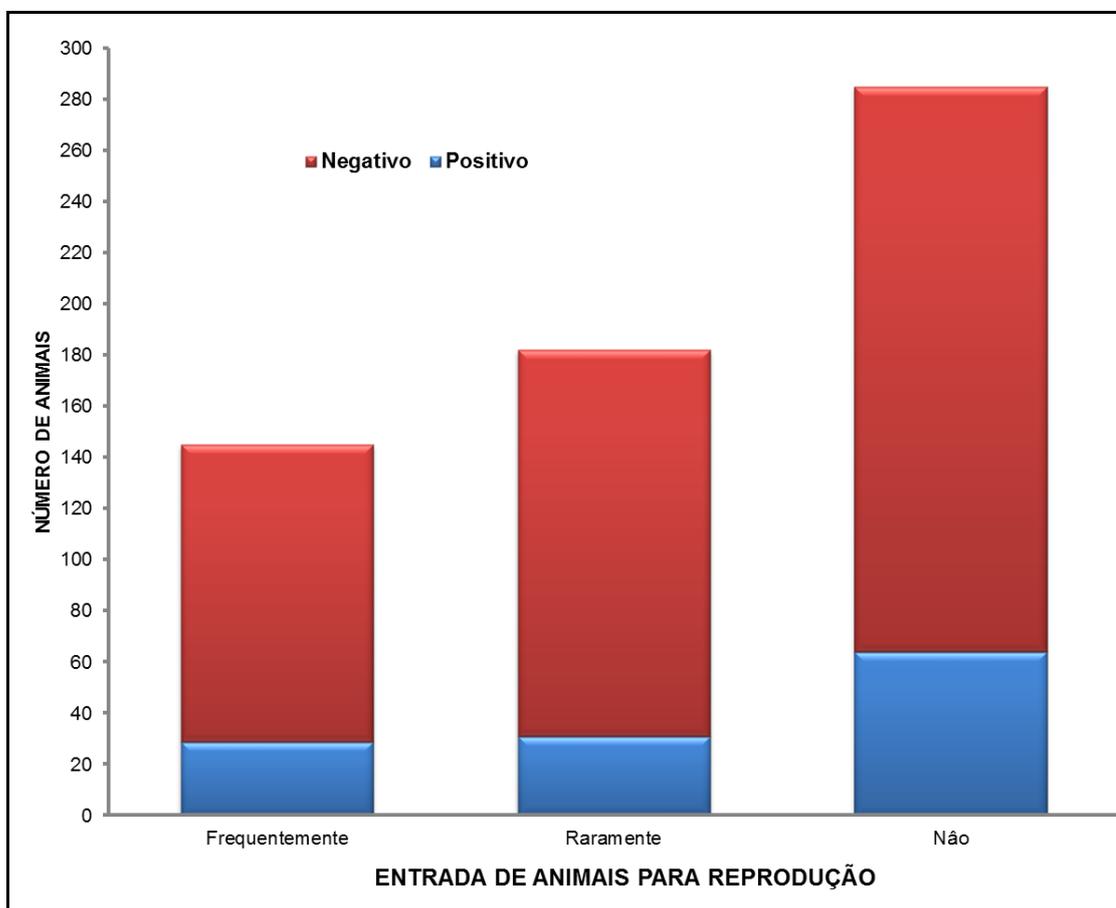


Figura 10. Frequência de equídeos soropositivos e negativos para *A. phagocytophilum* em propriedades do estado do Rio de Janeiro, Brasil, que receberam animais para reprodução frequentemente (4,74% e 18,95%), raramente (5,07% e 24,67%) e em propriedades que não receberam animais para reprodução (10,46% e 36,11%), comparados pelo teste do  $\chi^2$  ( $p=0,3624$ ), respectivamente.

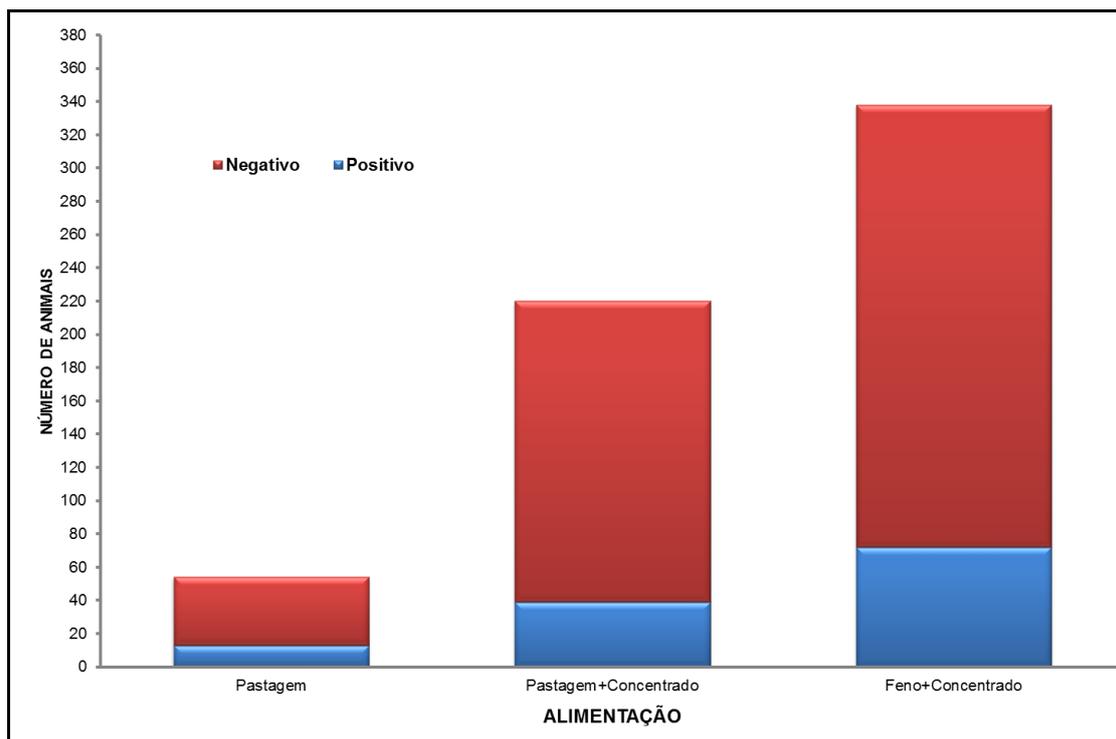


Figura 11. Frequência de equídeos soropositivos e negativos para *A. phagocytophilum* em propriedades do estado do Rio de Janeiro, Brasil, com alimentação somente de pastagem (2,12% e 6,70%), com pastagem e concentrado (6,37% e 29,58%) e aos que se alimentavam com feno e concentrado (11,76% e 43,46%) comparados pelo teste do  $\chi^2$  ( $p= 0,4523$ ), respectivamente.

**Tabela 4.** Frequência e risco da infecção por *Anaplasma phagocytophilum* em equídeos no estado do Rio de Janeiro quanto à suplementação alimentar na época da seca

Alimentação suplementar	Resultado (%)		TOTAL	Valor de P <sup>1</sup>
	Positivo	Negativo		
Feno	15 (2,45) <sup>b</sup>	115 (18,79)	130 (21,24)	=0,0001
FORAGEM	27 (4,41) <sup>a</sup>	70 (11,44)	97 (15,85)	
Concentrado	9 (1,47) <sup>b</sup>	82 (13,40)	91 (14,87)	
Outros	20 (3,27) <sup>a</sup>	40 (6,54)	60 (9,80)	
Não	53 (8,66) <sup>a</sup>	181 (29,58)	234 (38,24)	
<b>TOTAL</b>	<b>124 (20,26)</b>	<b>488 (79,74)</b>	<b>612 (100)</b>	

<sup>1</sup> Pelo Teste do  $\chi^2$

Letras iguais na coluna não diferem estatisticamente com intervalo de confiança de 95%.

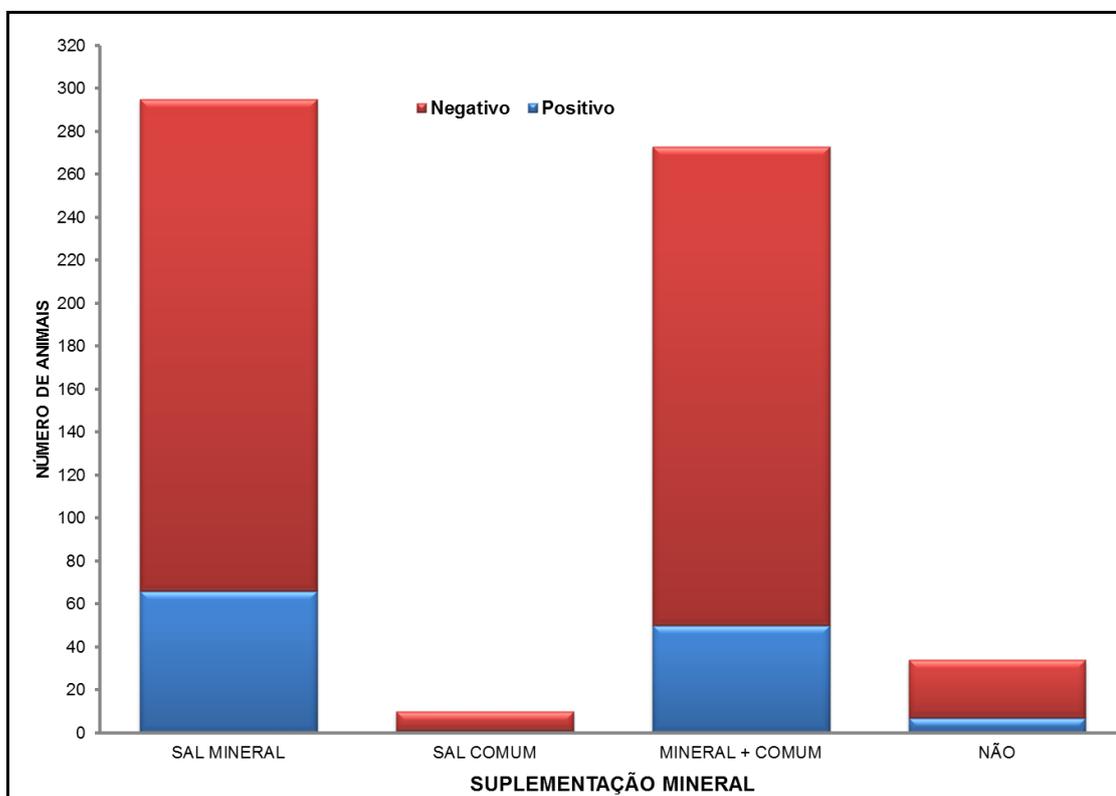


Figura 12. Frequência de equídeos soropositivos e negativos para *A. phagocytophilum* em propriedades do estado do Rio de Janeiro, Brasil, que receberam sal mineral (10,78% e 37,42%), sal mineral comum (0,16% e 1,47%), sal mineral com sal comum (8,17% e 36,44%) e aqueles que não recebiam suplementação mineral (1,14% e 4,41%) comparados pelo teste do  $\chi^2$  ( $p=0,5626$ ), respectivamente.

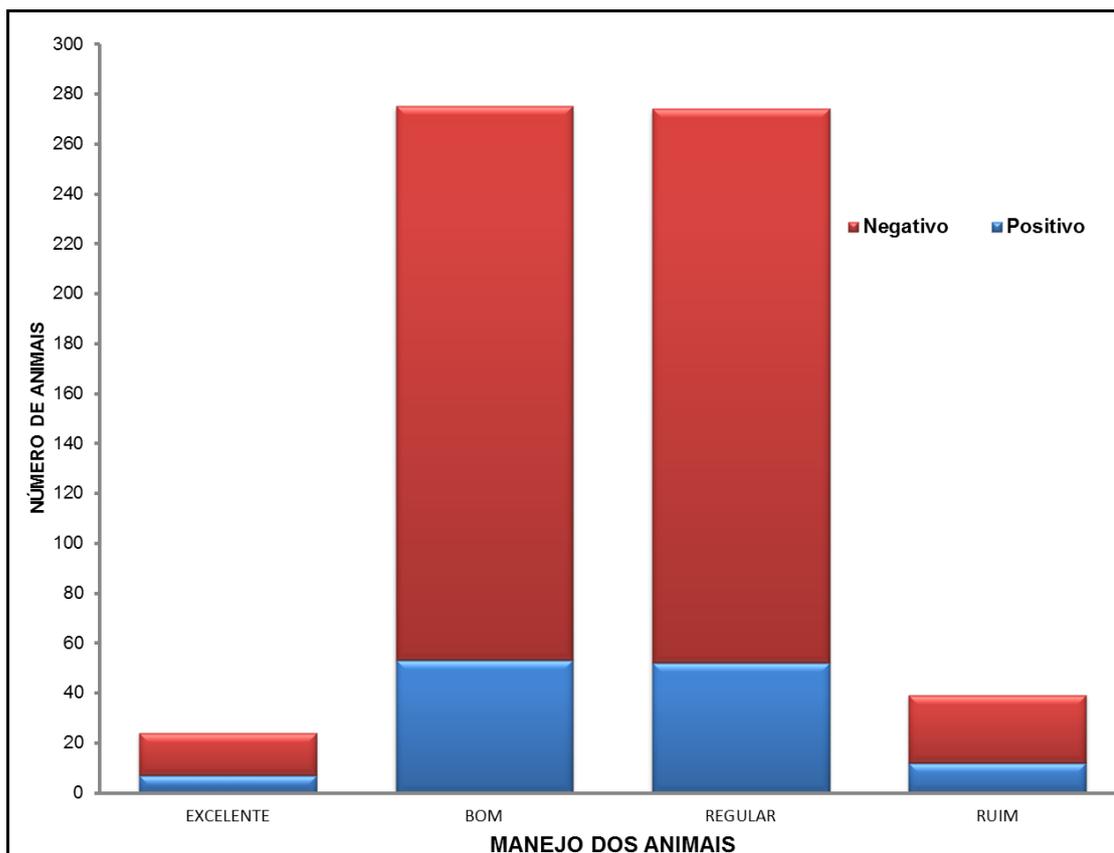


Figura 13. -Frequência de equídeos soropositivos e negativos para *A. phagocytophilum* em propriedades do estado do Rio de Janeiro, Brasil, com manejo excelente (1,14% e 2,78%), bom (8,66% e 36,27%;), regular (8,50% e 36,27%) e ruim (1,96% e 4,41%) comparados pelo teste do  $\chi^2$  ( $p=0,2319$ ), respectivamente.

**Tabela 5.** Frequência e risco da infecção por *Anaplasma phagocytophilum* em equídeos no estado do Rio de Janeiro quanto às condições higiênic-sanitárias das propriedades, levando em consideração a condição das baias, estábulo, farmácia e pastagem

Condição higiênico-sanitária	Resultado(%)		TOTAL	Valor de $P^1$
	Positivo	Negativo		
Excelente	7 (1,14) <sup>b</sup>	17 (2,78)	<b>24 (3,92)</b>	<b>=0,0136</b>
Boa	53 (8,66) <sup>a</sup>	222 (36,27)	<b>275 (44,93)</b>	
Regular	53 (8,66) <sup>a</sup>	235 (38,40)	<b>288 (47,06)</b>	
Ruim	11 (1,80) <sup>b</sup>	14 (2,29)	<b>25 (4,08)</b>	
<b>TOTAL</b>	<b>124 (20,26)</b>	<b>488 (79,74)</b>	<b>612 (100)</b>	

<sup>1</sup> Pelo Teste do  $\chi^2$

Letras iguais na coluna não diferem estatisticamente com intervalo de confiança de 95%.

A criação de outros animais como pequenos ruminantes, avicultura, piscicultura, etc, exceto bovinos, foi observada frequentemente nas propriedades, não sendo esta variável fator de risco ( $p=0,2500$ ) para a infecção por *A. phagocytophilum* nos equídeos pesquisados (Figura 14).

Além do recebimento de animais para reprodução, foram avaliados como fator de risco para infecção de *A. phagocytophilum* o tipo de reprodução utilizado nos equídeos, observando-se diferença estatística (Tabela 6), quando nenhum tipo de tecnologia era utilizado.

A utilização de carrapaticidas não foi um fator protetor para a infecção por *A. phagocytophilum* em equídeos do estado do Rio de Janeiro, o que é observado pela menor sororreatividade dos animais que não recebiam tratamento de ectoparasitas ( $p=0,0428$ ) em comparação com os que recebiam tratamento (Tabela7).

Foi observado que 90,36 % dos animais participavam de eventos ou aglomerações com outros equídeos. Esta variável não foi considerada fator de risco ( $p=0,9752$ ) para a infecção por *A. phagocytophilum* nos animais pesquisados (Figura 15).

