

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
DEPARTAMENTO DE HIGIENE VETERINÁRIA E SAÚDE PÚBLICA

**AVALIAÇÃO ELETROCARDIOGRÁFICA NA
EHRlichiose MONOCÍTICA CANINA AGUDA**

MAYRA DE CASTRO FERREIRA LIMA

Botucatu – SP

2018

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
DEPARTAMENTO DE HIGIENE VETERINÁRIA E SAÚDE PÚBLICA

AVALIAÇÃO ELETROCARDIOGRÁFICA NA EHRlichiose MONOCÍTICA CANINA AGUDA

Mayra de Castro Ferreira Lima

Dissertação apresentada junto ao Programa de
Pós-Graduação em Medicina Veterinária para
obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Antonio Carlos Paes

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Lima, Mayra de Castro Ferreira.

Avaliação eletrocardiografica na ehrlichiose monocítica
canina aguda / Mayra de Castro Ferreira Lima. - Botucatu,
2018

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista
"Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina
Veterinária e Zootecnia

Orientador: Prof. Dr. Antonio Carlos Paes

Capes: 50502034

1. Cães - Doenças. 2. Variabilidade do batimento
cardíaco. 3. Sistema Nervoso Autônomo. 4. Miocardite. 5.
Ehrlichiose.

Palavras-chave: tônus autonômico; VFC; cães; miocardite.

Nome do Autor: Mayra de Castro Ferreira Lima

Título: Avaliação eletrocardiográfica na Ehrlichiose Monocítica Canina Aguda

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Adj. Dr. Antonio Carlos Paes

Presidente e Orientador

Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - UNESP – Botucatu,SP

Prof^a. Ass. Dr^a. Maria Lúcia Gomes Lourenço

Membro Titular

Departamento de Clínica Veterinária

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - UNESP – Botucatu,SP

Prof^o Dr^o Rodrigo Prevedello Franco

Membro Titular

Universidade de Marília – UNIMAR – Marília,SP

Data da Defesa: 11 de maio de 2018

DEDICATÓRIA

Dedico essa dissertação aos meus pais Nilcéia e Carlos, pois sem vocês eu não teria chegado até aqui, ao meu irmão Junior, e ao meu namorado Virgílio, por ser meu cúmplice e companheiro de todas as horas.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Carlos e Nilcéia, em especial a minha mãe que me apoiou em todos os momentos, me deu força, e confiança para sempre continuar em frente e nunca desistir e assim tonar possível este dia.

Ao meu irmão que sempre foi capaz de me distrair nos momentos de tensão da dissertação. Obrigada.

Virgílio, obrigada por ser uma das pessoas mais incríveis que eu já conheci. Obrigada por dividir a vida comigo, mesmo nos dias de mau humor e me ajudar quando eu pensei em desistir, não deixar e me mostrar que é junto que vamos em frente, na alegria, na tristeza e no prazo da dissertação na mesma semana.

Agradeço imensamente ao meu orientador, Prof. Paes, por toda a paciência e infinitos conhecimentos divididos desde a graduação. Obrigada pela oportunidade desde a residência e a confiança durante todos esses anos de parceria.

À professora Malu, que me acolheu no Serviço de Cardiologia Veterinária da FMVZ – UNESP confiou à rotina do seu serviço e me ensinou com toda paciência e dedicação e com isso permitiu que eu desse os primeiros passos na minha jornada cardiológica que esta somente no começo. Obrigada professora, não somente pelos ensinamentos na cardiologia, mas também por toda a dedicação ao projeto, as dúvidas clínicas, profissionais e pessoais. Obrigada por ser sempre alguém que podemos contar.

Aos colegas de pós-graduação obrigada pela amizade e pelo auxílio tanto teórico quanto prático nas diversas atividades na universidade, aprendi muito com todos vocês, foi uma honra participar desta equipe. Em especial gostaria de agradecer a Juliana (Kracu) que me ensinou a fazer os primeiros Ecocardiogramas, sem você essa jornada seria muito mais difícil. À Marília Caxito (Uro), por todo apoio desde a residência até a conquista do “N” e o final da dissertação.

Às amigas Amanda e Luciene por toda amizade e companheirismo. Pela companhia nos dias de rotina, as conversas até altas horas, as cervejas de fim de semana, os ensinamentos divididos entre nós. Vocês me ensinaram muito, só tenho a agradecer por vocês terem entrado na minha vida, além de muito conhecimento o mestrado me deu a oportunidade de conhecer duas pessoas maravilhosas!!

Aos Residentes do MIII! Joyce (Bigols), Mariana (Ródo), Luciana (Mini), André (Dedé), Fábio (Boçô), Bruna (Trans), Carol (Xupa), Ivan (Bullying), Naty (Eclusa), Aline e Isa. Muito Obrigada, sem vocês o N seria impossível!!

Aos Residentes da CMPA, por toda colaboração no meu aprendizado na cardiologia, por marcar exames pra mim!!!uhullll! Obrigada por dividir esses anos na rotina comigo!

Ao Professor Rodrigo Prevedello por aceitar prontamente a participar da minha banca avaliadora para engrandecer mais ainda este trabalho com suas contribuições.

À Pós-graduação em Medicina Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia- UNESP, Campus de Botucatu-SP.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) pela concessão da bolsa de mestrado.

Agradeço à FMVZ – UNESP - Botucatu e a todos os professores que fizeram e fazem parte da minha formação. A todos que de alguma forma contribuíram pra que eu pudesse realizar esse sonho e por me incentivarem a chegar cada vez mais longe!

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Média e desvio padrão dos parâmetros hematológicos em animais do grupo doente (ehrliquiose monocítica aguda) e do grupo controle e valor P.....	40
Tabela 2 - Média e desvio padrão das análises bioquímicas em animais do grupo doente (ehrliquiose monocítica aguda) e do grupo controle e valor P.....	41
Tabela 3 - Média e desvio-padrão dos parâmetros no eletrocardiograma convencional em animais do grupo doente (ehrliquiose monocítica aguda) e do grupo controle valor P.....	42
Tabela 4 - Média e desvio padrão dos parâmetros da variabilidade de frequência cardíaca no domínio do tempo no eletrocardiograma ambulatorial (Holter) em animais do grupo doente (ehrliquiose monocítica aguda) e do grupo controle e valor P.....	43
Tabela 5 - Média e desvio padrão dos parâmetros da variabilidade de frequência cardíaca no domínio da frequência no eletrocardiograma ambulatorial (Holter) em animais do grupo doente (ehrliquiose monocítica aguda) e do grupo controle e valor P.....	44
Tabela 6 - Média, desvio padrão, mediana e quartis dos índices de variabilidade da frequência cardíaca no domínio da frequência em relação ao período de sono e vigília e valor P no grupo doente.....	45
Tabela 7 - Média, desvio padrão, mediana e quartis dos índices de variabilidade da frequência cardíaca no domínio da frequência em relação ao período de sono e vigília e valor P no grupo controle.....	45
Tabela 8 - Correlação entre os índices de VFC no domínio do tempo e da frequência nos períodos de sono e vigília	46

Apêndices

Tabela 9 - Correlação entre os índices de VFC no domínio do tempo e da frequência nos períodos de sono e vigília	62
---	-----------

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO II – TRABALHO CIENTÍFICO

“AVALIAÇÃO ELETROCARDIOGRAFICA CONVENCIONAL E HOLTER EM CÃES NATURALMENTE INFECTADOS POR EHRlichiose MONOCÍTICA CANINA AGUDA”

- Gráfico 1-** Distribuição amostral dos valores de pressão arterial sistêmica (mmHg) entre os grupos doente e controle..... **22**
- Gráfico2-** Distribuição amostral da duração do complexo QRS (ms) ao eletrocardiograma entre os grupos doente e controle..... **22**
- Gráfico 3 -** Distribuição amostral dos índices de VFC no domínio do tempo, SDNN (ms) (A) e SDNNindex (B) ao Holter entre os grupos doente e controle..... **25**
- Gráfico 4-** Distribuição amostral dos índices de VFC no domínio da frequência dos grupos doente e controle: A) no período de sono HF (ms²); B) HF (n.u.); C) LF/HF; D) LF (n.u.); E) no período de vigília LF (ms²). **26**
- Gráfico 5-** Distribuição amostral dos índices de VFC no domínio da frequência no grupo controle nos períodos de sono e vigília: A) HF (ms²); B) LF/HF; C) LF (n.u.);D) HF (n.u.). **27**
- Gráfico 6 -** Distribuição amostral de LF (ms²) ao Holter no grupo doente nos períodos de sono e vigília..... **27**

Apêndices

Gráfico 7 - Distribuição amostral da pressão arterial sistêmica (mmHg) entre os grupos doente e controle	63
Gráfico 8 - Distribuição amostral do número de hemácias ($\times 10^6/\mu\text{L}$) entre os grupos doente e controle.....	64
Gráfico 9 - Distribuição amostral da concentração de hemoglobina (g/dL) entre os grupos doente e controle.....	64
Gráfico 10 - Distribuição amostral do volume globular (%) entre os grupos doente e controle.....	64
Gráfico 11 - Distribuição amostral da concentração de proteína plasmática (g/dL) total entre os grupos doente e controle.....	65
Gráfico 12 - Distribuição amostral de plaquetas ($\times 10^3/\text{mm}^3$) entre os grupos doente e controle.....	65
Gráfico 13 - Distribuição amostral do número total de leucócitos ($\times 10^3/\mu\text{L}$) entre os grupos doente e controle.....	66
Gráfico 14 - Gráfico da distribuição amostral da concentração de albumina (g/dL) entre os grupos doente e controle.....	66
Gráfico 15 - Distribuição da concentração de globulina (g/dL) entre os grupos doente e controle.....	67
Gráfico 16 - Distribuição amostral da duração do complexo QRS (ms) no eletrocardiograma entre os grupos doente e controle.....	67
Gráfico 17 - Distribuição amostral da amplitude da onda P (mV) no eletrocardiograma entre os grupos doente e controle.....	68
Gráfico 18 - Distribuição amostral de SDNN (ms) no Holter entre os grupos doente e controle.....	68
Gráfico 19 - Distribuição amostral de SDNNindex no Holter entre os grupos doente e controle.....	69
Gráfico 20 - Distribuição amostral de HF (ms^2) no Holter entre os grupos doente e controle.....	69
Gráfico 21 - Distribuição amostral de LF/HF no Holter entre os grupos doente e	

controle.....	70
Gráfico 22 - Distribuição amostral LF (ms^2) vigília no Holter entre os grupos doente e controle.....	70
Gráfico 23 - Distribuição amostral de HF (n.u.) sono no Holter entre os grupos doente e controle.....	71
Gráfico 24 - Distribuição amostral de LF (n.u.) sono no Holter entre os grupos doente e controle.....	71
Gráfico 25 - Distribuição amostral de HF (ms^2) no Holter no grupo controle nos períodos de sono e vigília	72
Gráfico 26 - Distribuição amostral de LF (ms^2) no Holter no grupo doente nos períodos de sono e vigília	72
Gráfico 27 - Distribuição amostral de LF/HF no Holter no grupo controle nos períodos de sono e vigília.....	73
Gráfico 28 - Distribuição amostral de HF (n.u.) no Holter no grupo controle nos períodos de sono e vigília.....	73
Gráfico 29 - Distribuição amostral de LF (n.u.) no Holter no grupo controle nos períodos de sono e vigília.....	74

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CME: Canine monocytic ehrlichiosis

DC: Débito Cardíaco

EKG: Eletrocardiograma

EMC: Ehrlichiose Monocítica Canina

EMH: Ehrlichiose Monocítica Humana

FC: Frequência Cardíaca

HF: *High Frequency*

Hz: Hertz

LF: *Low Frequency*

VLFF: *Very Low Frequency*

ms: Milissegundos

mV: Milivolts

NN ou RR Médio: Intervalo entre duas ondas R consecutivas, ou NN médio de todo o registro

n.u.: unidade normalizada

PNN>50: Percentagem de intervalos RR ou NN adjacentes com diferença de duração superior a 50 milissegundos

RMSSD: Desvio padrão das diferenças entre intervalos RR ou NN normais adjacentes

NSA: Nodo Sinodial

SDANN: Desvio-padrão da média dos intervalos RR ou NN normais a cada cinco minutos

SDNN: Desvio-padrão da média de todos os intervalos RR ou NN normais

SDNNi: Média dos desvios padrão dos intervalos RR ou NN normais a cada cinco minutos

SNA: Sistema Nervoso Autônomo

SNC: Sistema Nervoso Central

SNP: Sistema Nervoso Parassimpático

SNS: Sistema Nervoso Simpático

VFC: Variabilidade da Frequência Cardíaca

SUMÁRIO

RESUMO	1
ABSTRACT	2
CAPÍTULO I – REVISÃO DE LITERATURA	3
1. Introdução.....	4
2. Revisão de Literatura.....	5
3. Objetivos.....	11
4. Hipótese.....	12
CAPÍTULO II – TRABALHO CIENTÍFICO	13
“AVALIAÇÃO ELETROCARDIOGRAFICA CONVENCIONAL E HOLTER EM CÃES NATURALMENTE INFECTADOS POR EHRlichiose MONOCÍTICA CANINA AGUDA”	
CAPITULO III	47
DISCUSSÃO GERAL.....	47
CONCLUSÃO GERAL.....	50
REFERÊNCIAS.....	51
NORMAS DA REVISTA.....	60
APÊNDICES.....	61

LIMA, M.C.F. **Avaliação eletrocardiográfica na Ehrlichiose Monocítica Canina Aguda.** Botucatu. 2018. p.74. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP).