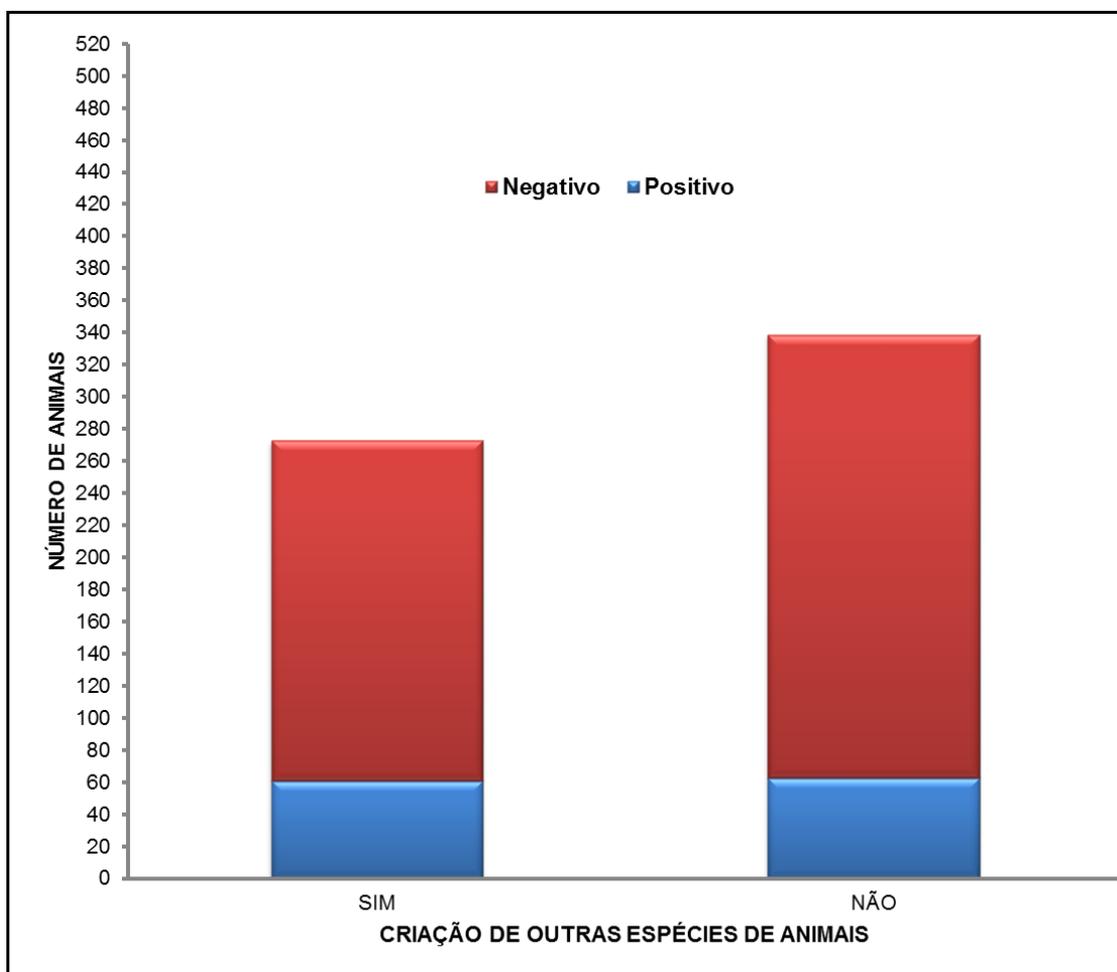


Figura 14. -Frequência de equídeos soropositivos e negativos para *A. phagocytophilum* em propriedades do estado do Rio de Janeiro, Brasil, com outras criações concomitantes (9,97% e 34,64%) e sem criações concomitantes (10,29% e 45,10%) comparadas pelo teste do  $\chi^2$  ( $p=0,2500$ ), respectivamente.

**Tabela 6.** Frequência e risco da infecção por *Anaplasma phagocytophilum* em equídeos no estado do Rio de Janeiro quanto ao manejo reprodutivo utilizado na propriedade

Tipo de Reprodução	Resultado (%)		TOTAL	Valor de P <sup>1</sup>
	Positivo	Negativo		
MN <sup>2</sup>	24 (3,92) <sup>b</sup>	155 (25,33)	<b>179 (29,25)</b>	
IA <sup>3</sup>	11 (1,80) <sup>b</sup>	45 (7,35)	<b>56 (9,15)</b>	
MN + IA	25 (4,08) <sup>b</sup>	76 (12,42)	<b>101 (16,50)</b>	
TE <sup>4</sup>	0 (0,00) <sup>c</sup>	10 (1,63)	<b>10 (1,63)</b>	<b>=0,0038</b>
Nenhuma	42 (6,86) <sup>a</sup>	161 (26,31)	<b>203 (33,17)</b>	
MN+IA+TE	22 (3,59) <sup>b</sup>	41 (6,70)	<b>63 (10,29)</b>	
<b>TOTAL</b>	<b>124 (20,26)</b>	<b>488 (79,74)</b>	<b>612 (100)</b>	

<sup>1</sup> Pelo Teste do  $\chi^2$

<sup>2</sup> Monta natural

<sup>3</sup> Inseminação artificial

<sup>4</sup> Transferência de embrião

Letras iguais na coluna não diferem estatisticamente com intervalo de confiança de 95%.

**Tabela 7.** Frequência e risco da infecção por *Anaplasma phagocytophilum* em equídeos no estado do Rio de Janeiro quanto ao tratamento de ectoparasitas

Tratamento de Ectoparasitas	Resultado (%)		Total	Valor de P <sup>1</sup>
	Positivo	Negativo		
Sim	101 (16,50)	431 (70,42)	<b>532 (86,93)</b>	
Não	23 (3,76)	57 (9,31)	<b>80 (13,07)</b>	<b>=0,0428</b>
<b>TOTAL</b>	<b>124 (20,26)</b>	<b>488 (79,74)</b>	<b>612 (100)</b>	

<sup>1</sup> Pelo Teste do  $\chi^2$

Letras iguais na coluna não diferem estatisticamente com intervalo de confiança de 95%.

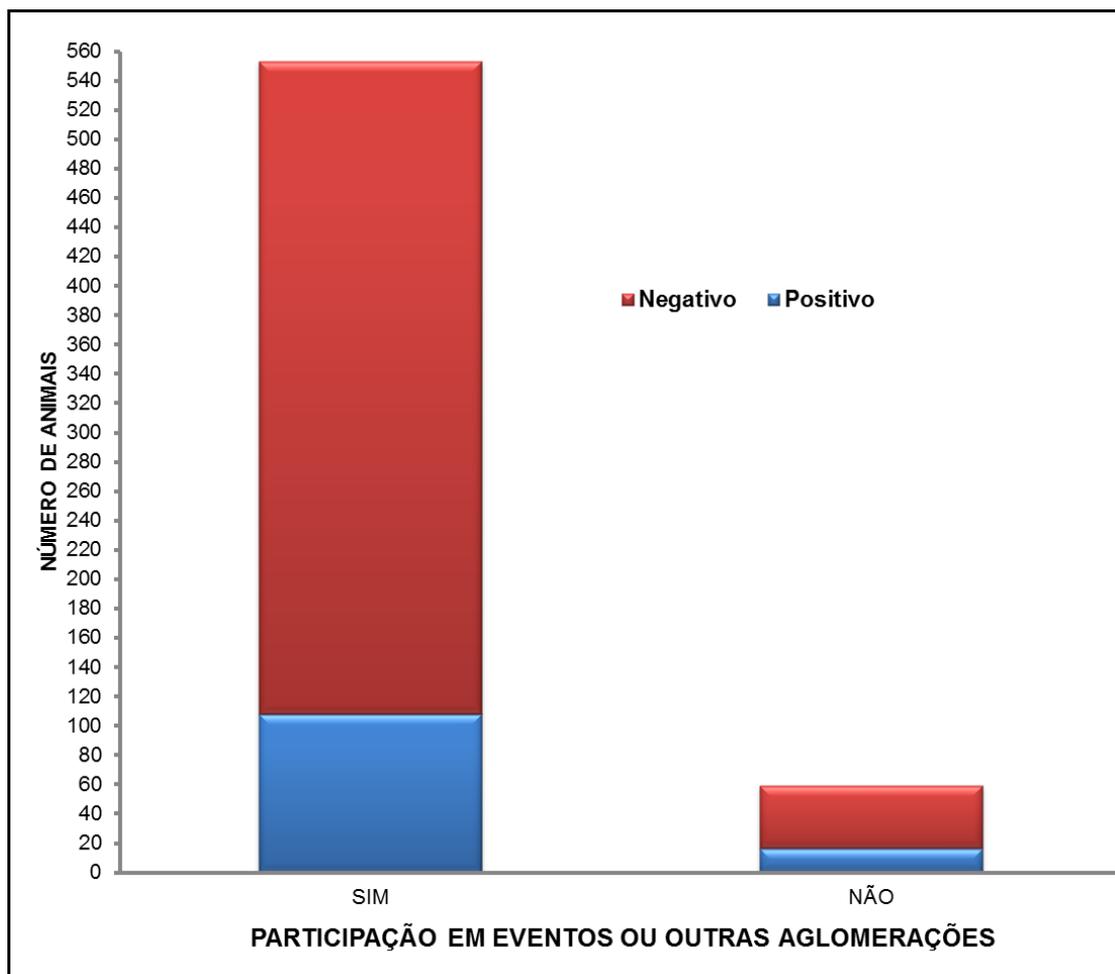


Figura15. Frequência de equídeos soropositivos e negativos para *A. phagocytophilum* em propriedades do estado do Rio de Janeiro, Brasil, que participam de eventos e aglomerações (17,65% e 72,71%), comparadas pelo teste do  $\chi^2$  ( $p=0,1680$ ) com animais que não participam (2,61% e 7,03%), respectivamente.

Com relação aos dados do inquérito epidemiológico referentes à infecção, foram avaliadas nesta pesquisa o histórico de anemia, presença de cães, fonte de água, propriedade com criação de bovinos concomitantemente ou associada, presença de animais silvestres e comercialização de equídeos. Em todas estas as variáveis não foram detectados riscos para a infecção por *A. phagocytophilum* pelo teste  $\chi^2$ . Os dados relativos à frequência da infecção destas variáveis e uma visão espacial pode ser vista nas figuras de 16 a 21.

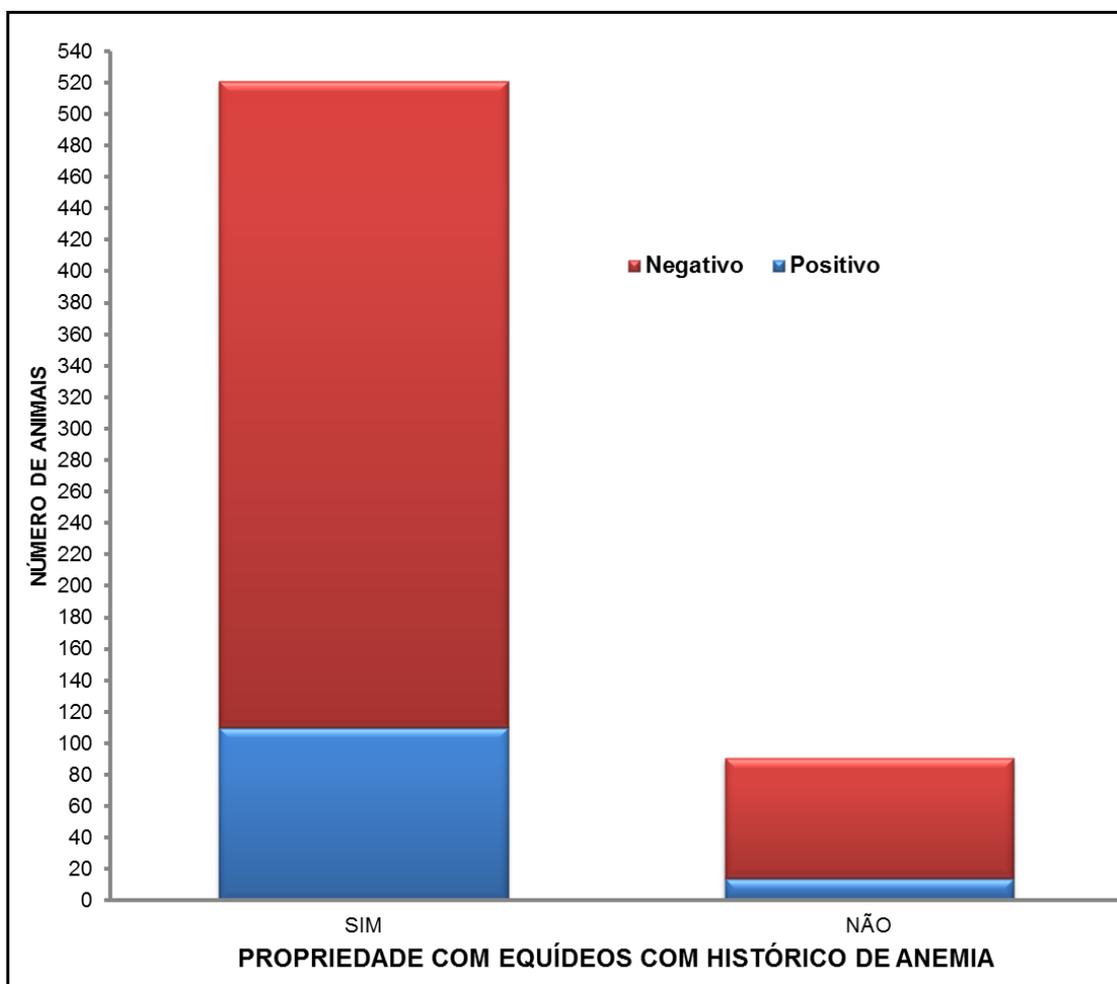


Figura 16. -Frequência de equídeos soropositivos e negativos para *A. phagocytophilum* em propriedades do estado do Rio de Janeiro, Brasil, com animais com histórico de anemia (17,97%; 67,16%) e propriedades que não tem histórico (2,29%, 12,58%), comparadas pelo teste do  $\chi^2$  ( $p=0,2097$ ), respectivamente.

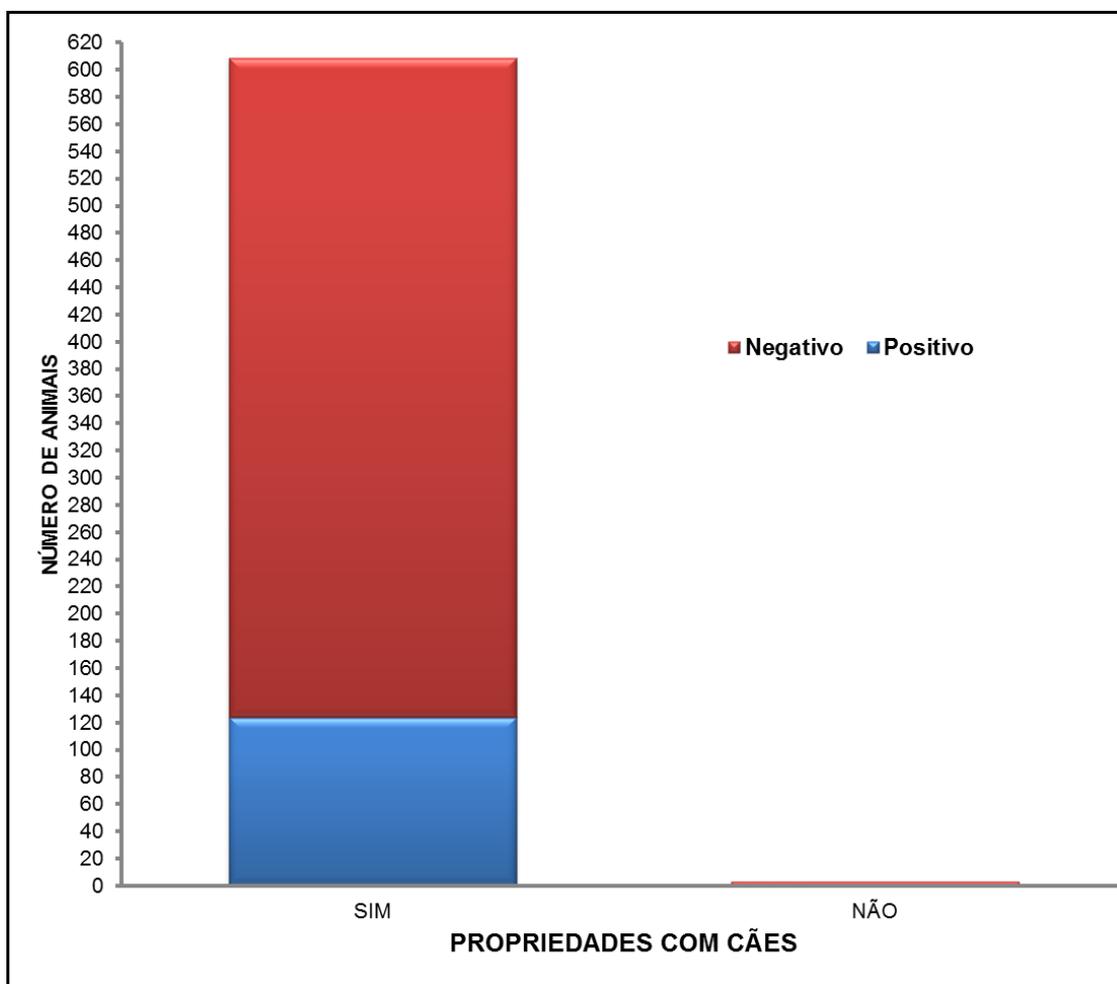


Figura 17. Frequência de equídeos soropositivos e negativos para *A. phagocytophilum* em propriedades do estado do Rio de Janeiro, Brasil, com presença de cães (20,26%; 79,25%), comparadas pelo teste do  $\chi^2$  com aquelas onde não se observou a presença de cães (0,00%0,49%), ( $p=0,3814$ ), respectivamente.

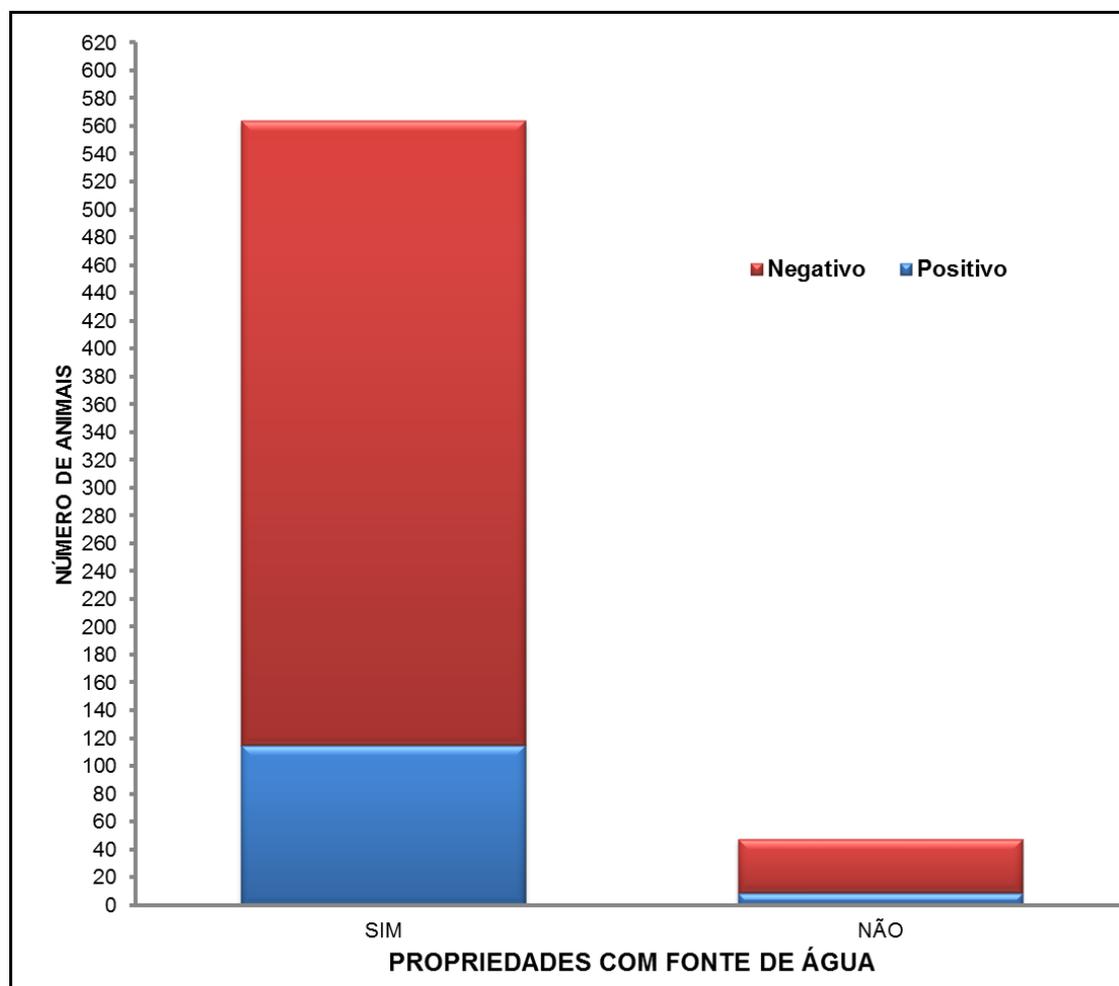


Figura 18. Frequência de equídeos soropositivos e negativos para *A. phagocytophilum* em propriedades do estado do Rio de Janeiro, Brasil, com abastecimento de água de fonte própria (18,79%; 73,37%), comparadas às propriedades com rede de abastecimento (1,47%; 6,37) pelo teste do  $\chi^2$  ( $p= 0,7861$ ), respectivamente.

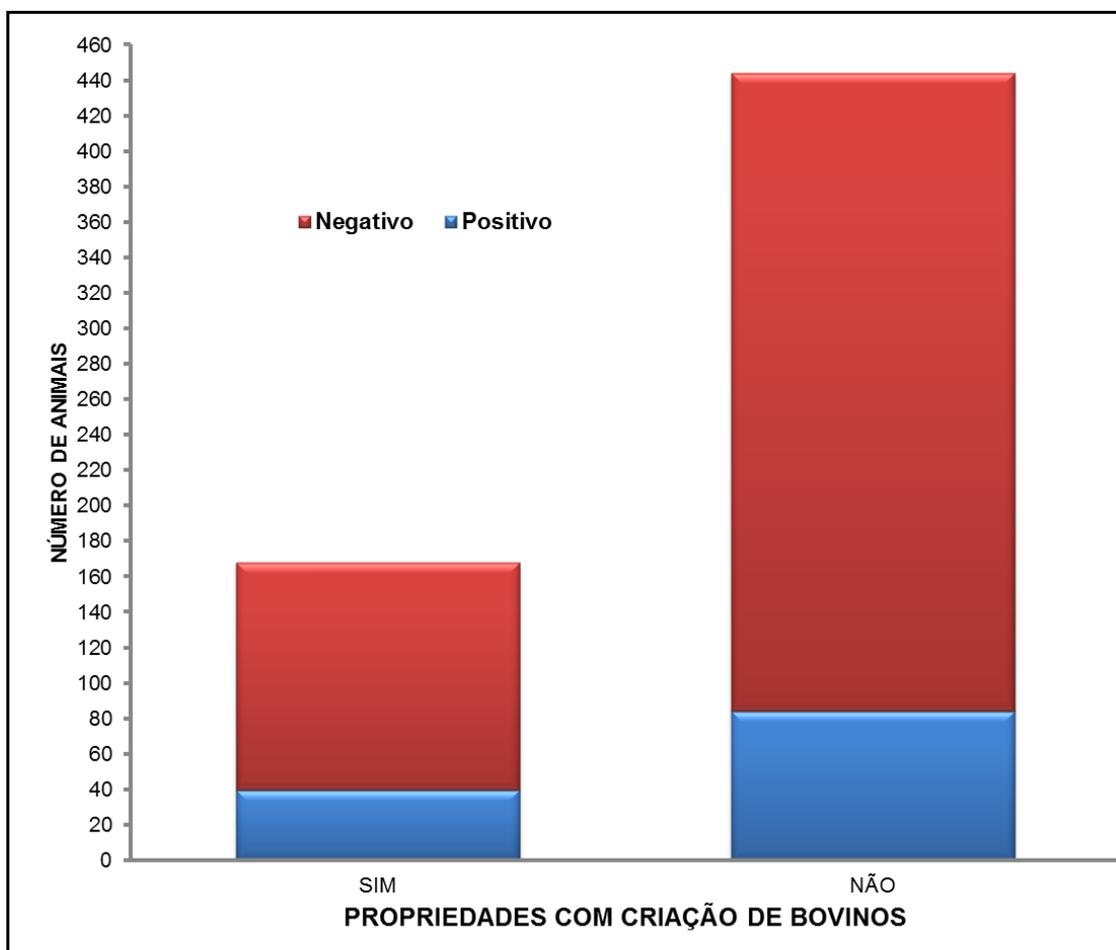


Figura 19. -Frequência de equídeos soropositivos e negativos para *A. phagocytophilum* em propriedades do estado do Rio de Janeiro, Brasil, com criação de bovinos associada (6,54%; 20,92%), comparada pelo teste do  $\chi^2$  ( $p= 0,1792$ ) com aquelas com criação exclusiva de equídeos (13,73%; 58,82%), respectivamente.

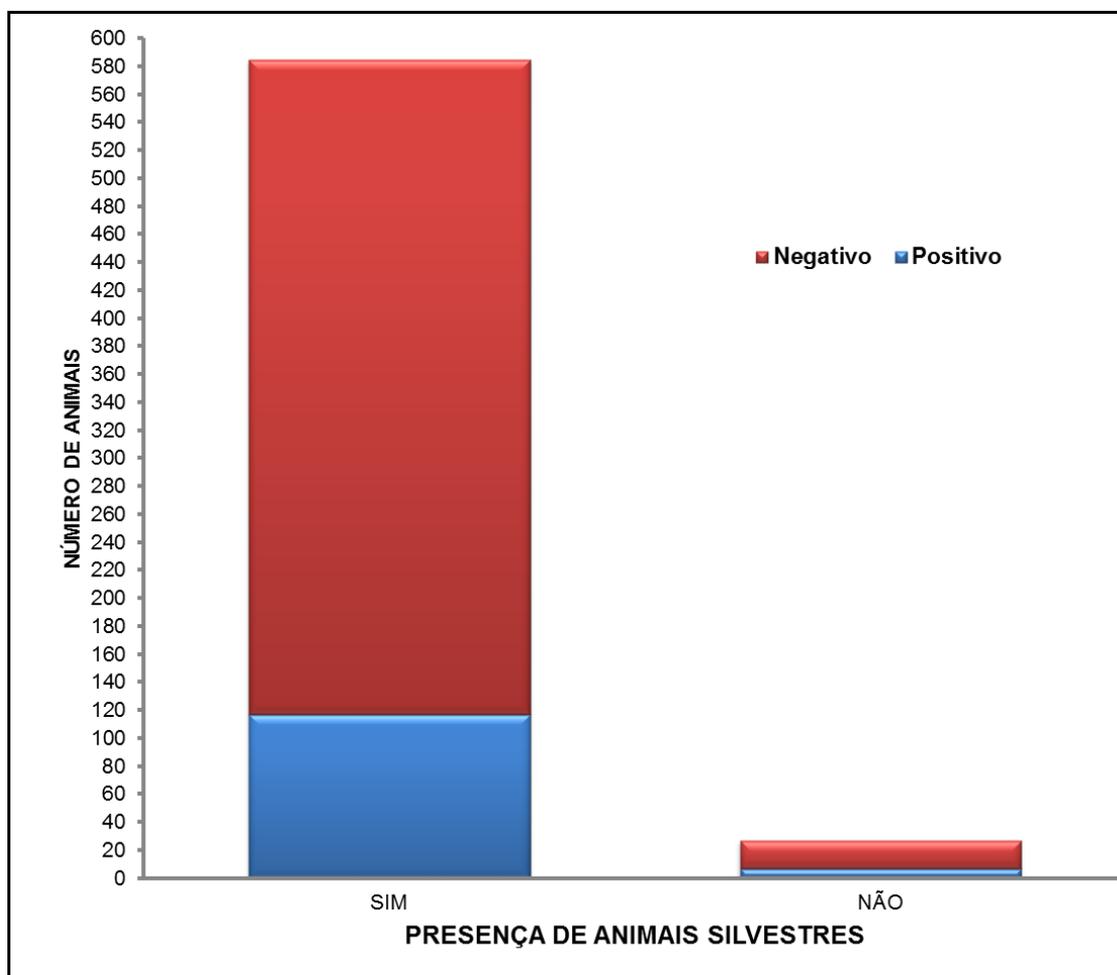


Figura 20. Frequência de equídeos soropositivos e negativos para *A. phagocytophilum* em propriedades do estado do Rio de Janeiro, Brasil, com presença de animais silvestres (19,12%; 76,47%), comparada pelo teste do  $\chi^2$  ( $p= 0,4539$ ) com as que não relataram a presença destes animais (1,14%; 3,27%), respectivamente.

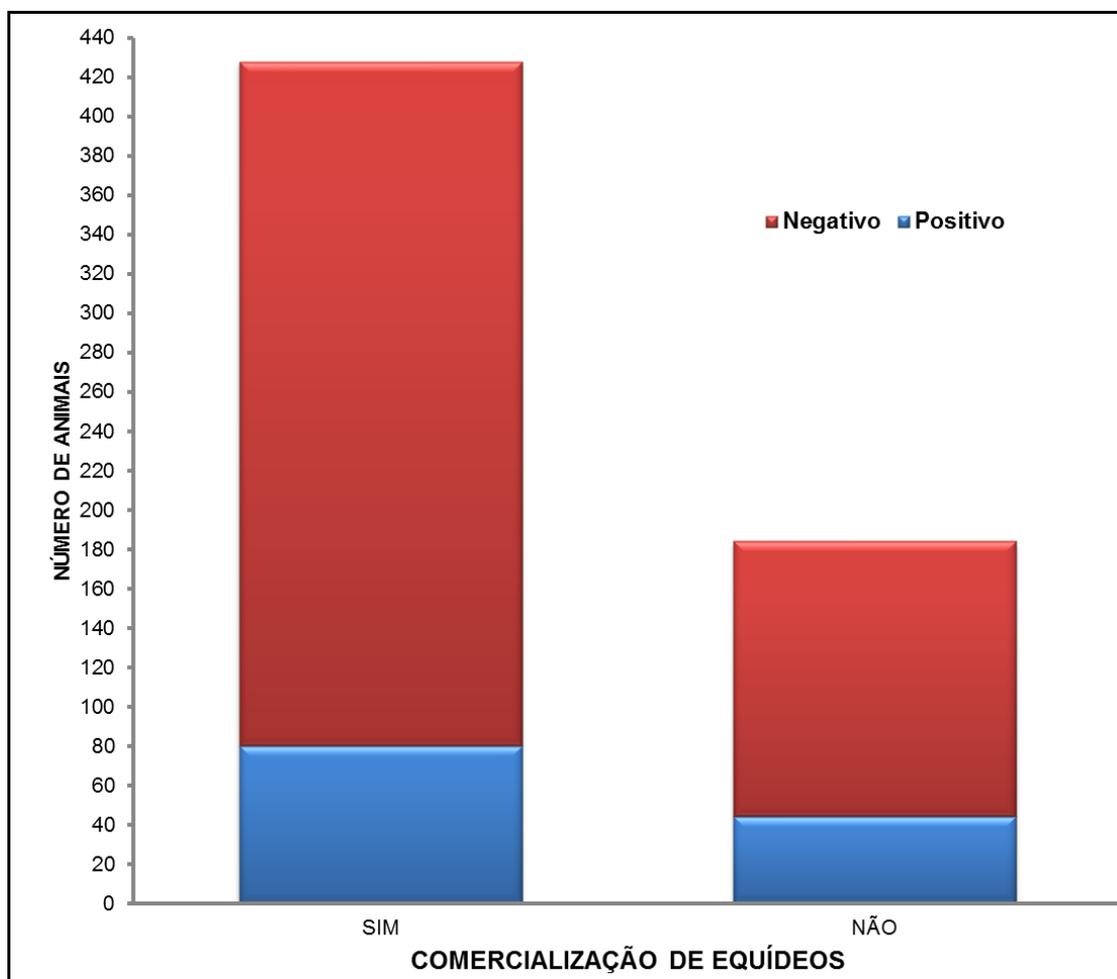


Figura 21. Frequência de equídeos soropositivos e negativos para *A. phagocytophilum* em propriedades do estado do Rio de Janeiro, Brasil, que comercializam equídeos (13,07%; 56,86%), comparada pelo teste do  $\chi^2$  ( $p= 0,1406$ ) com as propriedades que não comercializam (7,19%, 22,88%), respectivamente.

Na avaliação individualizada, observou-se que há uma distribuição uniforme de machos e fêmeas nos rebanhos e que esta variável não foi considerada como fator de risco ( $p=0,0984$ ) para positividade dos equídeos analisados (Figura 22).

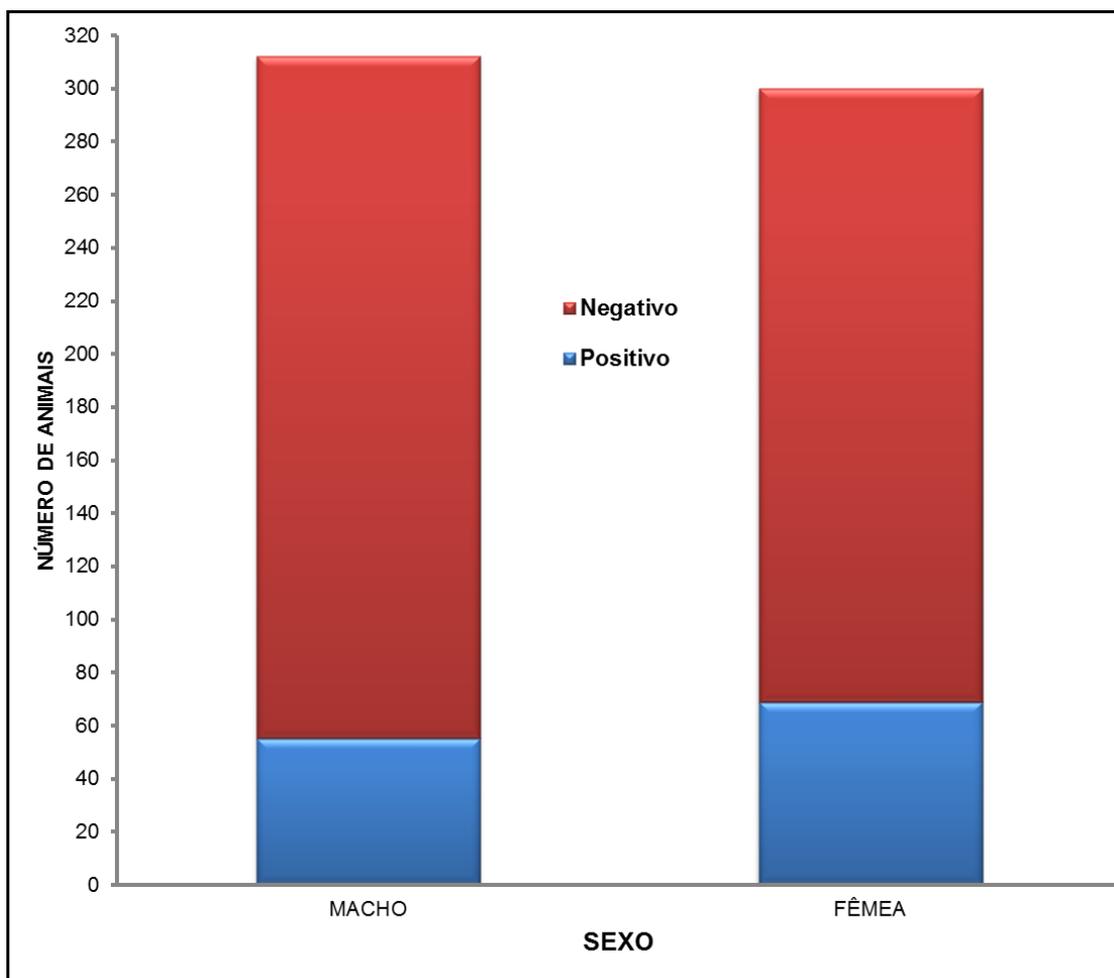


Figura 22. Frequência de equídeos soropositivos e negativos para *A. phagocytophilum* em propriedades do estado do Rio de Janeiro, Brasil, com relação aos animais machos (8,99%; 41,99%), comparada pelo teste do  $\chi^2$  ( $p= 0,0984$ ) com as fêmeas (11,27%, 37,75%), respectivamente.