RESUMO

A ehrlichiose monocítica canina (EMC) é uma enfermidade causada pela bactéria *Ehrlichia canis*, mundialmente difundida, principalmente em regiões de clima quente devido à maciça presença de seu vetor, o carrapato *Rhipicephalus sanguineus*. A miocardite infecciosa em cães é comprovada por estudos histopatológicos na ehrlichiose monocítica canina em fase crônica. Estudos anteriores demonstraram arritmias associadas a miocardite em cães com EMC na fase crônica, porém os estudos relacionados às afecções cardíacas na EMC durante a fase agudas são escassos. O presente estudo teve como objetivo avaliar as alterações cardíacas elétricas e a variabilidade da frequência cardíaca no domínio do tempo e da frequência em cães com ehrlichiose monocítica aguda. Foram avaliados 22 animais divididos em dois grupos: grupo controle (GC) composto por 10 cães saudáveis e grupo doente (GD), composto por 12 cães infectados naturalmente por ehrlichiose, apresentando sinais clínicos e hematológicos da doença na fase aguda. Foi realizado eletrocardiograma convencional, eletrocardiograma ambulatorial Holter, aferição da pressão arterial sistêmica, hemograma e análises bioquímicas (uréia, creatinina, ALT, FA e GGT). Os resultados encontrados no GD demonstraram predomínio da atividade do sistema nervoso autônomo simpático sobre o parassimpático com aumento da frequência cardíaca média e diminuição dos índices de variabilidade da frequência cardíaca no domínio do tempo e da frequência. Quanto ao ritmo cardíaco, 58,33% dos animais apresentaram taquicardia sinusal predominante. Não foram observadas arritmias de repercussão hemodinâmica significativa durante a monitoração dos animais em ambos os grupos. A pressão arterial sistêmica média diferiu entre os grupos estudados. As concentrações séricas de ureia, creatinina, FA, ALT, GGT estavam dentro dos valores de referência para a espécie. Não foram encontrados dados que comprovem que na fase aguda houve tempo de evolução suficiente da doença para causar danos que tenham como consequências arritmias, assim como ocorre na fase crônica, apesar disso, houve diminuição dos índices de variabilidade da frequência cardíaca nos animais doentes.

Palavras-chave: VFC, tônus autonômico, cães, miocardite

LIMA, M.C.F. **Electrocardiographic evaluation on Canine Acute Monocytic Ehrlichiosis.** Botucatu. 2018. p.74. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP).

ABSTRACT

Canine monocytic ehrlichiosis (CME) is a disease caused by the bacteria *Ehrlichia canis*, which is widespread worldwide, especially in hot climates due to the massive presence of its vector, the tick *Rhipicephalus sanguineus*. The infectious myocarditis in dogs is confirmed by histopathological studies on canine monocytic ehrlichiosis in the chronic phase. Previous studies have demonstrated arrhythmias associated with myocarditis in dogs with chronic phase EMC, but studies related to heart conditions in acute phase EMC are scarce. The present study aimed to evaluate cardiac changes and heart rate variability in time and frequency domain. Twenty-two animals were divided into two groups: a control group (CG) composed of 10 healthy dogs and a sick group (DG), composed of twelve dogs naturally infected by ehrlichiosis, presenting clinical and haematological signs of the disease in the acute phase. A conventional electrocardiogram, Holter ambulatory electrocardiogram, blood pressure measurement, blood count and biochemical analyzes (urea, creatinine, ALP, ALT, and GGT) were performed. In GD, the predominance of sympathetic autonomic nervous system activity on the parasympathetic was observed, with an increase in mean heart rate and a decrease in heart rate variability indexes in time and frequency domain. As to heart rate, 58.33% of the animals presented predominant sinus tachycardia. No significant clinical repercussion arrhythmias were observed during the monitoring of the animals in both groups. The mean systemic blood pressure differed between the groups studied. Serum concentrations of urea, creatinine, ALP, ALT, GGT were within the reference values for the species. No data were found to confirm that in the acute phase there was enough time for the disease to cause damage that would have arrhythmias, as it does in the chronic phase. However, there was a decrease in heart rate variability in sick animals.

Key words: heart rate variability, autonomic tónus, dogs, myocarditis

CAPÍTULO I

REVISÃO DE LITERATURA

INTRODUÇÃO

A Ehrlichiose Monocítica Canina (EMC) é altamente endêmica no Brasil e no mundo (excetuando-se a Austrália), estima-se que cerca de 20% dos cães atendidos em clínicas e hospitais veterinários apresentem a doença (LABARTHE et al., 2003). Atualmente, inquéritos soroepidemiológicos exibem valores que variam entre 35 e 50% na ocorrência de cães sororreagentes para *Ehrlichia* spp (VIEIRA et al., 2011; SANTARÉM e AGUIAR, 2016). A EMC, causa grandes prejuízos à saúde dos cães. Esforços são feitos diariamente para controlar essa enfermidade, no entanto, sem sucesso, principalmente devido ao vetor artrópode estar amplamente disseminado por todo o planeta, ser de difícil controle, não existir uma profilaxia adequada e os animais não adquirirem proteção imunológica após o primeiro contato com a doença (LABARTHE et al., 2003)

As doenças infecciosas em geral causam alterações cardíacas em cães. A infecção por *E. canis* está associada a uma possível causa de lesões miocárdicas em cães (KITTELESON, 1998). Sabe-se que há hemorragia endocárdica e epicárdica, no entanto, ainda não está completamente elucidado se estas lesões são primárias, pela ação do agente, ou secundária à coagulação intravascular disseminada ou síndrome da resposta inflamatória sistêmica que acomete animais em quadros graves da doença (PRICE e SAYER, 1983).

Foram observadas arritmias importantes e aumento da troponina cardíaca do tipo I (cTnI) em 35% dos animais infectado por *E. canis* por DINIZ (2008) e, FILIPPI (2016), observou 45% de arritmias em animais infectados por *E. canis* na fase crônica da doença, com aumento de troponina cardíaca I concomitante, nos animais com quadros arritmicos mais graves. SANCHES (2015), em estudo histopatológico do coração de cães infectados por *E. canis*, na fase crônica, observou alterações vasculares em 68,75% dos pacientes, como petéquias equimóticas em átrio, endocárdio e pericárdio, condizentes com a presença de vasculite intensa e edema, congestão, hemorragia, necrose, infiltrados neutrofílico, linfocitário, linfoplasmocitário e plasmocitário.

O presente estudo teve por objetivo, investigar as alterações eletrocardiográficas identificadas pelos métodos convencional computadorizado e holter em cães infectados naturalmente por *E. canis* na fase aguda.

1. REVISÃO DE LITERATURA

A Ehrlichiose Monocítica Canina foi descrita pela primeira vez durante a segunda guerra mundial, e desde então, vem sendo observada em diversas regiões do mundo (MATTHEWMAN et al., 1993; PRETORIUS e KELLY, 1998; BATMAZ et al., 2001; SUTO et al., 2001, SANTARÉM e AGUIAR, 2016).

A transmissão ocorre por um vetor artrópode, o carrapato *Rhipicephalus sanguineus*, sendo a contaminação deste, transestadial (COHN, 2003), podendo infectar um animal susceptível por pelo menos 155 dias (GROVES et al., 1975), tendo como reservatórios naturais, canídeos silvestres e domésticos (EVERMANN et al., 2012).

A EMC é subdividida em três fases: aguda, subclínica e crônica. A fase aguda caracteriza-se período em que o microorganismo dissemina-se pelos órgãos, principalmente linfonodos, baço e fígado até atingir endotélio vascular, pulmão, rins e meninges e tem duração média de duas a quatro semanas. Os sinais clínicos apresentados pelo animal são inespecíficos, como apatia, anorexia, vômitos, febre, descarga nasal e ocular, perda de peso, lesões oculares, linfadenopatias e hepatoesplenomegalia (SYKES, 2010). Na fase aguda as alterações hematológicas observadas são anemia normocítica normocrômica discreta, leucopenia discreta ou contagem normal de leucócitos, trombocitopenia intensa (HARRUS, 2015; SANTARÉM e AGUIAR, 2016).

A fase subclínica caracteriza-se pela ausência de sinais clínicos, trombocitopenia persistente, variável leucopenia com duração média de seis a nove semanas (SYKES, 2010; SANTARÉM e AGUIAR, 2016).

Na fase crônica, os sinais clínicos variam de brandos até graves. O mais observado é a pancitopenia (anemia intensa somada à leucopenia e trombocitopenia) associada muitas vezes com mielossupressão, linfocitose e plasmocitose, podendo haver hemorragias, perda de peso, debilidade, alterações oftálmicas, poliúria, polidipsia, sinais neurológicos compatíveis com meningoencefalite, polimiosite e edema (SANTARÉM e AGUIAR, 2016). As alterações bioquímicas observadas nessa fase incluem hipoalbuminemia, hiperglobulinemia normalmente relacionada a uma gamopatia monoclonal ou policlonal, aumento da atividade das enzimas alanina aminotransferase (ALT) e da fosfatase alcalina (FAL), proteinúria e menos frequente, aumento da concentração de uréia sérica (SYKES, 2010; HARRUS, 2015).

O diagnóstico da enfermidade é realizado associando-se achados clínicos, laboratoriais e epidemiológicos com a identificação molecular da bactéria, realizado através da reação em cadeia da polimerase (PCR) em duas etapas, *nested* PCR, de sangue total colhido em tubo com EDTA (HARRUS e WANER, 2011).

O tratamento preconizado pela *American College of Veterinary Internal Medicine* (ACVIM) em 2002 é a Doxiciclina 10 mg/kg a cada 24 horas, por via oral ou endovenosa, durante 28 dias (NEER et al., 2002). No Serviço de Enfermidades Infecciosas da FMVZ- UNESP- Campus Botucatu, o protocolo instituído para os animais acometidos com a doença é Doxiciclina 15 mg/kg a cada 24 horas, por via oral ou endovenosa, com duração de 30 dias (SANTARÉM e AGUIAR, 2016).

A infecção por *E. canis* está associada a uma possível causa de lesões miocárdicas em cães (KITTLESON, 1998). Sabe-se que há hemorragia endocárdica e epicárdica, no entanto, ainda não está completamente elucidado se estas lesões são primárias, pela ação do agente, ou secundárias à coagulação intravascular disseminada ou síndrome da resposta inflamatória sistêmica que acomete animais em quadros graves da doença (PRICE e SAYER, 1983).

Em humanos a ehrlichiose monocítica humana (EMH) causada pela bactéria *Ehrlichia chafensis*, pode causar miocardite aguda em casos graves, principalmente em pacientes imunossuprimidos (HAVENS et al., 2012). Alterações semelhantes, como miocardite, endocardite e arritmias foram encontradas em animais infectados por *Bartonella vinsonii* subespécie *berkhoffii* e espécies de alfa proteobactérias, como *Ehrlichia canis* e protozoários como *Babesia canis* e *Babesia gibsonii*, diagnosticados pela técnica de PCR no sangue e em tecidos (BREITSCHWERDT et al., 1999). O comprometimento cardiovascular provocado pelas doenças infecciosas como a erliquiose, e os possíveis sinais clínicos como as arritmias podem ser visualizados por eletrocardiografia (ECG).

O ECG é um exame complementar utilizado na avaliação clínica, com diferentes objetivos, tais como avaliação pré-operatória, suspeita de distúrbios eletrolíticos e avaliação de diferentes afecções cardíacas, primárias ou secundárias (NETO et al., 2006; CARVALHO et al., 2009; PASCON et al., 2010). Pelo exame eletrocardiográfico, é possível identificar arritmias e distúrbios de condução elétrica (MONTENEGRO et al., 2002). Informações adicionais, como sobrecarga de volume em câmaras cardíacas e presença de efusões pericárdica ou pleural, são obtidas a partir das medidas das ondas e segmentos do traçado eletrocardiográfico do animal em repouso

(SELK GHAFARI, et al., 2009). O ECG padrão é o exame mais empregado na rotina cardiológica para diagnósticos de arritmias, porém é preconizada uma monitoração de aproximadamente dois minutos, o que corresponde a uma pequena porcentagem do dia (0,14%). Isso torna o exame sensível a arritmias contínuas ou frequentes, como fibrilações e complexos prematuros, porém em casos de arritmias ocasionais ou observadas somente durante atividades físicas diárias, sua sensibilidade é reduzida (PASTORE, 2008).