Quando foi avaliada a idade dos animais em relação à presença de anticorpos anti-*A. phagocytophilum* nos equídeos, verificou-se que até os 15 anos há risco da infecção (Tabela 8). Quando esta variável foi estratificada em faixa etária avaliando-se potros jovens (0-2 anos), potros maduros (2-4 anos), animais adultos (5-14 anos) e idosos (acima de 14 anos), verificou-se frequência de soropositividade de 2,94%, 5,07%, 10,62% e 1,63, respectivamente, sem significância estatística ( $p=0,8828$ ) entre estes (Figura 23).

Nesta pesquisa, verificou-se que a raça tem influência no risco de infecção por *A. phagocytophilum* em equídeos no estado do Rio de Janeiro, não sendo observados animais sororreativos nas raças Pampa e Paint Horse (Tabela 9).

A procedência dos animais foi considerada um fator de risco para a infecção por *A. phagocytophilum* nos equídeos do Rio de Janeiro, quando estes são provenientes da propriedade pesquisada ou de outro estado, comparados a outras origens (Tabela 10).

A atividade com que os equídeos desta pesquisa eram submetidos não foi considerada como fator de risco ( $p=0,2022$ ) para a infecção por *A. phagocytophilum* (Figura 24).

Anemia não está relacionada a fator de risco para a infecção por *A. phagocytophilum* em equídeos no estado do Rio de Janeiro, uma vez que foi verificado que animais sem anemia tiveram, estatisticamente, percentual maior de animais sororreativos (Tabela 11).

Foi observado que todos os animais recebiam vacinação antirrábica seguida de Herpes vírus tipo 1, Influenza equina, Encefalomielite viral equina (leste e oeste) e tétano e que a variedade de vacinas não influenciou estatisticamente ( $p=0,0928$ ), no risco de infecção por *A. phagocytophilum* nos equídeos desta pesquisa (Figura 25).

**Tabela 8.** Frequência e risco da infecção por *Anaplasma phagocytophilum* em equídeos no estado do Rio de Janeiro quanto à idade

Idade	Resultado (%)		TOTAL	Valor de P <sup>1</sup>
	Positivo	Negativo		
1	4 (0,65) <sup>a</sup>	32 (5,23)	<b>36 (5,88)</b>	<b>=0,0130</b>
2	14 (2,29) <sup>a</sup>	43 (7,03)	<b>57 (9,31)</b>	
3	24 (3,92) <sup>a</sup>	87 (14,22)	<b>111 (18,14)</b>	
4	7 (1,14) <sup>a</sup>	48 (7,84)	<b>55 (8,99)</b>	
5	12 (1,96) <sup>a</sup>	44 (7,09)	<b>56 (9,15)</b>	
6	10 (1,63) <sup>a</sup>	27 (4,41)	<b>37 (6,05)</b>	
7	8 (1,31) <sup>a</sup>	30 (4,90)	<b>38 (6,21)</b>	
8	10 (1,63) <sup>a</sup>	58 (9,48)	<b>68 (11,11)</b>	
9	8 (1,31) <sup>a</sup>	8 (1,31)	<b>16 (2,61)</b>	
10	4 (0,65) <sup>a</sup>	13 (2,12)	<b>17 (2,78)</b>	
11	5 (0,82) <sup>a</sup>	13 (2,12)	<b>18 (2,94)</b>	
12	1 (0,016) <sup>a</sup>	18 (2,94)	<b>19 (3,10)</b>	
13	2 (0,33) <sup>a</sup>	14 (2,29)	<b>16 (2,61)</b>	
14	5 (0,82) <sup>a</sup>	10 (1,63)	<b>15 (2,45)</b>	
15	4 (0,65) <sup>a</sup>	5 (0,82)	<b>9 (1,47)</b>	
16	0 (0,00) <sup>b</sup>	4 (0,65)	<b>4 (0,65)</b>	
17	1 (0,16) <sup>b</sup>	0 (0,00)	<b>1 (0,16)</b>	
18	2 (0,33) <sup>b</sup>	5 (0,82)	<b>7 (1,14)</b>	
19	1 (0,16) <sup>b</sup>	1 (0,16)	<b>2 (0,33)</b>	
20	0 (0,00) <sup>b</sup>	3 (0,49)	<b>3 (0,49)</b>	
21	0 (0,00) <sup>b</sup>	6 (0,98)	<b>6 (0,98)</b>	
22	0 (0,00) <sup>b</sup>	6 (0,96)	<b>6 (0,98)</b>	
23	0 (0,00) <sup>b</sup>	5 (0,82)	<b>5 (0,82)</b>	
24	0 (0,00) <sup>b</sup>	3 (0,49)	<b>3 (0,49)</b>	
25	0 (0,00) <sup>b</sup>	3 (0,49)	<b>3 (0,49)</b>	
26	1 (0,16) <sup>b</sup>	0 (0,00)	<b>1 (0,16)</b>	
27	1 (0,16) <sup>b</sup>	0 (0,00)	<b>1 (0,16)</b>	
28	0 (0,00) <sup>b</sup>	2 (0,33)	<b>2 (0,33)</b>	
<b>TOTAL</b>	<b>124 (20,26)</b>	<b>488 (79,74)</b>	<b>612 (100)</b>	

<sup>1</sup> Pelo Teste do  $\chi^2$

Letras iguais na coluna não diferem estatisticamente com intervalo de confiança de 95%.

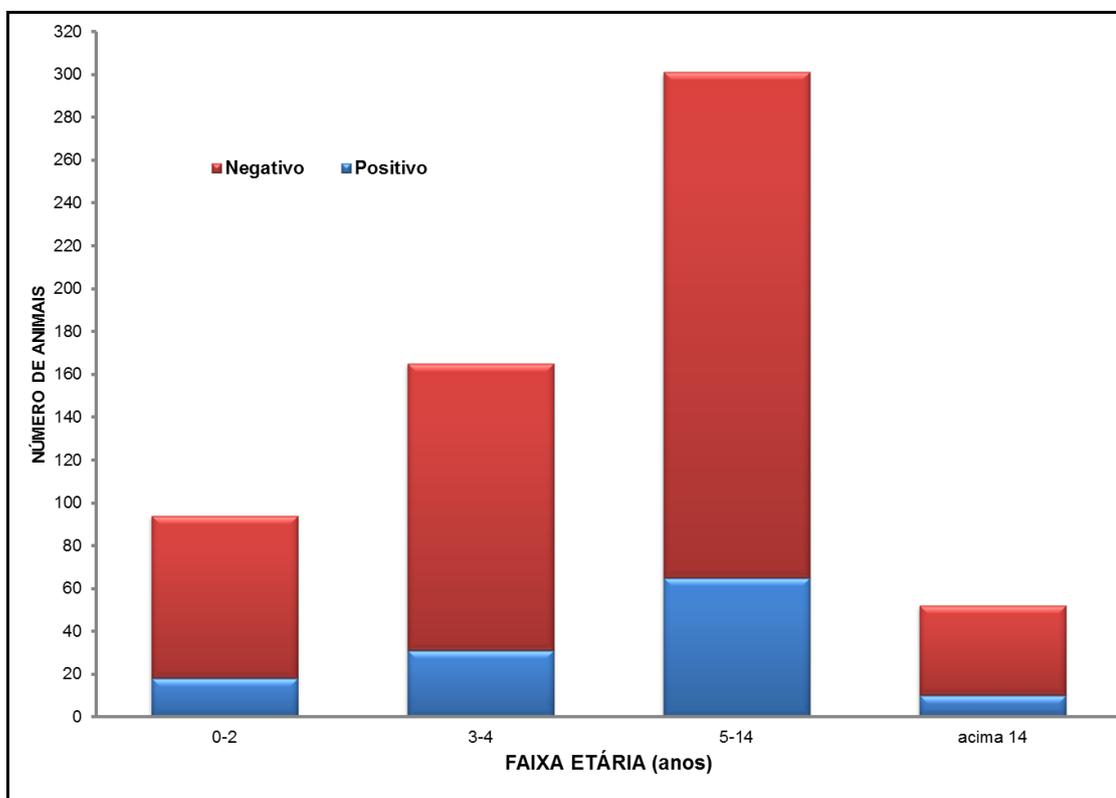


Figura 23. Frequência de equídeos soropositivos e negativos para *A. phagocytophilum* em propriedades do estado do Rio de Janeiro, Brasil, de acordo com a faixa etária de zero a dois anos (2,94%, 12,42%), de três a quatro anos (5,07%, 21,90%), de cinco a 14 anos (10,62%, 38,56%) e acima de 14 anos (1,63%, 6,86%), comparadas pelo teste do  $\chi^2$  ( $p= 0,8828$ ), respectivamente.

Tabela 9. Frequência e risco da infecção por *Anaplasma phagocytophilum* em equídeos no estado do Rio de Janeiro quanto à raça e espécie.

Equídeos	Resultado (%)		TOTAL	Valor de P <sup>1</sup>
	Positivo	Negativo		
Mangalarga	26 (4,25) <sup>a</sup>	112 (18,30)	<b>138 (22,55)</b>	<b>=0,0401</b>
Campolina	8 (1,31) <sup>a</sup>	44 (7,19)	<b>52 (8,50)</b>	
Puro Sangue Inglês (PSI)	35 (5,72) <sup>a</sup>	120 (19,61)	<b>155 (25,33)</b>	
Árabe	2 (0,33) <sup>b</sup>	5 (0,82)	<b>7 (1,14)</b>	
Quarto de Milha	15 (2,45) <sup>a</sup>	44 (7,19)	<b>59 (9,64)</b>	
Mestiço	9 (1,47) <sup>a</sup>	33 (5,39)	<b>42 (6,86)</b>	
PSI + BH	3 (0,49) <sup>b</sup>	16 (2,61)	<b>19 (3,10)</b>	
Crioulo + BH	2 (0,33) <sup>b</sup>	49 (8,01)	<b>51 (8,33)</b>	
Brasileiro de Hipismo (BH)	11 (1,80) <sup>a</sup>	28 (4,58)	<b>39 (6,37)</b>	
Andaluz	1 (0,16) <sup>b</sup>	1 (0,16)	<b>2 (0,33)</b>	
Pampa	0 (0,00) <sup>b</sup>	6 (0,98)	<b>6 (0,98)</b>	
Paint Horse	0 (0,00) <sup>b</sup>	7 (1,14)	<b>7 (1,14)</b>	
Muar	2 (0,33) <sup>b</sup>	7 (1,14)	<b>9 (1,47)</b>	
Luzitano	3 (0,49) <sup>b</sup>	2 (0,33)	<b>5 (0,82)</b>	
Holstainer	7 (1,14) <sup>a</sup>	14 (2,29)	<b>21 (3,43)</b>	
<b>TOTAL</b>	<b>124 (20,26)</b>	<b>488 (79,74)</b>	<b>612 (100)</b>	

<sup>1</sup> Pelo Teste do  $\chi^2$

Letras iguais na coluna não diferem estatisticamente com intervalo de confiança de 95%.

**Tabela 10.** Frequência e risco da infecção por *Anaplasma phagocytophilum* em equídeos no estado do Rio de Janeiro quanto à procedência

Procedência	Resultado (%)		TOTAL	Valor de P <sup>1</sup>
	Positivo	Negativo		
Propriedade	34 (5,56) <sup>a</sup>	134 (21,90)	168 (27,45)	
Vizinhança	22 (3,59) <sup>b</sup>	40 (6,54)	62 (10,13)	
Município	13 (2,12) <sup>c</sup>	102 (16,67)	115 (18,79)	
Outro Município	5 (0,82) <sup>c</sup>	19 (3,10)	24 (3,92)	<b>=0,0005</b>
Outro Estado	45 (7,35) <sup>a</sup>	188 (30,72)	233 (38,07)	
Outro País	5 (0,82) <sup>c</sup>	5 (0,82)	10 (1,64)	
<b>TOTAL</b>	<b>124 (20,26)</b>	<b>488 (79,74)</b>	<b>612 (100)</b>	

<sup>1</sup> Pelo Teste do  $\chi^2$

Letras iguais na coluna não diferem estatisticamente com intervalo de confiança de 95%.

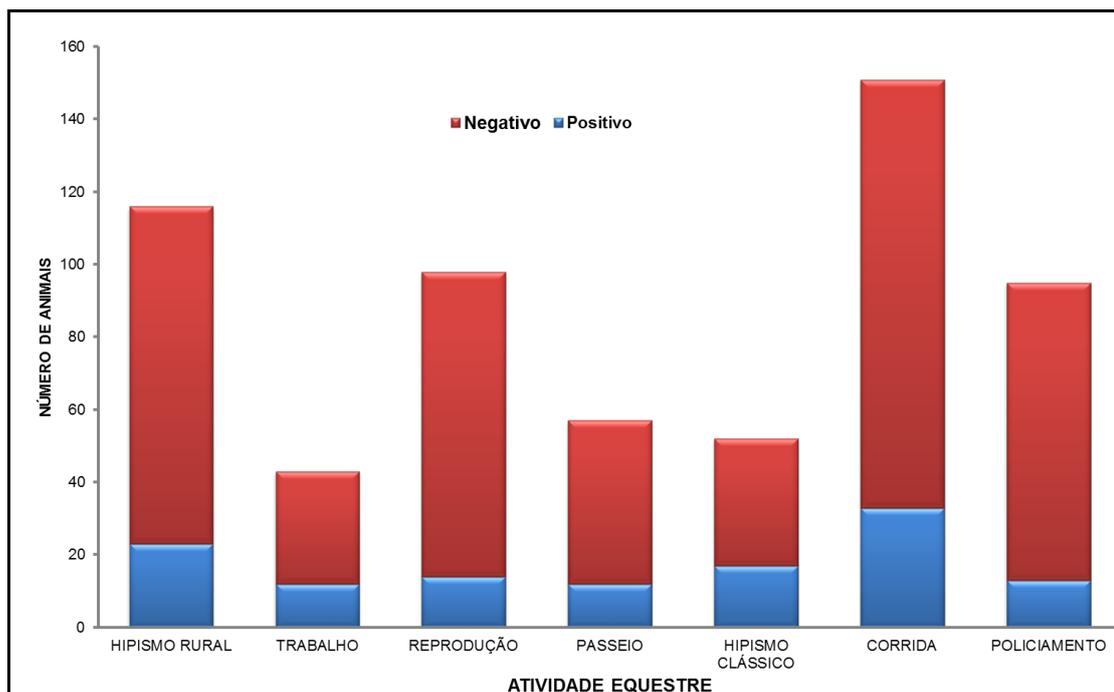


Figura 24 Frequência de equídeos soropositivos e negativos para *A. phagocytophilum* em propriedades do estado do Rio de Janeiro, Brasil, em animais submetidos à atividade de hipismo rural (3,76%; 15,20%), trabalho (1,96%, 5,07%), reprodução (2,29%, 13,73%), passeio (1,96%, 7,35%), hipismo clássico (2,78%, 5,72%), corrida (5,39%, 19,28%) e policiamento (2,12%, 13,40%), comparadas pelo teste do  $\chi^2$  ( $p=0,2022$ ), respectivamente.

**Tabela 11** Frequência e risco da infecção por *Anaplasma phagocytophilum* em equídeos no estado do Rio de Janeiro quanto ao quadro de anemia do animal

Anemia	Resultado (%)		TOTAL	Valor de $P^1$
	Positivo	Negativo		
Sim	30 (4,90)	71 (11,60)	101 (16,50)	=0,0098
Não	94 (15,36)	417 (68,14)	511 (83,50)	
<b>TOTAL</b>	<b>124 (20,26)</b>	<b>488 (79,74)</b>	<b>612 (100)</b>	

<sup>1</sup> Pelo Teste do  $\chi^2$

Letras iguais na coluna não diferem estatisticamente com intervalo de confiança de 95%.

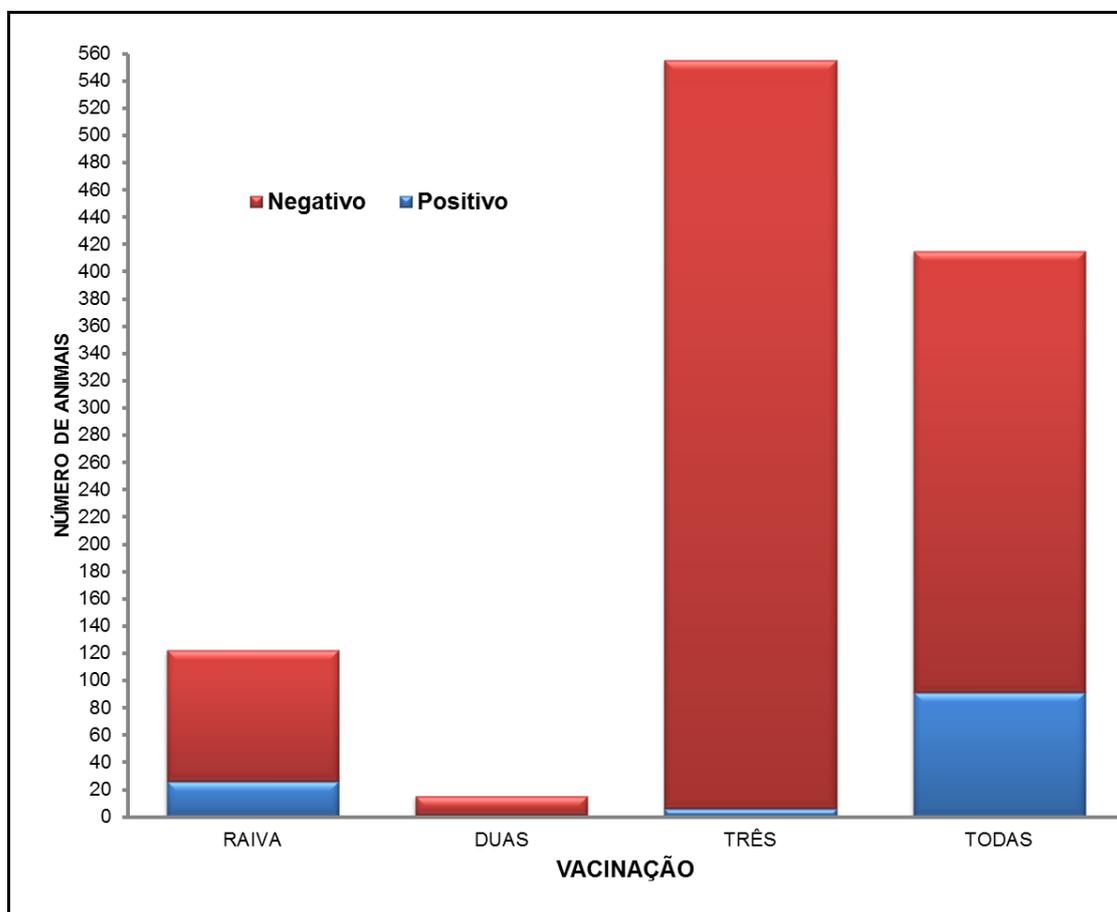


Figura 25 Frequência de equídeos soropositivos e negativos para *A. phagocytophilum* em propriedades do estado do Rio de Janeiro, Brasil, que receberam apenas vacinação antirrábica (4,25%, 15,69%), duas vacinas incluindo a antirrábica (0,16%, 2,29%), três vacinas incluindo a antirrábica (0,98%, 8,82%), todas (14,87%, 52,94%), comparadas pelo teste do  $\chi^2$  ( $p= 0,0928$ ), respectivamente.