A prevalência de alterações eletrocardiográficas espontâneas (arritmias e distúrbios de condução) em cães sem doença cardíaca é cerca de 0,55% (PATTERSON et al., 1961). Segundo DINIZ et al. (2008) 35% dos animais naturalmente infectados por *E. canis* possuíam alterações eletrocardiográficas, variando entre moderadas a graves, como complexos ventriculares prematuros, taquicardia supraventricular, taquicardia sinusal, ondas T altas e bloqueios do ramo direito do feixe de His, sendo as duas primeiras as associadas à elevação de Troponina cardíaca do tipo I (cTnI); 45% dos animais com EMC na fase crônica apresentaram arritmias combinada com aumento de troponina cardíaca I nos animais com quadros arritmicos mais graves no estudo realizado por FILIPPI (2016). Embora os estudos eletrocardiográficos tenham descrito a presença de arritmias em cães com erliquiose, a monitorização contínua por holter e a quantificação das possíveis arritmias e distúrbios de condução, não foram totalmente investigados, particularmente na fase aguda da doença.

A monitoração eletrocardiográfica ambulatorial ou método Holter é um exame complementar simples, não invasivo e de grande importância na rotina da clínica de pequenos animais, principalmente para identificar e quantificar arritmias e para instituição de um tratamento antiarrítmico. É realizada por exame eletrocardiográfico de longa duração, em que o paciente permanece com um gravador que registra a atividade elétrica cardíaca durante as atividades diárias. Baseado nos traçados obtidos é possível não apenas avaliar as características normais e anormais do eletrocardiograma, como também a modulação do sistema nervoso autônomo no coração, por meio da variabilidade da frequência cardíaca (MARÃES, 2011).

As indicações para a realização do Holter são diversas, tais como diagnóstico de arritmias intermitentes não identificadas no eletrocardiograma convencional, correlação dos sinais clínicos como síncope e convulsões ou do período do dia, com a ocorrência de arritmias. A eletrocardiografia dinâmica também pode ser utilizada para verificação

da necessidade de instituir ou não uma terapia antiarrítmica, avaliação de sua eficácia, diagnóstico de cardiomiopatias ocultas, principalmente a cardiomiopatia dilatada e arritmogênica (OLIVEIRA et al., 2012).

O relatório dos eventos ocorridos durante o exame de Holter é descritivo tanto qualitativamente como quantitativamente, constando principalmente o ritmo de base, a avaliação da condução atrial, atrioventricular e ventricular, a análise das extrassístoles, a relação dos achados eletrocardiográficos com os dados contidos no diário de atividades do paciente (LORGA FILHO et al., 2013).

Fornece também dados sobre a variabilidade da frequência cardíaca, que consiste na estimativa com base em cálculos matemáticos da variação que ocorre no automatismo do coração a cada batimento, levando em consideração as distâncias entre ondas R normais (distância RR ou NN), ou seja, entre batimentos cardíacos regulares (MARÃES, 2010; TONELLO et al., 2014), que são dependentes da geração de impulsos de despolarização involuntária no nodo sinusal comandadas pelo sistema nervoso autônomo, sendo o que sustenta os batimentos cardíacos. O sistema nervoso autônomo simpático, mediado pela ação da adrenalina e da noradrenalina, promove elevação da frequência de despolarizações, enquanto o sistema nervoso autônomo parassimpático, mediado pela acetilcolina e pela ação do nervo vago, diminui. A frequência cardíaca é resultante, portanto, do balanço autonômico entre os sistemas (TILLEY, 1992; KITTLESON, 1998; MARÃES, 2010), sendo a ativação parassimpática a que predomina em situações de repouso (MALIK et al., 1996). A variabilidade da frequência cardíaca avalia justamente o equilíbrio autonômico, ou seja, a maneira que esta se comporta durante as diferentes fases do dia, principalmente durante o estado de sono e vigília (CALVERT, 1998).

O cálculo dos índices de VFC podem ser realizados de duas maneiras, no domínio do tempo e/ou da frequência. O primeiro considera cálculos estatísticos obtidos sobre intervalos RR normais e o segundo, se baseia nas frequências cardíacas sendo transformadas em potência, para análise no poder espectral (CALVERT 1998).

Na análise do domínio do tempo, as variáveis estudadas são diversas, representadas pelo valor médio dos intervalos NN (NNmédio), desvio padrão entre todos os intervalos NN (SDNN), índice que representa a variabilidade global da VFC e reflete todos os componentes de longa duração e ritmos circadianos. O desvio padrão dos valores médios de intervalo NN obtidos a cada 5 minutos (SDANN), reflete as variações devido

a ciclos mais longos que cinco minutos; a média dos desvios padrão entre intervalos NN obtidos a cada 5 minutos (SDNNindex) reflete a variação dos ciclos mais curtos que cinco minutos; a raiz quadrada da média entre as diferenças ao quadrado dos intervalos NN consecutivos (RMSSD) é um componente de curta duração da VFC que representa a atividade do nervo vago e porcentagem de intervalos consecutivos maiores que 50 ms (pNN50) (CALVERT, 1998; OLIVEIRA et al., 2012; MONTEZE, 2014).

Os índices SDNN, SDANN, SDNNindex analisam variações entre batimentos a longo prazo. São úteis para avaliar ambos os sistemas (simpático e parassimpático), no entanto não é possível distinguir a partir deles, se a diminuição da VFC é devido a um aumento do tônus simpático ou uma diminuição do tônus parassimpático. Já os índices RMSSD e pNN50 são variáveis que levam em consideração alterações curtas e rápidas entre intervalos RR adjacentes, sendo possível avaliar a partir desses valores a ação parassimpática (tônus vagal) e a respiração (GOODWIN, 1998; MALIK, 1996; MARÃES, 2010).

No domínio da frequência, a variabilidade da frequência cardíaca é analisada conforme sua oscilação periódica em frequências diferentes durante o exame. A obtenção desses dados basicamente é realizada pelo método de densidade de potência espectral e envolve cálculos matemáticos complexos (VANDERLEY, 2009)

A VFC no domínio da frequência é dividida, em dois grupos, um componente de alta frequência ou *high frequency* (HF) compreende mudanças que ocorrem na faixa de 0,15 a 0,4 Hz que esta relacionado com a atividade parassimpática sobre o coração; e um componente de baixa frequência ou *low frequency* (LF) compreende mudanças que ocorrem na faixa de 0,04 a 0,15 Hz e estão relacionados com ambas as atividades simpática e parassimpática, com predomínio da atividade simpática. A relação entre os dois componentes de baixa e alta frequência (LF/HF) fornece informações valiosas a respeito do balanço autonômico (CALVERT, 1998; VANDERLEY, 2009; MARÃES, 2010).

Em humanos esses índices são utilizados, na detecção do risco de eventos cardiovasculares precoces como a insuficiência cardíaca congestiva, mas não o suficiente para acarretar sinais clínicos (MARÃES, 2010). Nessa fase, já ocorre alteração no controle autonômico, promovendo um aumento da frequência cardíaca devido ao aumento do tônus simpático e diminuição do tônus parassimpático, e conseqüentemente uma diminuição da variabilidade da frequência cardíaca. Também é

usada como marcador prognóstico em pacientes que sofreram infarto agudo do miocárdio (BARROS E BRITO 2005).

Na Medicina Veterinária, estudos recentes em cães demonstraram que os índices de VFC no domínio do tempo apresentavam – se diminuídos em animais com cardiopatias em fases avançadas de doença degenerativa crônica valvar mitral e cardiomiopatia arritmogênica do ventrículo direito. Em animais obesos, escore corporal 8 e 9, também foi observado diminuição significativa dos índices de VFC no domínio do tempo (CHAMAS, 2011;MAZINI, 2013; NAVARRETE, 2013; RASMUSSEN et al., 2014).

2.OBJETIVOS GERAIS

O presente estudo teve como objetivo avaliar as alterações eletrocardiográficas pelos métodos convencional computadorizado e Holter em cães naturalmente infectados por ehrlichiose em fase aguda.

Objetivos específicos:

Avaliar a variabilidade da frequência cardíaca dos animais

Correlacionar os achados de VFC com parâmetros clínicos laboratoriais na forma aguda da doença.

3. Hipóteses

- A ehrlichiose em fase aguda tem caráter arritmogênico assim como o apresentado na fase crônica
- Espera-se que na fase aguda da doença, alterações precoces na VFC já ocorram, em decorrência do processo cardiovascular que se instala.
- Os achados eletrocardiográficos se correlacionam com os sinais clínicos apresentados pelos animais
- A EMC em fase aguda promove alterações eletrocardiográficas

CAPÍTULO II

TRABALHO CIENTÍFICO

1 **Section 1**

2 **Trabalho a ser enviado para Ticks and Tick-borne diseases**

3 **CONVENTIONAL AND HOLTER**
4 **ELECTROCARDIOGRAPHIC ASSESSMENT IN DOGS**
5 **INFECTED NATURALLY WITH ACUTE CANINE**
6 **MONOCYTIC EHRLICHIOSIS**

7 **LIMA, M.F.C.¹; ARAUJO, J.B.²; PAES, A.C.³; FILIPPI, M, G.⁴; TAKAHIRA,**
8 **R.K.⁵; LOURENÇO, M.L.G.⁶**

9 ¹ Department of Veterinary Hygiene and Public Health, São Paulo State University (Unesp),
10 School of Veterinary Medicine and Animal Science, Botucatu, SP, Brazil.
11 mayracfl@hotmail.com

12 ²Department of Veterinary Hygiene and Public Health, São Paulo State University (Unesp),
13 School of Veterinary Medicine and Animal Science, Botucatu, SP, Brazil.
14 jubsaraujo@gmail.com

15 ³Department of Veterinary Hygiene and Public Health, São Paulo State University (Unesp),
16 School of Veterinary Medicine and Animal Science, Botucatu, SP, Brazil.
17 paesacmi@fmvz.unesp.br

18 ⁴Veterinary Clinic Department, São Paulo State University (Unesp), School of Veterinary
19 Medicine and Animal Science, Botucatu, SP, Brazil. mauriciofilippi@terra.com.br

20 ⁵Veterinary Clinic Department, São Paulo State University (Unesp), School of Veterinary
21 Medicine and Animal Science, Botucatu, SP, Brazil. takahira@fmvz.unesp.br

22 ⁶ Veterinary Clinic Department, São Paulo State University (Unesp), School of Veterinary
23 Medicine and Animal Science, Botucatu, SP, Brazil. mege@fmvz.unesp.br

24
25 Corresponding Author: Maria Lucia Gomes Lourenço (mege@fmvz.unesp.br) – Phone: + 55
26 (14) 3880-2044. Veterinary Clinic Department, São Paulo State University (Unesp), School of
27 Veterinary Medicine and Animal Science, Botucatu, SP, Brazil. – Rubião Júnior, Botucatu/SP
28 – s/nº. CEP 18618-970, Botucatu, SP – Brazil.

30 **Abstract**

31 Canine monocytic ehrlichiosis (CME) is a disease of worldwide distribution caused by
32 the bacteria *Ehrlichia canis*, appearing primarily in regions with hot climates due to the
33 massive prevalence of its vector, the tick *Rhipicephalus sanguineus*. Previous studies have
34 shown that dogs afflicted by CME in the chronic phase can develop infectious myocarditis,
35 arrhythmias, and changes in heart rate variability, but few studies are correlating cardiac

36 diseases with the acute phase of CME. This study aims at assessing electric cardiac alterations
37 and the heart rate variability in the time and frequency domains in the acute phase of CME.
38 The study assessed 22 animals divided into two distinct groups: the control group (CG)
39 comprised by ten healthy dogs, and the sick group (SG), comprised of 12 dogs infected
40 naturally with ehrlichiosis and presenting clinical and hematological signs of the acute phase
41 of the disease. The animals underwent conventional and Holter electrocardiographic
42 evaluations, systolic blood pressure measurement, full blood count and biochemical assays
43 (urea, creatinine, ALT, AP, and GGT). The SG presented higher activity in the sympathetic
44 autonomic nervous system than in the parasympathetic autonomic nervous system, a
45 significant increase in the mean heart rate and a reduction in the heart rate variability indexes
46 in the time and frequency domains. The frequency-domain HRV indexes presented a
47 sympathetic prevalence during the sleep and vigilance states. Sinusal tachycardia was the
48 predominant heart rhythm in 58.33% of the animals. The mean systolic blood pressure
49 diverged between the groups and no significant arrhythmias with clinical repercussions were
50 observed during monitoring. The serum concentrations of urea, creatinine, AP, ALT, and
51 GGT were within the established reference values for the species. No data was found proving
52 that there had been enough time in the acute phase for the disease to evolve in a way that
53 caused arrhythmias, as is common in the chronic phase, but the results have shown that in this
54 phase the animals already present reduced heart rate variability indexes.