Na análise de regressão logística multivariada, observou-se que propriedade, procedência e idade (Tabela 12) são os reais fatores de risco para a infecção por *A. phagocytophilum*, quando levada em consideração a influência de um fator sobre outros.

**Tabela 12** Fatores de risco da infecção por *Anaplasma phagocytophilum* em equídeos no estado do Rio de Janeiro, estimados pelo método de regressão logística multivariada a partir da análise de dados coletados em ficha epidemiológica

Variáveis	Estatística		
	Número	Qui-Quadrado	Valor de P <sup>1</sup>
Propriedade	31	87,8745	< 0,0001
Procedência	6	16,9456	=0,0095
Idade	27	43,4444	=0,0236

<sup>1</sup> Pelo Teste do  $\chi^2$

## 5 DISCUSSÃO

A proposta desta pesquisa foi demonstrar a presença de anticorpos anti- *A. phagocytophilum* em equídeos do estado do Rio de Janeiro e discutir os possíveis fatores de risco da infecção nos animais expostos ao parasita em todas as mesorregiões, a fim de obter informações epidemiológicas e práticas de manejo empregadas.

O teste de RIFI, considerado “padrão ouro” pela Organização Mundial de Saúde para diagnóstico laboratorial de *A. phagocytophilum*, foi de fácil execução, porém, para a leitura das lâminas são necessários conhecimento sobre a técnica de imunofluorescência, microscópio de imunofluorescência e avaliação do custo de aquisição do kit. Ademais esta é a técnica de rotina para monitoramento sorológico da infecção de *A. phagocytophilum* em laboratórios de referência, quando o objetivo é o rastreamento do parasita nas comunidades. Para o diagnóstico de infecções recentes, a sorologia pareada em indivíduos é o indicado, já que quando comparada à visualização do parasita no sangue periférico, esta é limitada pela curta duração do parasitismo circulante, e o PCR, pelo custo devido ao sequenciamento e filogenia do fragmento do DNA amplificado, necessários ao diagnóstico, além da possível eliminação do parasita do organismo ao longo do tempo (ALBERTI et al., 2005; FRANZÉN et al., 2009; SCHARF et al., 2011).

No inquérito epidemiológico, constataram-se equídeos sorologicamente positivos para *A. phagocytophilum* em 28 das 33 propriedades pesquisadas, dados estes corroborados pela elevada ocorrência de relatos de casos suspeitos de anaplasmose granulocítica equina pelos veterinários responsáveis pelos plantéis, haja vista que 83,5% das propriedades recebiam assistência veterinária regular (Figura 6). Das 33 propriedades estudadas, cinco foram consideradas de risco por apresentarem status sorológico para *A. phagocytophilum* (Tabela 1). Estes criatórios, localizados em cinco municípios diferentes do estado do Rio de Janeiro, possuíam, como similaridade, animais em condição de treinamento, competições e viagens frequentes, concordando com Egenvall et al. (2001), que, além de citar estes dados, consideram a elevada densidade de animais com fator de risco. Estas propriedades são possíveis focos da infecção e, neste caso, por se tratar de animais que viajam constantemente para diversas regiões do Brasil, podem favorecer a disseminação da infecção em outras áreas (GIUDICE et al., 2012). A ampla difusão

da infecção no estado do Rio de Janeiro pode ainda ser representada pelos sete municípios considerados de risco dos 15 estudados (Tabela 2). Esta variação demográfica pode ser explicada pela exposição aos carrapatos infectados e pela presença de potenciais reservatórios silvestres existentes na região (EGENVALL et al., 2001; HANSEN et al., 2010; SILAGHI; LIEBISCH; PFISTER, 2011).

É possível que a doença esteja sendo subdiagnosticada ou confundida com outras enfermidades como a piroplasmose, anemia infecciosa equina, rabdomiólise e leptospirose, visto a prevalência observada de 20,26% (Tabela 1). Esta hipótese é reforçada pela inobservância de sinais clínicos nos animais pesquisados, inclusive nos quais foram detectados anticorpos anti- *A. phagocytophilum*, observações também relatados por Frazén et al. (2009), Hansen et al. (2010), Silaghi et al. (2011). Estes pesquisadores descrevem a inexistência de relação entre histórico de sintomas clínicos e positividade sorológica. Desta forma, podemos inferir que são necessárias realizações de testes sorológicos periódicos para avaliar a prevalência dessa infecção e delinear conduta clínica e o controle da doença, acima de tudo por ser uma zoonose.

Devido também à escassez de estudos epidemiológicos a respeito da cadeia transmissão de *A. phagocytophilum* no Brasil, faz-se necessário aumentar a vigilância sobre a disseminação do parasita para o homem e animais domésticos, principalmente na região sudeste, que apresenta, dentre as regiões brasileiras, a maior população de equídeos destinados a diversas atividades, em áreas rurais e urbanas (MAPA, 2011).

A ampla distribuição regional da soroprevalência para *A. phagocytophilum* visualizada na tabela 3 mostra diferença estatística significativa entre as mesorregiões, das quais apenas a região noroeste não foi considerada de risco. Embora a anaplasmosse granulocítica equina seja vista como uma enfermidade emergente no Brasil, sabe-se que, em uma população soropositiva, a infecção já ocorreu há mais de três meses da coleta das amostras de sangue dos equídeos deste estudo, o que justifica o risco de infecção nas seis mesorregiões (FRAZÉN et al., 2005; HANSEN et al., 2010; VAN ANDEL et al., 1998). Em países de clima temperado, observa-se uma inconstância na densidade de carrapatos de acordo com a variação climática típica destas regiões, o que influencia na sazonalidade de anaplasmosse granulocítica (HANSEN et al., 2009). No presente trabalho, as diferenças climáticas entre as mesorregiões estudadas não foram determinantes

para a soroprevalência positiva, já que o agente transmissor pode ser encontrado em todas as épocas do ano.

Sabe-se que a presença de assistência veterinária permanente constitui um fator favorável para a profilaxia e controle de diversas enfermidades em animais de produção (SELLON; LONG, 2007). Entretanto, no presente trabalho, a falta de assistência veterinária em 16,51% dos animais estudados não foi um fator significativo para a infecção. Observou-se que outras variáveis podem expressar maior influência sobre a ocorrência da infecção (Figura 6).

Egenvall et al. (2001), ao observarem 2018 equinos na Suécia, registraram que o tempo de pastejo está correlacionado à soropositividade para *A. phagocytophilum*. De acordo com estes autores, os sistemas extensivo e semi-intensivo apresentaram as maiores soroprevalências quando comparados aos grupos confinados. Esses tipos de manejos expõem os equídeos ao pasto e a outros animais, o que favorece infestação cruzada de carrapatos e, conseqüentemente, as infecções. No presente trabalho, também foi observado que a maior prevalência de equídeos soropositivos para *A. phagocytophilum* eram criados no sistema semi-intensivo 11,11% dos 20,26% quando comparado aos outros sistemas de criação, apesar de não ser significativa a diferença pelo teste de qui-quadrado (Figura 7). Estas inferências podem explicar que o sistema de produção empresarial, ou seja, a utilização da criação como fonte de renda empregada em 59,32% das propriedades pesquisadas não foi considerado fator de risco para a positividade (Figura 8).

Sabe-se que viagens frequentes constituem um fator de estresse para equinos e que estas podem contribuir para imunodepressão e, conseqüentemente, favorecer o aparecimento de doenças infecciosas (EGENVALL et al., 2001; ENGVALL; EGENVALL, 2002). Porém, neste estudo, 82,36% dos equídeos estavam envolvidos em viagens ,e a frequência destas entre os grupos avaliados não constituiu um fator de risco significativo (Figura 9). Os equídeos são suscetíveis a *A. phagocytophilum* e o monitoramento sorológico nesta espécie é importante para a utilização como sentinela da circulação do agente, já que o homem pode ser infectado com as mesmas cepas dos equinos. O contato estreito destas espécies confere a esta parasitose um interesse médico devido ao potencial zoonótico (BARLOUGH et al., 1995). Entre os anos de 2007 e 2012, o Rio de Janeiro sediou provas hípcas internacionais e recebeu cavalos dos cinco continentes; entretanto,

os programas sanitários oficiais não preveem o monitoramento da anaplasrose granulocítica equina.

Os equídeos pesquisados no Estado do Rio de Janeiro compunham parte da população de equinos com aptidões para corrida (151/612), hipismo rural (116/612), reprodução (98/612), policiamento (95/612), lazer (57/612), hipismo clássico (52/612) e atividades agropecuárias (43/612). Por outro lado, foram encontrados animais positivos para *A. phagocytophilum* em todas as categorias acima discriminadas. No entanto, a aptidão não foi considerada um fator de risco (Figura 23), o que aumenta ainda mais a preocupação sobre esta zoonose com uma possível dispersão no estado do Rio de Janeiro e no Brasil (EGENVALL et al., 2001; ENGVALL; EGENVALL, 2002). Diversas atividades equestres intensificam o trânsito dos equinos e podem favorecer a disseminação do parasita (SELLON; LONG, 2007), inclusive entre os humanos.

Outro suposto fator de risco avaliado seria a entrada de animais para reprodução nas propriedades, prática comum entre os criatórios de equinos, o que, hipoteticamente, favorece a veiculação de vetores e disseminação de infecções provenientes de outras regiões. No entanto, os exames compulsórios para o trânsito inter e intraestadual são a sorologia para anemia infecciosa equina e mormo. Mesmo sendo observado que a entrada de animais para reprodução não tenha demonstrado fator de risco estatisticamente significativo (Figura 10), dados estes também verificados por Hansen et al. (2010), o monitoramento da entrada de animais de reprodução deveria ser melhor investigado quanto à possível infecção por *A. phagocytophilum*, inclusive compulsoriamente, principalmente para o trânsito internacional.

A forma de alimentação dos equídeos empregada nos criatórios do estado do Rio de Janeiro não teve associação significativa com a ocorrência de anticorpos anti-*A. phagocytophilum* (Figura 11). Embora a frequência de acesso ao pasto seja considerada por alguns autores como fonte de exposição aos principais vetores e reservatórios desta infecção, a soropositividade encontrada em equídeos submetidos a este sistema de manejo foi a menor dentre os grupos avaliados (ENGVALL; EGENVALL, 2002).

Outra variável significativa apontada nessa pesquisa foi a suplementação alimentar durante o período de estiagem, através da qual os animais diferenciavam-se quanto ao acesso a outros tipos de forragens, leguminosas ou não

suplementados (Tabela 4). Os animais não suplementados, durante a época de estiagem, apresentaram os maiores índices de soropositividade 8,66% dos 20,26% entre os grupos pesquisados, o que pode ser associado à condição de subnutrição que favorece a imunodebilidade de acordo com Teglas et al. (2005). Estes autores associaram positivamente a condição corporal dos equinos, a carga parasitaria de carrapatos e a infecção por *A. phagocytophilum*. Outros grupos suplementados durante a seca com forragem e outros (aveia, milho, sorgo e linhaça) também apresentaram resultados significativos, o que pode ser explicado pela ocorrência de carrapatos veiculados por estes alimentos. Brovini et al. (2003) e Gauss e Furlong (2002) verificaram que durante o inverno forragens como o capim Napier (*Pennisetum purpureum*) constituem um ambiente favorável à manutenção e disseminação das larvas de *R. microplus*.

Sabe-se que algumas deficiências e desequilíbrios minerais em equídeos podem levar a quadros de anemia, imunodebilidade e doenças concomitantes (SELLON; LONG, 2007), porém, neste estudo, a suplementação mineral não foi observada como fator diferencial na ocorrência da soropositividade (Figura 12).

A realização de medidas de manejo voltadas para a melhoria das condições higiênico-sanitárias dos plantéis avaliados não constituiu uma variável significativa. Este achado pode ser justificado pelo desconhecimento da cadeia epidemiológica da enfermidade nesta espécie, associado à falha nas medidas de controle e profilaxia do vetor (Figura 13). Ebani et al. (2008) encontraram 16,78% de equinos soropositivos para *A. phagocytophilum*, criados sob condições higiênico-sanitárias satisfatórias em estábulos particulares da região central da Itália. Nos cavalos do estado do Rio de Janeiro, a maior prevalência de animais soropositivos, estatisticamente significativa sob a condição higiênico-sanitária pesquisada, está nos grupos considerados de boa condição, 8,66%, e regular, 8,66%, em comparação com as condições higiênico-sanitárias excelentes e ruins (Tabela 5). Este fato pode ser explicado devido a animais criados sob cuidados intensos, sem pré-imunidade ao agente, o que os torna mais susceptíveis às infecções e manifestam as formas mais evidentes sob o ponto de vista clínico.

Quanto ao convívio com outras espécies de animais, os achados deste experimento também não apresentaram correlação positiva (Figura 14), entretanto Ebani et al. (2008) estudaram a prevalência de *A. phagocytophilum* em propriedades da Itália e observaram que equinos criados sob condições de manejo deficiente em

criações associadas a ruminantes, no caso como reservatório de *A. phagocytophilum*, apresentaram maiores índices de infecção.

Grande parte dos equídeos avaliada nesta pesquisa não participava de nenhum tipo de manejo reprodutivo (33,17%), já que se destinavam exclusivamente a atividades de policiamento, corrida, hipismo clássico e hipismo rural (67,65%). Este grupo apresentou maior risco de infecção quando comparado a grupos com manejos reprodutivos diversos como monta natural, inseminação artificial e transferência de embrião. É possível que os animais submetidos a condições frequentes de estresse e lesões relacionadas ao trabalho e ao esporte tornem-se animais mais susceptíveis às infecções (Tabela 6).

Neste trabalho, observou-se uma elevada prevalência de animais soropositivos dentro do grupo tratado com ectoparasiticidas, 16,5% dos 20,26% com relação aos não tratados 3,76%. As amostras entre os dois grupos foram significativamente diferentes (Tabela 7). A realização de manejo antiparasitário incorreto, associado ao desconhecimento quanto à espécie de carrapato que parasita os equídeos, *A. cajennense*, *D. nitens* e *R. microplus*, pode contribuir para a resistência aos carrapaticidas e permanência do vetor no plantel (LABRUNA et al., 2004; MARTINS et al., 2008). Os gêneros *Dermacentor* e *Rhipicephalus* permanecem de três a cinco semanas no hospedeiro e passam todas as fases de desenvolvimento em único animal, diferente dos carrapatos dos gêneros *Amblyomma* e *Ixodes*, que utilizam mais de um hospedeiro durante as fases evolutivas, fator este que favorece a disseminação do parasita dentre diversas espécies de animais (JONGEJAN; UILENBERG, 2004; LABRUNA et al., 2004; MASSARD; FONSECA, 2004). Também constatou-se que a criação de equinos e bovinos na mesma pastagem dificulta o controle estratégico de carrapatos já que os programas de tratamento de ambas as espécies diferem na época do ano, intervalos da aplicação, tipos e concentração de carrapaticidas (DAHER et al., 2012; LEITE et al., 2011). Considerando que a região sudeste apresenta características climáticas favoráveis ao desenvolvimento de carrapatos nas pastagens (LABRUNA et al., 2004), as regiões do estado do Rio de Janeiro podem também permanecer com alta carga parasitária, justificando os 86,93% dos animais tratados regularmente com carrapaticidas. No entanto, isto não foi suficiente no controle efetivo da circulação do parasita nos plantéis. Labruna et al. (2004) observaram que, apesar do tratamento estratégico semanal com carrapaticida, não foi possível erradicar a população de *A.*

*cajennense* em plantel equino durante estudo experimental realizado no estado de São Paulo. A participação de animais em eventos e aglomerações não foi considerada um fator de risco na presente pesquisa, haja vista que estes animais geralmente recebem tratamento prévio contra ectoparasitas e são inspecionados para entrada nos eventos (Figura 15).

Frazén et al. (2009) avaliaram equinos infectados experimentalmente com *A. phagocytophilum* por quatro meses, todos os animais desenvolveram sinais clínicos na fase aguda, como febre, inapetência, ataxia e edema nos membros posteriores. Apesar da anemia não ter sido observada por estes pesquisadores durante o acompanhamento da infecção nos equídeos do Rio de Janeiro, esta variável avaliada (Tabela 11) de forma individualizada foi caracterizada como fator de risco ( $P=0,0098$ ), ao contrário da observação do histórico de anemia por propriedade (Figura 16). Logo este sinal clínico foi um indicador sensível das alterações patológicas induzidas pelo parasita, confrontando desta forma com Frazén et al. (2009). Johns et al. (2009) afirmaram que *A. phagocytophilum* é responsável por importantes complicações hematológicas como alterações na eritropoiese, supressão da proliferação de células progenitoras eritróides, apoptose de células eritróides e redução da disponibilidade de ferro contribuindo para o desenvolvimento de eritropenia e citopenias. Deve-se ainda levar em consideração que a ocorrência de anemia pode ter contribuído para imunodebilidade, o que a passaria da categoria de efeito para causa da infecção.

Cães portadores de *A. phagocytophilum* já foram detectados no Rio de Janeiro por Santos et al. (2011), ademais sabe-se da importância desta espécie como fonte da infecção para os vetores. Entretanto em nosso experimento não houve caracterização da presença desta espécie animal nos criatórios de equinos como fator de risco para infecção por *A. phagocytophilum* (Figura 17).

Foram avaliados também fatores relacionados à fonte de água originária da propriedade e redes de abastecimento público e não se encontrou risco de infecção por *Anaplasma*, o que já era esperado, uma vez que este agente não é de veiculação hídrica (Figura 18).

Observou-se que, apesar de 27,45 % dos equídeos examinados conviverem com bovinos, esta variável não foi significativa quanto ao índice positividade, o que sugere que os bovinos não tiveram relevância como hospedeiros ou reservatórios de *A. phagocytophilum* neste experimento (Figura 19). Teglas et al. (2005) observaram

que os equinos diagnosticados como positivos pela PCR e com anticorpos anti- *A. phagocytophilum* de diversas regiões da América Central são parasitados pelas mesmas espécies de carrapatos, *A. cajennense* e *D. nitens*, encontrados parasitando os equídeos do Brasil. Quando há pastejo integrado ou alternado com bovinos, estes pesquisadores observaram a presença também de *R. microplus*, entretanto não foi identificado nos animais o gênero *Ixodes*. Estes pesquisadores também não relataram a criação integrada destas duas espécies como fator de risco para a infecção por *A. phagocytophilum*.

*Anaplasma phagocytophilum* já foi identificado no hemisfério sul, inclusive no Brasil, por métodos moleculares em cães (SANTOS et al., 2011) e aves carnívoras (MACHADO et al., 2012) e por métodos sorológicos em cervídeos (SACCHI, 2009) e equinos (MESQUITA NETO et al., 1984; PARRA, 2009; SALVAGNI et al., 2010); na Guatemala em equinos e bovinos (TEGLAS et al., 2005), além da África, onde foi detectado em carrapatos e cães (INOKUMA; RAOULT; BROUQUI, 2000; M'GHIRBI et al., 2009; SARIH et al., 2005).

Segundo Roellig e Fang (2012), mesmo em regiões onde a prevalência da anaplasmose granulocítica em equinos é baixa, deve-se estabelecer programas de monitoramento, prevenção e controle, principalmente em áreas próximas a florestas, onde existem diversas espécies de carrapatos, principalmente do gênero *Ixodes* spp., principal vetor de *A. phagocytophilum*, que parasita inclusive fauna silvestre. No entanto, a presença de animais silvestres não foi considerada um fator de risco para a infecção dos equídeos do estado do Rio de Janeiro (Figura 20). No inquérito epidemiológico, foi observada a presença de animais silvestres em 95,59% das propriedades investigadas, com 19,12% de equídeos soropositivos. Em contraste, verificou-se 1,14% de animais soropositivos nas propriedades onde não era observada a presença de animais silvestres. Estes resultados podem ser explicados devido à relação parasito-hospedeiro e ao grau de especificidade dos carrapatos do gênero *Ixodes* e *Amblyomma*, comumente encontrados em roedores silvestres, lagomorfos, cervídeos, marsupiais, carnívoros, répteis e aves. É considerada baixa a especificidade dos carrapatos quanto à espécie parasitada (FONSECA, 2000).

A frequência de soropositividade de 13,07% em propriedades que comercializavam equídeos comparados aos 7,19% que não comercializam, não foi considerada uma variável significativa (Figura 21). Sabe-se que este fator está estreitamente correlacionado ao trânsito de animais entre propriedades assim como

viagens, participação em eventos e entradas de animais para reprodução, variáveis estas que também não apresentaram risco de infecção no presente trabalho.

Na pesquisa com os equídeos do Estado do Rio não foi observada diferença significativa entre sexos quanto a soropositividade para *A. phagocytophilum*, com frequência de 8,99% em machos e 11,27% em fêmeas (Figura 22), corroborando com os achados de Bullock et al. (2000), que em 733 equídeos estudados na região de Minnesota e Wisconsin, também não observaram diferenças quanto ao sexo dos animais.

Com relação à idade dos equídeos do Estado do Rio de Janeiro, neste foi observada diferenças significativas em animais até 15 anos (Tabela 8). Entretanto outros autores como Hansen et al. (2010) encontraram correlação significativa ( $p \leq 0,03$ ) entre a idade dos equinos acima de 11 anos e a presença de anticorpos anti-*A. phagocytophilum*. Engvall e Egenvall (2002) concluíram que a prevalência aumenta com a idade, o que constitui um importante fator de risco devido a maior frequência de exposições ao carrapato durante a vida. Para o estudo dos equídeos do Rio de Janeiro, verificou-se que o maior número de animais soropositivos encontra-se entre potros e animais adultos, e a maioria era de equídeos de atividade de trabalho, esporte ou lazer, o que explica a pouca representatividade de animais acima de 15 anos. Ademais os potros apresentam maior probabilidade de adquirir a primoinfecção com manifestações clínicas mais perceptíveis em contraposição a animais adultos, que já tiveram contatos anteriores com o parasita, adquirindo resistência e com infecções inaparentes. Ao se estratificar o plantel de equídeos examinado de acordo com a faixa etária pesquisada, verificou-se que não houve variação estatística significativa quanto à soropositividade. Isto explica que qualquer indivíduo está sujeito a reinfecções com títulos sorológicos detectáveis (Figura 23).

Dentre um total de 14 raças de equídeos e nove muares pesquisados no estado do Rio de Janeiro, a frequência observada no PSI foi de 5,72%; no Mangalarga, 4,25%; no Quarto de Milha, 2,45%; no BH, 1,8%; no Mestiço, 1,47%; no Campolina, 1,31%; e no Holstainer, 1,14%, observando-se significativa diferença ( $P=0,0401$ ) quanto à soropositividade para *A. phagocytophilum* (Tabela 9), ao contrário do observado por Bullock et al. (2000), que ao avaliarem 23 raças de equinos nos EUA não encontraram variações significantes. De acordo com Bullock et al. (2000) e Egenvall et al. (2001), os equinos utilizados para corridas e que frequentemente viajavam constituem importantes fatores de risco. Contribui para os

dados desta pesquisa a associação entre raça e atividade equestre, já que animais constantemente submetidos a condições de estresse, como manejo intensivo, treinamentos, viagens e aglomerações, seriam mais susceptíveis a infecções. Outro fator de risco a considerar são as raças geneticamente puras que são mais sensíveis às infecções por carrapatos, como PSI, Holstainer e Mangalarga (PEREIRA et al., 2005).

Dentre as nove amostras de sangue de muares pesquisadas no estado do Rio de Janeiro, duas foram sororreagentes ao antígeno de *A. phagocytophilum*, 0,33% dos 20,26% (Tabela 9). Apesar de estudos escassos em asininos e muares, Giudice et al. (2012) verificaram 6% de soropositividade em 100 asininos assintomáticos testados na Itália, corroborando que esta espécie animal também participa da cadeia epidemiológica do agente.

De acordo com os resultados estatísticos verificados na tabela 10, equídeos oriundos da propriedade e de outros estados apresentaram maior risco de infecção por *A. phagocytophilum* quando comparados aos animais de outras origens. Este achado evidencia a possibilidade de existirem focos de infecção localizados em propriedades ou microrregiões, assim como se observa em outras enfermidades como anemia infecciosa equina (KARAM et al., 2010). Está é uma das variáveis de maior importância neste estudo, haja vista que, na análise de regressão logística (Tabela12) em comparação com as demais variáveis, foi considerado um real fator de risco para infecção.

A prevalência de 20,26% em equídeos no Estado do Rio de Janeiro caracteriza a importância do monitoramento da doença no estado e até mesmo em todo território nacional com o objetivo de minimizar surtos epidêmicos nos animais e no homem, uma vez que, de acordo com Agüero-Rosenfeld et al. (1996), Blanco e Oteo (2002) e Dumler et al. (2007), a anaplasmoose granulocítica representa um crescente problema de saúde pública na Europa e nos EUA e possui seus aspectos epidemiológicos, clínicos e microbiológicos bem estabelecidos no homem e nos animais domésticos. No Brasil, subestima-se o potencial dos animais, principalmente os equídeos como reservatórios do parasita para a infecção humana, haja vista a proximidade desta espécie com o homem através de diversas atividades como equoterapia, esporte, lazer e trabalho. Embora o tipo de atividade equestre não tenha sido verificado como um fator de risco para os equídeos do Estado do Rio de

Janeiro, deve-se ressaltar a frequência de animais positivos para *A. phagocytophilum* em todas as categorias de equídeos pesquisadas (Figura 24).

De acordo os dados obtidos no estudo das criações do Estado do Rio de Janeiro pesquisadas (Figura 12), o manejo sanitário foi considerado bom em 44,93% e regular em 47,06% dos equídeos. No calendário profilático completo (Figura 25) dos equídeos, 67,81% são vacinados com pelo menos seis tipos de vacinas (Raiva, Influenza equina, Tétano, Encefalomielite, Herpes vírus equino e Leptospirose), assistência veterinária em 83,50% das propriedades estudadas, utilização de concentrado e forragem de boa qualidade em 55,23%, bem como frequência na suplementação mineral e vitamínica em 92,81%, sistema de produção empresarial ou pré em 84,96% dos criatórios de equídeos e controle e tratamento de ectoparasitas regular em 86,93% das propriedades. Estes achados corroboram que a presença da infecção independe da qualidade de manejo e deve estar ligada a outros segmentos da cadeia epidemiológica que precisam ser mais estudados.

A idade, a procedência e a propriedade aparecem como reais fatores de risco da infecção para *A. phagocytophilum*, quando comparadas a outras variáveis observadas nesta pesquisa, pela análise de regressão logística multivariável (Tabela 12). Esses resultados vão ao encontro de Egenvall et al. (2001) e Engvall e Egenvall (2002), em pesquisas na Europa. Em oposição a estes autores, para Bullock et al. (2000) e em concordância com os resultados dos equídeos do Estado do Rio de Janeiro, a idade não foi um fator de risco em estudos realizados nas regiões centro-oeste e norte dos EUA.

No Brasil, a EME causada pela *Neorickettsia risticii* foi descrita no Rio Grande do Sul, e possui seu ciclo dependente de trematódeo e caramujo como hospedeiros intermediários (COIMBRA et al., 2005; DUTRA et al., 2001). O quadro clínico patológico, marcado por severa enterocolite, apresenta diferenças quando comparada a AGE (OLIVER; STÄMPFLI, 2006). Em equinos, a reação cruzada em testes sorológicos entre as espécies circulantes de *N. risticii* e *A. phagocytophilum* não foi ainda comprovada (RIKIHISA, 1991).

As doenças transmitidas por carrapatos possuem relevância mundial, porém, no Brasil, os dados científicos são escassos (ANDRÉ et al., 2012). Os registros encontrados são sobre borreliose e febre maculosa principalmente na região sudeste com mortalidade de até 30% em humanos. Ademais a sazonalidade destas enfermidades é caracterizada por aumento de casos nos meses de inverno devido a

maior incidência das formas jovens do carrapato atingindo humanos (FIOL et al., 2010). Não se sabe a correlação destas parasitoses com infecções por *A. phagocytophilum*, mas a hipótese mais provável seja que casos suspeitos com diagnóstico laboratorial negativo podem ter o diagnóstico diferencial ainda subestimado.

Com base nos dados avaliados através do inquérito epidemiológico e a regressão logística, que analisa a inerência de uma variável sobre a outra, pode-se verificar que os reais fatores de risco de infecção por *A. phagocytophilum* são propriedade, procedência e a idade dos animais. Estes achados confrontam com a percepção do médico veterinário que se preocupa em avaliar o animal de forma individual e não o plantel. Embora os dados obtidos sob a anaplasrose equina no Brasil ainda sejam escassos, foi observado uma tendência para que seja realizado o monitoramento do plantel com vistas ao saneamento da propriedade. As amostragens devem se focar nos potros e adultos até 15 anos e o diagnóstico clínico e laboratorial de casos individuais será mais facilmente realizado nos animais primoinfectados.

## 6 CONCLUSÕES

Após análise de fatores epidemiológicos para a presença de anticorpo anti- *A. phagocytophilum* em equídeos do Estado do Rio de Janeiro chegou-se às seguintes conclusões:

*Anaplasma phagocytophilum* está presente nos plantéis de equídeos no estado do Rio de Janeiro de maneira enzoótica;

Embora tenha se observado que o parasito está amplamente distribuído em todas as mesorregiões do Estado do Rio de Janeiro, os focos em propriedade são importantes na permanência de *A. phagocytophilum* nos equídeos;

Atenção ao trânsito de equídeos, principalmente oriundos de outros estados; o controle do trânsito deve ser feito quando se pretende impedir a introdução do agente nas propriedades, pois estas podem se tornar focos de *A. phagocytophilum*;

A partir desta pesquisa, os muares passam a ter também importância como hospedeiros ou reservatórios e investigações devem ser feitas para melhor esclarecer a importância desta espécie na cadeia epidemiológica de *A. phagocytophilum* no estado do Rio de Janeiro; e

Animais, independente da idade, devem ser o foco da investigação quando se pretende monitorar a doença nos rebanhos de equídeos, bem como ter a atenção para doenças de caráter sistêmico com o diagnóstico diferencial.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADASZEK, L.; WINIARCZYK, S.; LUKASZEWSKA, J. A first case of ehrlichiosis in a horse in Poland. **Deutsche Tierärztliche Wochenschrift**, v. 116, n. 9, p. 330-334, 2009.

AGUERO-ROSENFELD, M. E. et al. Human granulocytic ehrlichiosis: a case series from a medical center in New York State. **Annals of Internal Medicine**, v. 1, n. 11, p. 904-908, 1996.

ALBERTI, A. et al. Equine and Canine *Anaplasma phagocytophilum* Strains Isolated on the Island of Sardinia (Italy) Are Phylogenetically Related to Pathogenic Strains from the United States. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 71, n. 10, p. 6418-6422, 2005.

AMUSATEGUI, I.; SAINZ, A.; TESOURO, M. A. Serological evaluation of *Anaplasma phagocytophilum* infection in livestock in northwestern Spain. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1078, p. 487-90, 2006.

ANDRÉ, M. R. et al. Molecular detection of tick-borne bacterial agents in Brazilian and exotic captive carnivores. **Ticks and tick-borne diseases**, v. 3, n. 4, p. 247-253, 2012.

ARRAGA-ALVARADO, C. et al. Human ehrlichiosis: report of the 1st case in Venezuela. **Investigación Clínica**, v. 37, n. 1, p. 35-49, 1996.

ARTURSSON, K. et al. A serological and clinical follow-up in horses with confirmed equine granulocytic ehrlichiosis. **Equine Veterinary Journal**, v. 31, n. 6, p. 473-477, 1999.

BAKKEN, J. S. et al. Human granulocytic ehrlichiosis in the upper Midwest United States. A new species emerging? **Journal of the American Medical Association**, v. 272, p. 212–218, 1994.

BAKKEN, J. S. et al. Exposure to deer blood may be a cause of human granulocytic ehrlichiosis. **Clinical Infectious Diseases**, v. 23, n. 1, p. 198, 1996.

BAKKEN, J. S.; DUMLER, J. S. Human granulocytic ehrlichiosis. **Clinical Infectious Diseases**, v.31, p. 554-560, 2000.

BALDRIDGE, G. D. et al. Transovarial Transmission of *Francisella*-Like Endosymbionts and *Anaplasma phagocytophilum* Variants in *Dermacentor albipictus* (Acari: Ixodidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 46, n.3, p. 625–632, 2009.

BARANDIKA, J. F. et al. Prevalence of tick-borne zoonotic bacteria in questing adult ticks from northern Spain. **Vector Borne Zoonotic Disease**, v. 8, n. 6, p. 829-835, 2008.

BARLOUGH, J. E. et al. Protection against *Ehrlichia equi* is conferred by prior infection with the human granulocytotropic Ehrlichia (HGE agent). **Journal of Clinical Microbiology**, v. 33, n. 12, p. 3333-3334, 1995.

BARLOUGH, J. E. et al. Detection of *Ehrlichia risticii*, the agent of Potomac horse fever, in freshwater stream snails (Pleuroceridae: *Juga* spp.) from northern California. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 64, p. 2888–2893, 1998.

BELLSTRO, M. L. Fastingburna rickettsioser (In Swedish). **Svensk Veterinärtidning**, v. 41, p. 549–553, 1989.

BELONGIA, E. A. et al. Prevalence of granulocytic *Ehrlichia* infection among white-tailed deer in Wisconsin. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 35, n. 6, p. 1465-1468, 1997.

BERMANN, F. et al. *Ehrlichia equi* (*Anaplasma phagocytophila*) infection in an adult horse in France. **Veterinary Record**, v. 22, n. 25, p. 787-788, 2002.

BERRINGTON, A.; MOATS, R.; LESTER, S. A case of *Ehrlichia equi* in an adult horse in British Columbia. **The Canadian Veterinary Journal**, v. 37, n. 3, p. 174-175, 1996.

BJOERSDORFF, A. et al. *Ehrlichia equi*-infektion diagnostiserat hos hast (In Swedish). **Svensk Veterinärtidning**, v.42, p. 357–360, 1990.