55

56 **Keywords:** HRV, autonomic tonus, dogs, myocarditis.

57

58

59

60

61

62 **Introduction**

63

64 Canine Monocytic Ehrlichiosis (CME) is an infectious disease of variable severity caused
65 by the bacteria *Ehrlichia canis*, a gram-negative intracellular bacteria of the *Anaplasmataceae*
66 family present in the cells of the mononuclear phagocytic system of infected dogs (Dumler et
67 al., 2001; Evermann, Sellon, Sykes, 2012). CME represents a great health hazard for dogs and
68 efforts are undertaken on a daily basis to control the disease, though most are unsuccessful
69 due to the widespread distribution of the arthropod vector, the lack of adequate prophylaxis
70 and the fact that animals do not develop immunity after their first contact with the disease
71 (Santarém & Aguiar, 2016).

72 Infections by *E. canis* are associated with myocardial injuries in dogs (Kittleson, 1998). It
73 is known that there is endocardial and epicardial bleeding, but it remains unknown whether
74 these injuries are primary, caused by the agent, or secondary to the widespread intravascular
75 clotting or to the systemic inflammatory response syndrome that afflicts animals in severe
76 cases of the disease (Price & Sayer, 1983).

77 Histopathological examination of the hearts of dogs infected by *E. canis* in the chronic
78 phase of the disease often reveal vascular alterations, such as ecchymotic petechiae in the
79 atrium, endocardium and pericardium, in line with cases of severe vasculitis and edema,
80 blockage, hemorrhage, necrosis, neutrophilic infiltrate, lymphocytic infiltrate,
81 lymphoplasmacytic infiltrate and plasmacytic infiltrate (Sanches, 2015).

82 Recent studies in dogs have shown that the time-domain heart rate variability (HRV)
83 indexes were lower in cardiopathic animals in advanced stages of chronic degenerative mitral
84 valve disease and arrhythmogenic cardiomyopathy in the right ventricle. Obese animals, with
85 body condition scores of 8 or 9, not afflicted by heart diseases also presented a significant
86 reduction in the time-domain HRV (Chamas, 2011; Mazini, 2013; Navarrete, 2013;
87 Rasmussen et al., 2014).

88 This study aims at determining clinical, hematological and biochemical parameters in 12
89 dogs infected naturally by *E. canis* in the acute phase of the disease and assess the autonomic
90 nervous system activity through time-domain and frequency-domain HRV indexes since some
91 early alterations are expected in the HRV due to the established cardiovascular process. Also,
92 the study aims at observing if animals in the acute phase of CME present the same arrhythmic

93 events observed in the chronic phase and correlating the electrocardiographic findings and
94 HRV indexes with the clinical signs presented by the sick animals.

95

96 **Materials and methods**

97 This study was conducted by observing the ethical guidelines for animal health and
98 experimentation after obtaining written consent from the owners. It was approved by the
99 Ethics Commission for Animal Experimentation at UNESP – FMVZ – Botucatu, Brazil under
100 protocol no. 108/2016.

101

102 ***Animals and experimental design***

103 The study employed 12 dogs admitted in the Infectious Diseases Outpatient Clinic at the
104 Department of Veterinary Hygiene and Public Health of the Veterinary Hospital maintained
105 by the School of Veterinary Medicine and Animal Sciences (FMVZ, *Faculdade de Medicina*
106 *Veterinária e Zootecnia*) at UNESP, Botucatu, Brazil, with the diagnosis of ehrlichiosis
107 confirmed by nested PCR.

108 The inclusion criteria for the study included history of ectoparasitic infestations,
109 hematological alterations in line with the clinical profile of the acute phase of the disease,
110 such as thrombocytopenia below 160,000 cells/mL (Schalm, O.W. et al., 1986) and blood
111 CRP assay positive for *Ehrlichia canis* at the time of admission.

112 The exclusion criteria were heart murmurs exceeding grade III/VI during the physical
113 examination and/or pre-existing cardiovascular alterations, such as myxomatous degeneration
114 of the mitral valve with hemodynamic repercussions in the heart chambers, animals that
115 underwent cardiac resuscitation within 90 days before admission or animals presenting
116 anemia with globular volume below 30 and/or leukopenia below 4,000 leukocytes/ μ L of
117 blood, as well as any comorbidities resulting in cardiac arrhythmias of extra-cardiac origin,
118 such as neoplasms or other infectious diseases, and history of treatment with cardiotoxic
119 drugs.

120 The control group (CG) was comprised of 10 clinically healthy animals volunteered by
121 their owners in the city of Botucatu, SP, Brazil, with weight and other overall characteristics
122 similar to the animals in the sick group. All animals in this group had negative tests for *E.*
123 *canis*.

124 All 22 animals underwent the following examinations in the presented order:
125 measurement of arterial blood pressure, physical examination, accurate cardiopulmonary

126 auscultation and Doppler echocardiogram, blood tests, 5-minute conventional ECG and 24-
127 hour Holter monitoring. Animals in the control group with abnormal results in any
128 examination were excluded from the study.

129

130 *Clinical and laboratory examinations*

131

132 Physical examination

133 Anamnesis and physical examination with accurate cardiac and pulmonary auscultation,
134 measurement of heart rate (HR) and respiratory rate (RR), abdominal palpation, capillary
135 refill time (CRT), determination of hydration and temperature levels, assessment of the color
136 of the mucosae and lymph node palpation.

137

138 Determination of systemic blood pressure

139 The arterial blood pressure was measured in a non-invasive way with a vascular Doppler
140 test to detect arterial blood flow (Doppler Parks model 811-B). Measurements were conducted
141 by the techniques employed (Haberman et al., 2006; Brown et al., 2007; Tebaldi et al., 2012).
142 Five measurements were taken from each animal, and the mean was considered the systolic
143 blood pressure for that particular animal. The reference values for dogs and cats have an
144 upper threshold of 150 mmHg (Brown, S. et al., 2007).

145

146 Laboratory tests

147 Five milliliters of blood was collected from each animal through jugular puncture with
148 disposable syringes after proper asepsis. The material was immediately stored in two tubes,
149 one containing EDTA-K2 for hematological and molecular assays and the other containing a
150 coagulation activator gel for biochemical assays.

151

152 Molecular diagnosis

153 The molecular diagnosis was conducted through Polymerase Chain Reaction (PCR) in a
154 private laboratory (VETDNA, Botucatu, Brazil). The technique employed to detect *Ehrlichia*
155 *canis* was the nested PCR method, as described in the literature (Wen et al., 1997).