BJOERSDORFF, A. et al. Feline granulocytic ehrlichiosis – a report of a new clinical entity and characterisation of the infectious agent. **Journal of Small Animal Practice**, v. 40, n. 1, p. 20–24, 1999.

BJOERSDORFF, A. et al. *Ehrlichia*-infected ticks on migrating birds. **Emerging Infectious Diseases**, v. 7, n. 5, p. 877–879, 2001.

BLANCO, J. R.; OTEO, J. A. Human granulocytic ehrlichiosis in Europe. **Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, v. 8, n. 12, p. 763–772, 2002.

BOWN, K. J. et al. Seasonal dynamics of *Anaplasma phagocytophila* in a rodent-tick (*Ixodes trianguliceps*) system, United Kingdom. **Emerging Infectious Diseases**, v. 9, n. 1, p. 63-70, 2003.

BROVINI, C. N. et al. Influencia dos fatores climaticos na biologia e no comportamento de femeas ingurgitadas de *Boophilus microplus* a campo. **Bioscience Journal**, v. 19, n. 1, p. 71-76, 2003.

BULLOCK, P. M. et al. *Ehrlichia equi* infection of horses from Minnesota and Wisconsin: detection of seroconversion and acute disease investigation. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 14, n. 3, p. 252-257, 2000.

BÜSCHER, G. et al. The 1st case of ehrlichiosis in a horse in Germany (Brief report). **Dtsch. Tierarztl. Wochenschr Journal**, v. 91, n. 11-12, p. 408-409, 1984.

BUTLER, C. M. et al. *Anaplasma phagocytophilum* infection in horses in the Netherlands. **The Veterinary Record**, v. 162, n. 7, p. 216–217, 2008.

CALIC, S. B. et al. Human ehrlichioses in Brazil: first suspect case. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 8, n. 3, p. 259-262, 2004.

CAO, W. C. et al. Prevalence of *Anaplasma phagocytophila* and *Borrelia burgdorferi* in *Ixodes persulcatus* ticks from northeastern China. **The American Journal Of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 68, n. 5, p. 547-550, 2003.

CAO, W. C. et al. Natural *Anaplasma phagocytophilum* Infection of Ticks and Rodents from a Forest Area of Jilin Province, China. **The American Journal Of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 75, n.4, p. 664–668, 2006.

CARLYON, J. A.; FIKRIG, E. Mechanisms of evasion of neutrophil killing by *Anaplasma phagocytophilum*. **Current Opinion in Hematology**, v.13, n. 1, p.28-33, 2006.

CHEN, S. M. et al. Identification of a granulocytotropic *Ehrlichia* species as the etiologic agent of human disease. **Journal of Clinical Microbiology**, v.32, n. 3, p. 589–595, 1994.

CHRISTOVA, I.; GLADNISHKA, T. Prevalence of infection with *Francisella tularensis*, *Borrelia burgdorferi* sensu lato and *Anaplasma phagocytophilum* in rodent from an endemic focus of tularaemia in Bulgaria. **Annals of Agricultural and Environmental Medicine**, v. 12, n. 1, p. 149–152, 2005.

COHN, L. A. Ehrlichiosis and related infections. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v.33, p. 863-884, 2003.

COIMBRA, H. S. **Erliquiose Monocítica Equina no Rio Grande do Sul: aspectos clínicos, anatomo-patológicos e epidemiológicos**. 2003. 49 p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2003.

COIMBRA, H. S. et al. *Neorickettsia (ehrlichia) risticii* no Sul do Brasil: *Heleobia* spp.(Mollusca: Hydrobilidae) e *Parapleurolophocephalus* cercariae (Trematoda: Digenea) como possíveis vetores. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.72, n.3, p. 325-329, 2005.

COMER, J. A. et al. Serologic testing for human granulocytic ehrlichiosis at a national referral center. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 37, n. 3, p. 558-564, 1999.

DHAND, A. et al. Human granulocytic anaplasmosis during pregnancy: case series and literature review. **Clinical Infectious Diseases**, v. 45, n. 5, p. 589-593, 2007.

DE LA FUENTE, J. et al. Serologic and molecular characterization of *Anaplasma* species infection in farm animals and ticks from Sicily. **Veterinary Parasitology**, v.133, p. 357–362, 2005.

DONG, J. et al. Emerging pathogens: challenges and successes of molecular diagnostics. **The Journal of Molecular Diagnostics**, v.10, n. 3, p. 185-97, 2008.

DUMLER, J. S. *Anaplasma* and *Ehrlichia* infection. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 10, p. 361-373, 2005.

DUMLER, J. S. The biological basis of severe outcomes in *Anaplasma phagocytophilum* infection. **FEMS Immunology and Medical Microbiology**, v. 64, n. 1, p. 13-20, 2012.

DUMLER, J. S. et al. Serologic cross-reactions among *Ehrlichia equi*, *Ehrlichia phagocytophila*, and human granulocytic Ehrlichia. **Journal of Clinical Microbiology**, v.33, n. 5, p. 1098, 1995.

DUMLER, J. S. 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*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 51, suppl. 6, p. 2145-2165, 2001.

DUMLER, J. S. et al. Ehrlichioses in humans: epidemiology, clinical presentation, diagnosis, and treatment. **Clinical infectious diseases**, v. 15, n. 45, p. 45-51. 2007.

DUTRA, F. et al. Equine monocytic Ehrlichiosis (Potomac horse fever) in horses in Uruguay and southern Brazil. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 13, n. 5, p. 433-437, 2001.

EBANI, V. et al. Seroprevalence of *Anaplasma phagocytophilum* in domestic and wild animals from central Italy. **New Microbiologica**, v. 31, n. 3, p. 371-375, 2008.

EGENVALL, A. et al. Cross-sectional study of the seroprevalence to *Borrelia burgdorferi sensu lato* and granulocytic Ehrlichia spp. and demographic, clinical and tick-exposure factors in Swedish horses. **Preventive Veterinary Medicine**, v.49, n. 3-4, p.191-208, 2001.

ENGVALL, E. O.; EGENVALL, A. Granulocytic ehrlichiosis in Swedish dogs and horses. **International Journal of Medical Microbiology**, v. 291, p. 100-103, 2002.

FINGERLE, V. et al. Human granulocytic ehrlichiosis in southern Germany: increased seroprevalence in high-risk groups. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 35, n. 12, p. 3244-3247, 1997.

FIOL, F. S. D. et al. A febre maculosa no Brasil. **Revista Panamericana de Salud Pública**, v. 27, n. 6, p. 461-466, 2010.

FOLEY, J. E. et al. *Ehrlichia* spp. in cervids from California. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 34, n. 4, p. 731-737, 1998.

FOLEY, J. E. et al. Granulocytic ehrlichiosis and tick infestation in mountain lions in California. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 35, n. 4, p. 703-709, 1999.

FOLEY, J. E.; FOLEY, P.; MADIGAN, J. E. Spatial distribution of seropositivity to the causative agent of granulocytic ehrlichiosis in dogs in California. **American Journal of Veterinary Research**, v.62, n. 10, p.1599–1605, 2001.

FOLEY, J. E.; KRAMER, V.; WEBER, D. Experimental infection of dusky-footed wood rats (*Neotoma fuscipes*) with *Ehrlichia phagocytophila* sensu lato. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 38, n. 1, p. 194-198, 2002.

FOLEY, J. E. et al. Ecology of *Anaplasma phagocytophilum* and *Borrelia burgdorferi* in the western United States. **Journal of Vector Ecology**, v. 29, n. 1, p. 41-50, 2004.

FONSECA, A. H. Patogenia dos carrapatos nos animais e nos seres humanos. **Revista CFMV**, n. 19, p. 34-38, 2000.

FRANZÉN, P. et al. Acute clinical, hematologic, serologic, and polymerase chain reaction findings in horses experimentally infected with a European strain of *Anaplasma phagocytophilum*. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 19, n. 2, p. 232-239, 2005.

FRANZÉN, P. et al. Death of a horse infected experimentally with *Anaplasma phagocytophilum*. **Veterinary Record**, v. 27, n. 160, p. 122-125, 2007.

FRANZÉN, P. **On *Anaplasma phagocytophilum* in horses**. 2008. 67 f. Tese (Doutorado em Ciências Clínicas) – Universidade de Agricultura e Ciência, Uppsala, Suécia, 2008.

FRANZÉN, P. et al. Molecular evidence for persistence of *Anaplasma phagocytophilum* in the absence of clinical abnormalities in horses after recovery from acute experimental infection. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 23, n. 3, p. 636-642, 2009.

GAUSS, C. L. B.; FURLONG, J. Behaviour of *Boophilus microplus* Larvae In *Brachiaria decumbens* Pasture. **Ciencia Rural**, v.32, n. 3, p. 467-472, 2002.

GIUDICE, E. et al. *Anaplasma phagocytophilum* seroprevalence in equids: a survey in Sicily (Italy). **Parasitology Research**, v. 111, n. 2, p. 951-955, 2012.

GOODMAN, J. L. et al. Direct cultivation of the causative agent of human granulocytic ehrlichiosis. **The New England Journal of Medicine**, v.25, p. 209-215, 1996.

GORDON, W. S; BROWNLEE, A.; WILSON, D. R. Studies on louping ill, tick-borne fever and scrapie. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF MICROBIOLOGY, 3., 1940, [S.I.]. **Proceedings...** [S.I.], 1940, p. 362.

GRIBBLE, D. H. Equine ehrlichiosis. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.155, p. 462–469, 1969.

GROEN, J. et al. Serologic evidence of ehrlichiosis among humans and wild animals in the Netherlands. **European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, v.21, n. 1, p. 46–49, 2002.

HANSEN, M. G. et al. Seroprevalence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato and *Anaplasma phagocytophilum* in Danish horses. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 18, p. 52-53, 2010.

HARTELT, K. et al. Pathogens and symbionts in ticks: prevalence of *Anaplasma phagocytophilum* (*Ehrlichia* sp.), *Wolbachia* sp., *Rickettsia* sp., and *Babesia* sp. in Southern Germany. **International Journal of Medical Microbiology**, v. 293, n. 37, p. 86-92, 2004.

HERRON, M. J. et al. The Interactions of *Anaplasma phagocytophilum*, Endothelial Cells, and Human Neutrophils. In: NEW YORK ACADEMY OF SCIENCES, 2005, New York. **Annals...** New York: New York Academy of Sciences, 2005. p. 361–373.

HOLDEN, K. et al. Detection of *Borrelia burgdorferi*, *Ehrlichia chaffeensis*, and *Anaplasma phagocytophilum* in ticks (Acari: Ixodidae) from a coastal region of California. **Journal of Medical Entomology**, v. 40, n. 4, p. 534-539, 2003.

HOLLAND, C. J. M. et al. Isolation, experimental transmission, and characterization of causative agent of Potomac horse fever. **Science**, v. 227, p. 522–524, 1985a.

HOLLAND, C. J. M. et al. *Ehrlichia risticii* sp. nov.: etiological agent of equine monocytic ehrlichiosis (synonym, Potomac horse fever). **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 35, n. 4, p. 524–526, 1985b.

HOROWITZ, H. W. et al. Perinatal transmission of the agent of human granulocytic ehrlichiosis. **New England Journal of Medicine**, v. 6, p. 375-8, 1998.

HOROWITZ, H. W. et al. Antimicrobial susceptibility of *Ehrlichia phagocytophila*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v.45, p. 786-788, 2001.

IBGE. **Banco de Dados Agregados**, 2010. Disponível em: <<http://sidra.ibge.gov.br/bda/pecua/default.asp?t=2&z=t&o=24&u1=1&u2=1&u3=1&u4=1&u5=1&u6=1&u7=1>>. Acesso em 15 ago. 2012.

INOKUMA, H.; RAOULT, D.; BROUQUI, P. Detection of *Ehrlichia platys* DNA in brown dog ticks (*Rhipicephalus sanguineus*) in Okinawa island, Japan. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 38, p.4219-4221, 2000.

ISMAIL, N.; BLOCH, K. C.; MCBRIDE, J. W. Human ehrlichiosis and anaplasmosis. **Clinics in Laboratory Medicine**, v. 30, n. 1, p. 261-292, 2010.

JENKINS, A. et al. Ehrlichiosis in a moose calf in Norway. **Journal of Wildlife Diseases**, v.37, p. 201–203, 2001.

JEREB, M. et al. Severe human granulocytic anaplasmosis transmitted by blood transfusion. **Emerging Infectious Diseases**, v. 18, n. 8, p. 1354-1357, 2012.

JIANG, J. F. et al. *Anaplasma phagocytophilum* infection in ticks, China-Russia border. **Emerging Infectious Diseases**, v.17, n.5, p. 932-934, 2011.

JILINTAI, S. et al. Molecular survey for *Anaplasma bovis* and *Anaplasma phagocytophilum* infection in cattle in a pastureland where sika deer appear in Hokkaido, Japan. **Japanese Journal of Infectious Diseases**, v. 62, n.1, p. 73-75, 2009.

JOHANSSON, K. E. et al. Identification of the causative agent of granulocytic ehrlichiosis in Swedish dogs and horses by direct solid phase sequencing of PCR products from the 16S rRNA gene. **Research in Veterinary Science**, v. 58, n. 2, p. 109-12, 1995.

JONGEJAN, F.; UILENBERG, G. The global importance of ticks. **Parasitology**, v. 129, p. 3-14, 2004.

KANG, J. G. et al. New genetic variants of *Anaplasma phagocytophilum* and *Anaplasma bovis* from Korean waterdeer (*Hydropotes inermis argyropus*). **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v. 11, n. 7, p. 929-938, 2011.

KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 6.ed. New York: Academic, 2008. 932 p.

KARAM, C. H. V. et al. Anemia Infecciosa Equina no Estado do Rio de Janeiro: aspectos epidemiológicos, clínicos e laboratoriais. **Novo Enfoque**, v. 09, p. 01–13, 2010. Disponível em: <<http://www.castelobranco.br/sistema/novoenfoque/files/09/artigos/01.pdf>>. Acesso em 23 jun. 2011.

KAWAHARA, M. et al. Novel genetic variants of *Anaplasma phagocytophilum*, *Anaplasma bovis*, *Anaplasma centrale*, and a novel *Ehrlichia* sp. in wild deer and ticks on two major islands in Japan. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 72, n. 2, p. 1102-1109, 2006.

KIM, C. M. et al. Identification of *Ehrlichia chaffeensis*, *Anaplasma phagocytophilum*, and *A. bovis* in *Haemaphysalis longicornis* and *Ixodes persulcatus* ticks from Korea. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v.3, n. 1, p. 17–26, 2003.

KLEIN, M. B et al. Primary bone marrow progenitors of both granulocytic and monocytic lineages are susceptible to infection with the agent of human granulocytic ehrlichiosis. **Journal of Infectious Diseases**, v. 176, p. 1405–1409, 1997.

KNOWLES, R. C. et al. Acute equine diarrhea syndrome (AEDS) a preliminary report. In: ANNUAL CONVENTION AMERICAN ASSOCIATION OF EQUINE PRACTITIONERS, 29., 1983, [S.l.]. **Proceedings...** [S.l.] American Association of Equine Practitioners, 1983, v. 29, p. 353–357.

KORBUTIAK, E.; SCHNEIDERS, D. Equine granulocytic ehrlichiosis in the UK. *Veterinary Record*, v. 15, n. 16, p. 387-8, 1994.

KRAUSE, P. J.; WORMSER, G. P. Nosocomial transmission of human granulocytic anaplasmosis? *Journal of the American Medical Association*, v. 19, p. 2308-2309, 2008.

LABRUNA, M. B. et al. Controle estratégico do carrapato *Amblyomma cajennense* em equinos. *Ciência Rural*, v. 34, n. 1, p. 195-2000, 2004.

LEITE, R. C. et al. **Alguns aspectos epidemiológicos das infestações por *A. cajennense*: uma proposta de controle estratégico.** 2011. Disponível em: <<http://www2.camara.leg.br/atividade-legislativa/comissoes/comissoes-permanentes/capadr/audiencias-publicas/audiencias-2011/audiencia-publica-8-de-novembro-romario-publicacao-3>>. Acesso em 8 jun. 2012.

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

LEVI, O. et al. Seroprevalence of *Anaplasma phagocytophilum* among healthy dogs and horses in Israel. *Journal of Veterinary Medicine. B, Infectious Diseases and Veterinary Public Health*, v. 53, n. 2, p. 78-80, 2006.

LEVIN, M. L.; FISH, D. Interference between the agents of Lyme disease and human granulocytic ehrlichiosis in a natural reservoir host. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, v. 1, n. 2, p. 139-148, 2001.

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.

LI, H. et al. The clinical characteristics and outcomes of patients with human granulocytic anaplasmosis in China. *International Journal of Infectious Diseases*, v. 15, n. 12, p. 859-866, 2011.

LILLINI, E. et al. New findings on anaplasmosis caused by infection with *Anaplasma phagocytophilum*. *Annals of the New York Academy of Sciences*, v. 1081, p. 360-70, 2006.

LIZ, J. S. et al. PCR detection of granulocytic ehrlichiae in *Ixodes ricinus* ticks and wild small mammals in western Switzerland. *Journal of Clinical Microbiology*, v.38, p.1002–1007, 2000.

M'GHIRBI, Y. et al. Clinical, serological, and molecular evidence of ehrlichiosis and anaplasmosis in dogs in Tunisia. *Parasitology Research*, v. 104, n. 4, p. 767-74, 2009.

MACHADO, R. Z. et al. Migratory and Carnivorous Birds in Brazil: Reservoirs for *Anaplasma* and *Ehrlichia* Species? *Vector Borne Zoonotic Diseases*, v. 12, n. 8, 2012.

MACLEOD, J. Studies on tick-borne fever of sheep. II. Experiments on transmission and distribution of the disease. **Parasitology**, v. 28, p. 320–329, 1936.

MACLEOD, J. Ticks and disease in domestic stock in Great Britain. **Symposium of the Zoological Society of London**, 1962.

MADEVALL, B. R.; GRIBBLE, D. H. Infection in two dogs with an agent resembling *Ehrlichia equi*. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 180, p. 512-514, 1982.

MADIGAN, J. E.; GRIBBLE, D. Equine ehrlichiosis in northern California: 49 cases (1968-1981). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 15, n. 190, p. 445-448, 1987.

MADIGAN, J. E. Equine ehrlichiosis. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 9, p. 423-428, 1993.

MADIGAN, J. E. et al. Transmission and passage in horses of the agent of human granulocytic ehrlichiosis. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 172, n. 4, p. 1141-1144, 1995.

MADIGAN, J. E. et al. Equine granulocytic ehrlichiosis in Connecticut caused by an agent resembling the human granulocytotropic ehrlichia. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 34, n. 2, p. 434-435, 1996.

MADIGAN, J. E.; PUSTERLA, N. Ehrlichial diseases. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 16, n. 3, p. 487-499, 2000.

MARTINS, I. V. F, et al. Frequência de ectoparasitos em éguas da raça Mangalarga Marchador na Região Médio Paraíba, Estado do Rio de Janeiro. **Ceres**, v. 55, n. 4, p. 270-272, 2008.

MASSARD, C. L.; FONSECA, A. H. Carrapatos e doenças transmitidas comuns ao homem e aos animais. **Hora Veterinária**, v. 135, n. 1, p. 15-23, 2004.

MASSUNG, R. F. et al. *Anaplasma phagocytophilum* in white-tailed deer. **Emerging Infectious Disease Journal**, v. 11, n. 10, p. 1604-1606, 2005.

MASUZAWA, T. et al. Detection of *Anaplasma phagocytophilum* from Wild Boars and Deer in Japan. **Japanese Journal of Infectious Diseases**, v. 64, n. 4, p. 333-336, 2011.

MATTAR, S.; PARRA, M. Detection of antibodies to *Anaplasma*, *Bartonella* and *Coxiella* in rural inhabitants of the Caribbean area of Colombia. **Revista MVZ Córdoba**, v. 11, n.2, p. 781-789, 2006.

MAYNE, P. J. Emerging incidence of Lyme borreliosis, babesiosis, bartonellosis, and granulocytic ehrlichiosis in Australia. **International Journal of General Medicine**, v. 4, p. 845-852, 2011.

MCBRIDE, J. W.; WALKER, D. H. Human ehrlichioses and anaplasmosis. In: FONG, I. W.; ALIBECK, K. **New and Evolving Infections of the 21st Century**. New York: Springer, 2007. p. 93–127.

MCQUISTON, J. H.; MCCALL, C. L.; NICHOLSON, W. L. Ehrlichiosis and related infections. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 223, p. 1750–1756, 2003.

MCNAMEE, P.T.; CULE, A.P.; DONNELLY, J. Suspected ehrlichiosis in a gelding in Wales. **Veterinary Record**, v. 17, n. 24, p. 634, 1989.

MESQUITA NETO, F. et al. *Ehrlichia equi* in horses from the municipality of Betim (Brazil). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 36, p. 203-207, 1984.

MICHALSKI, M. et al. *Anaplasma phagocytophilum* in central and western Wisconsin: a molecular survey. **Parasitology Research**, v. 99, n. 6, p. 694-699, 2006.

MILUTINOVIĆ, M. et al. *Borrelia burgdorferi* sensu lato, *Anaplasma phagocytophilum*, *Francisella tularensis* and their co-infections in host-seeking *Ixodes ricinus* ticks collected in Serbia. **Experimental & Applied Acarology**, v. 45, n. 3-4, p. 171-183, 2008.

NYINDO, M. B. et al. Immune response of ponies to experimental infection with *Ehrlichia equi*. **American Journal of Veterinary Research**, v. 39, n. 1, p. 15-18, 1978.

OGDEN, N. H.; WOLDEHIWET, Z.; HART, C. A. Granulocytic ehrlichiosis: an emerging or rediscovered tick-borne disease? **Journal of Medical Microbiology**, v. 47, n. 6, p. 475-482, 1998.

OGDEN, N. H. et al. A review of studies on the transmission of *Anaplasma phagocytophilum* from sheep: implications for the force of infection in endemic cycles. **Experimental and Applied Acarology**, v. 28, n.1-4, p. 195-202, 2002.

OHASHI, N. et al. *Anaplasma phagocytophilum* - infected ticks, Japan. **Emerging Infectious Diseases**, v. 11, n. 11, p. 1780-1783, 2005.

OLANO, J. P.; WALKER, D. H. Human ehrlichiosis. **Medical Clinics of North America**, v. 86, p. 375-392, 2002.

OLIVER, O. E.; STÄMPFLI, H. Acute diarrhea in the adult horse: case example and review. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 22, n. 1, p. 73-84, 2006.

OTHEO, J. A.; BROUQUI, P. Ehrlichiosis y anaplasmosis humana. **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**, v. 23, n. 6, p. 375-380, 2005.

OOSHIRO, M. et al. Detection of *Anaplasma bovis* and *Anaplasma phagocytophilum* from cattle on Yonaguni Island, Okinawa, Japan. **Veterinary Parasitology**, v. 4, n. 154, p. 360-364, 2008.

PADDOCK, C. D.; CHILDS, J. E. M. Ehrlichia chaffeensis: a prototypical emerging pathogen. **Clinical Microbiology Reviews**, v.16, p.37-64, 2003.

PALMER, J. E. Potomac horse fever. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 9, p. 399–410, 1993.

PANCHOLI, P. et al. *Ixodes dammini* as a potential vector of human granulocytic ehrlichiosis. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 172, n. 4, p. 1007-1012, 1995.

PARRA, A. C. **Investigação diagnóstica de doença concomitante babesiose anaplasmosse em rebanho equino por PCR e Elisa**. 2009. 78 f. Tese (Doutorado em Clínica Veterinária) – Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de São Paulo, 2009.

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

PEREIRA, M. A. V. C. et al. Variação da sorotitulação ao teste de Fixação do Complemento para *Babesia equi* e *Babesia caballi* em equinos da região serrana do RJ. **ARS Veterinária**, v. 21,n. 3, p. 338-343, 2005.

PETROVEC, M. et al. Human disease in Europe caused by a granulocytic Ehrlichia species. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 35, p. 1556–1559, 1997.

PETROVEC, M. et al. Infection with *Anaplasma phagocytophilum* in cervids from Slovenia: Evidence of two genotypic lineages. **Wiener Klinische Wochenschrift**, v. 114, p. 641–647, 2002.

PETROVEC, M. et al. Infections of wild animals with *Anaplasma phagocytophilum* in Austria and the Czech Republic. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 990, p. 103–106, 2003.

PHILIP, C.B. Tribe II Ehrlichieae. In: BUCHANAN, R. E.; GIBBONS, N. E. **Bergey's Manual of Determinative Bacteriology**. 8. ed. Lippincott: Williams & Wilkins, 1974. p. 893-897.

PREZIOSI, D. E.; COHN, L. A. The increasingly complicated story of Ehrlichia. In: \_\_\_\_\_. **Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinary**, 2002. p. 277–288.

PUSTERLA, N. et al. Identification of a granulocytic Ehrlichia strain isolated from a horse in Switzerland and comparison with other rickettsiae of the *Ehrlichia phagocytophila* genogroup. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 36, n. 7, p. 2035-2037, 1998.

PUSTERLA, N. et al. Helminthic transmission and isolation of *Ehrlichia risticii*, the causative agent of Potomac horse fever, by using trematode stages from freshwater stream snails. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 38, n. 3, p. 1293-1297, 2000a.

PUSTERLA, N. et al. Detection and quantitation of *Ehrlichia risticii* genomic DNA in infected horses and snails by real-time PCR. **Veterinary Parasitology**, v. 10, n. 90, p. 129-35, 2000b.

PUSTERLA, N. et al. Experimental inoculation with human granulocytic *Ehrlichia* agent derived from high- and low-passage cell culture in horses. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 38, n. 3, p. 1276-1278, 2000c.

PUSTERLA, N. et al. Susceptibility of cattle to infection with *Ehrlichia equi* and the agent of human granulocytic ehrlichiosis. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 218, n. 7, p. 1160-1162, 2001.

PUSTERLA, N. et al. Transmission of *Anaplasma phagocytophila* (human granulocytic ehrlichiosis agent) in horses using experimentally infected ticks (*Ixodes scapularis*). **Journal of Veterinary Medicine Series. B- infectious Diseases and Veterinary Public Health**, v. 49, n. 10, p. 484-488, 2002.

QASBA, N. et al. A case report of human granulocytic anaplasmosis (ehrlichiosis) in pregnancy and a literature review of tick-borne diseases in the United States during pregnancy. **Obstetrical & Gynecological Survey**, v. 66, n. 12, p. 788-796, 2011.

RADOSTITS, O. M. et al. **Veterinary Medicine: A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs, and goats**. Philadelphia: Elsevier, 2007. 1880 p.

REJMANEK, D.; BRADBURD, G.; FOLEY, J. Molecular characterization reveals distinct genospecies of *Anaplasma phagocytophilum* from diverse North American hosts. **Journal of Medical Microbiology**, v. 61, p. 204-12, 2012.

REUBEL, G. H.; BARLOUGH, J. E.; MADIGAN, J. E. Production and characterization of *Ehrlichia risticii*, the agent of Potomac horse fever, from snails (Pleuroceridae: *Juga* spp.) in aquarium culture and genetic comparison to equine strains. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 36, p. 1501-1511, 1998.

REUBEL, G. H. et al. Experimental transmission of *Ehrlichia equi* to horses through naturally infected ticks (*Ixodes pacificus*) from Northern California. **Journal of Clinical Microbiology**, v.36, n.7, p. 2131-2134, 1998.

RIET-CORREA, F. et al. **Doenças de Ruminantes e Equideos**. 3. ed. Santa Maria: Pallotti, 2007. 2 v.

RIKIHISA, Y. The tribe Ehrlichieae and ehrlichial diseases. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 4, p. 286- 308, 1991.

RIKIHISA, Y. New Findings on Members of the Family Anaplasmataceae of Veterinary Importance. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1078, p. 438-445, 2006.

RIKIHISA, Y. Molecular events involved in cellular invasion by *Ehrlichia chaffeensis* and *Anaplasma phagocytophilum*. **Veterinary Parasitology**, v. 10, n. 167, p. 155-66, 2010a.

RIKIHISA, Y. *Anaplasma phagocytophilum* and *Ehrlichia chaffeensis*: subversive manipulators of host cells. **Nature Reviews Microbiology**, v. 8, n. 5, p. 328-339, 2010b.

RIKIHISA, Y.; LIN, M. *Anaplasma phagocytophilum* and *Ehrlichia chaffeensis* type IV secretion and Ank proteins. **Current Opinion in Microbiology**, v. 13, n. 1, p. 59-66, 2010.

RISTIC, M. et al. Diagnosis of equine monocytic ehrlichiosis (Potomac horse fever) by indirect immunofluorescence. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 1, n.189, p. 39-46, 1986.

ROELLIG, D. M.; FANG, Q. Q. Detection of *Anaplasma phagocytophilum* in Ixodid Ticks from Equine-Inhabited Sites in the Southeastern United States. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v. 12, p. 330-332, 2012.

SACCHI, A. B. V. **Identificação e prevalência de agentes rickettsiais (Rickettsiales: Anaplasmataceae) em cervo-do-pantanal (*Blastocerus dichotomus*) utilizando métodos sorológico e molecular.** 2009. 76 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária, Patologia Animal) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2009.

SALVAGNI, C. A. et al. Serologic evidence of equine granulocytic anaplasmosis in horses from central West Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 19, p. 135-140, 2010.

SANTOS, H. A. et al. Detection of *Anaplasma phagocytophilum* in Brazilian dogs by real-time PCR. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 23, n. 4, p. 770-774, 2011.

SARIH, M. et al. Detection and identification of *Ehrlichia* spp. in ticks collected in Tunisia and Morocco. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 43, n. 3, p. 1127-32, 2005.

SATTA, G. et al. Pathogens and symbionts in ticks: a survey on tick species distribution and presence of tick-transmitted micro-organisms in Sardinia, Italy. **Journal of Medical Microbiology**, v. 60, p. 63-8, 2011.

SCHARF, W. et al. Distinct Host Species Correlate with *Anaplasma phagocytophilum* ankA Gene Clusters. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 49, n. 3, p. 790-796, 2011.

SELLON, D. C.; LONG, M. **Equine Infectious Diseases**. Saint Louis: Saunders, 2007. 672 p.

SIDELNIKOV, Y. N. et al. Clinical and laboratory features of human granulocytic ehrlichiosis in the south of Russian Far East. **Epidemiologia i Infecções**, v. 3, p. 28–31, 2002.

SILAGHI, C.; LIEBISCH, G.; PFISTER, K. Genetic variants of *Anaplasma phagocytophilum* from 14 equine granulocytic anaplasmosis cases. **Parasites & Vectors**, v. 16, n. 4, p.161, 2011.

SMRDEL, K. S. et al. *Anaplasma phagocytophilum* in ticks in Slovenia. **Parasite & Vectors**, v. 3, p. 1-2, 2010.

STAŃCZAK, J. Detection of spotted fever group (SFG) rickettsiae in *Dermacentor reticulatus* (Acari: Ixodidae) in Poland. **International Journal of Medical Microbiology**, v. 296, n. 40, p. 144-148, 2006.

STANNARD, A. A.; GRIBBLE, D. H.; SMITH, R. S. Equine ehrlichiosis: a disease with similarities to tick-borne fever and bovine petechial fever. **Veterinary Record**, v. 84, p.149-150, 1969.

STEIN, A.; RAOULT, D. A simple method for amplification of DNA from paraffin-embedded tissues. **Nucleic Acids Research**, v.20, n.19, p. 5237-5238, 1992.

STRLE, F. Human granulocytic ehrlichiosis in Europe. **International Journal of Medical Microbiology**, v.293, p. 27–35, 2004.

STUEN, S. *Anaplasma phagocytophilum* - the most widespread tick-borne infection in animals in Europe. **Veterinary Research Communications**, v.31, p. 79–84, 2007.

SUMNER, J. W.; NICHOLSON, W. L.; MASSUNG, R. F. PCR amplification and comparison of nucleotide sequences from the groESL heat shock operon of Ehrlichia species. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 35, p. 2087–2092, 1997.

SUSKSAWT, J.; HEGARTY, B. C.; BREITSCHWERDT, E. B. Seroprevalence of *Ehrlichia canis*, *Ehrlichia equi* and *Ehrlichia risticii* in sick dogs from North Carolina and Virginia. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.14, p.50–55, 2000.

TEGLAS, M. et al. Ticks and tick-borne disease in Guatemalan cattle and horses. **Veterinary Parasitology**, v.15, p. 119-127, 2005.

TEGLAS, M. B.; FOLEY, J. Differences in the transmissibility of two *Anaplasma phagocytophilum* strains by the North American tick vector species, *Ixodes pacificus* and *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae). **Experimental and Applied Acarology**, v. 38, n.1, p. 47-58, 2006.

TOMANOVIĆ, S. et al. **Analysis of pathogen co-occurrence in host-seeking adult hard ticks from Serbia..** Disponível em: <<http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs10493-012-9597-y>>. Acesso em 18 ago. 2012.

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

VAN ANDEL, A. E. et al. Development and duration of antibody response against *Ehrlichia equi* in horses. **The Journal of the American Medical Association**, v. 15, n. 212, p. 1910-1914, 1998.

VAN DER KOLK, J. H.; VAN DER WIJDEN, M. W.; JONGEJAN, F. Equine granulocytic ehrlichiosis (EGE), a review. **Tijdschr Diergeneeskde**, v. 1, n. 118, p. 227-229, 1993.

VON LOEWENICH, F. D. et al. A case of equine granulocytic ehrlichiosis provides molecular evidence for the presence of pathogenic *Anaplasma phagocytophilum* (HGE agent) in Germany. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, v. 22, n. 5, p. 303-305, 2003.

VOROU, R. M.; PAVASSILIOU, V. G.; TSIODRAS, S. Emerging zoonoses and vector-borne infections affecting humans in Europe. **Epidemiology and Infection**, v.135, p.1231–1247, 2007.

WALKER, D. H.; DUMLER, J. S. Emergence of the ehrlichioses as human health problems. **Emerging Infectious Diseases**, v. 2, n. 1, p. 18-29, 1996.

WHIST, S. K. et al. Modulation of leukocyte populations and immune responses in sheep experimentally infected with *Anaplasma* (formerly *Ehrlichia*) *phagocytophilum*. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 15, n. 94, p. 163-75, 2003.

WOLDEHIWET, Z. The natural history of *Anaplasma phagocytophilum*. **Veterinary Parasitology**, v.167, p. 108–122, 2010.

YOSHIE, K. et al. Intracellular infection by the human granulocytic ehrlichiosis agent inhibits human neutrophil apoptosis. **Infection and Immunity**, v. 68, p. 1125–1133, 2000.

YOSHIMOTO, K. et al. Detection of *Anaplasma bovis* and *Anaplasma phagocytophilum* DNA from *Haemaphysalis megaspinosa* in Hokkaido, Japan. **Veterinary Parasitology**, v. 26, n. 168, p. 170-172, 2010.

ZEMAN, P.; JAHN, P. An entropy-optimized multilocus approach for characterizing the strains of *Anaplasma phagocytophilum* infecting horses in the Czech Republic. **Journal of Medical Microbiology**, v. 58, n. 4, p. 423-429, 2009.

ZHAN, L. et al. *Anaplasma phagocytophilum* from rodents and sheep, China. **Emerging Infectious Diseases**, v.16, n.5, p. 764-768, 2010.

ZHANG, S. et al. Seroprevalence of human granulocytotropic anaplasmosis in central and southeastern China. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 81, n. 2, p. 293-295, 2009.

ZIMMERMAN, K. L.; CRISMAN, M. V. Diagnostic equine serology. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 24, n. 2, p. 311-334, 2008.