156

157

158 Conventional Electrocardiogram

159 The animals underwent an electrocardiogram for five minutes in a computer-based
160 electrocardiograph employing the software *Módulo de Aquisição de ECG para Computador*
161 (ECG – PC 3.1 - *Tecnologia Eletrônica Brasileira* - TEB) without anesthesia or sedation.

162 The examination was conducted in lateral decubitus following a technique described in
163 the literature (Edwards, 1987; Tiley, 1992). The analysis was conducted in a standard 10-lead
164 ECG (I, II, III, aVR, aVL, aVF, rV2, V2, V4 e V10) for five minutes. Analysis of wave
165 amplitude (mV) and duration (ms) was conducted on lead II. Base rhythm, HR and the mean
166 electrical axis of the QRS complex were also determined (Tilley, 1992). Rhythm and
167 conduction disorders were described and classified separately.

168

169 Holter

170 After the conventional electrocardiographic examination, the animals underwent 24-hour
171 electrocardiographic monitoring with a Cardiolight digital device (Cardios, São Paulo,
172 Brasil). The data were registered in three channels (C1, C2, and C3) and stored in an SD card.
173 The device was set, after proper epilation of the thoracic region, in the dorsoventral region,
174 near the 5th intercostal space. The data was recorded for 24 hours, during which the patient's
175 owner kept a diary describing the animal's activities to establish possible correlations between
176 these activities and any alterations observed in the data.

177 The data collected was analyzed in a computer with device's software (Software
178 CardioSmart 550, SP, Brasil), which visualized and pre-interpreted the images. Since the
179 device was developed for use in humans, all events were verified with higher precision. The
180 acceptable threshold for artifacts was 1%.

181

182 Heart Rate Variability (HRV)

183 The time-domain HRV indexes analyzed in this study were: the standard deviation of all
184 RR intervals (SDNN), the standard deviation of the average RR interval calculated every five
185 minutes (SDANN), the mean of the standard deviation of RR intervals calculated every five
186 minutes (SDNN INDEX), the square root of the mean of the squares of adjacent RR intervals
187 (rMSSD) and the rate of differences exceeding 50 ms between adjacent RR intervals
188 (pNN50). The frequency-domain indexes analyzed were: high frequency (HF), measured in
189 ms² and n.u.; low frequency (LF), measured in ms² and n.u.; very low frequency (VLF) and
190 the ratio between high frequency and low frequency (LF/HF).

191 **Statistical analysis**

192 Data normality was assessed through the Shapiro-Wilk test. The quantitative data
193 analyzed were systemic blood pressure, the electrocardiographic parameters and the time-
194 domain and frequency-domain heart rate variability indexes. The independent-samples t-test
195 was conducted for parametric variables, and the Mann-Whitney test was conducted for non-
196 parametric variables to detect statistically significant differences between the sick group (SG)
197 and the control group (CG), with $P < 0.05$ considered significant for differences between the
198 groups. Correlations between the clinical and laboratory parameters were conducted
199 according to data normality through the Pearson and Spearman correlation methods. All
200 analyses were conducted with the SigmaStat 3.1 statistics software.

201

202 **Results**

203 **Animals**

204 Of the 12 sick animals examined, five were male and seven were female, while 50% ($n =$
205 6/12) were purebred (Yorkshire Terrier, Poodle, Australian Cattle Dog, Labrador Retriever
206 and Beagle) and the other 50% ($n = 6/12$) were mixed breeds. The average age and weight of
207 the animals were 5.2 years-old (0.8 – 10 years-old) and 18 kg (2.3 – 43 kg) respectively. Of
208 the 10 animals in the control group, five were male and five were female, while 70% ($n =$
209 7/10) were purebred (Labrador Retriever, Cocker Spaniel, Yorkshire Terrier, Border Collie,
210 Pitbull, German Shepherd and Australian Collie) and the remaining 30% ($n = 3/10$) were
211 mixed breeds. The average age and weight of the animals were 1.5 years-old (0.75 – 5 years
212 old) and 23.01 kg (4.5 – 35 kg) respectively. The clinical signs presented by the animals in the
213 sick group, including their relative frequencies, were: hyporexia, 100% ($n = 12/12$); apathy,
214 83.33% ($n = 10/12$); emesis, 58.33% ($n = 7/12$); weight loss, 50% ($n = 6/12$); sticky stool,
215 33.33% ($n = 4/12$); epistaxis, 16.66% ($n = 2/12$); hematochezia, 16.66% ($n = 2/12$);
216 oligodipsia, 16.66% ($n = 2/12$); seizures, 8.33% ($n = 1/12$).

217 The animals in the SG presented normal capillary refill time and hydration, as well as
218 non-reactive lymph nodes. The average body temperature was 39.1° ($38.2^{\circ} - 41.2^{\circ}$). The average

219 HR was 119 bpm (\pm 39 bpm) and the average RR was 56 mpm (\pm 10 mpm). The animals in
220 the CG presented clinical parameters within the reference values (Feitosa, 2014).

221 In the hematological examination, all animals included in the study presented
222 thrombocytopenia, both in association with mild regenerative anemia or isolated. The
223 leukogram revealed a single animal with the leukocyte count below the reference values
224 (8.33%). The hematological parameters for both groups are shown in Table 1.

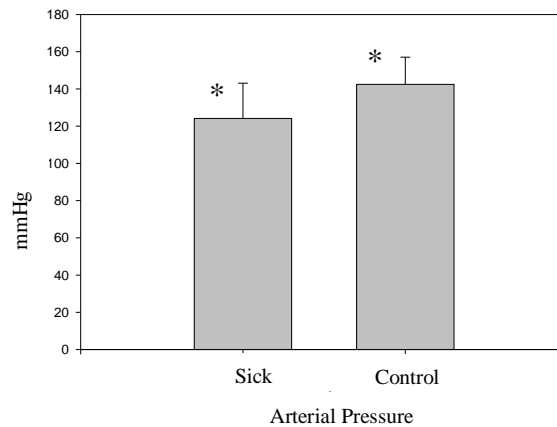
225 The biochemical analysis revealed hypoalbuminemia in 58.33% of the animals ($n = 7/12$)
226 and hyperglobulinemia in 58.33% ($n = 7/12$). Urea and creatinine levels were within the
227 reference values for the species (Kaneko et al. 2008). The liver function analysis revealed that
228 the enzymes ALT, AP and GGT were above the reference values described for the species in
229 16.66% of the animals ($n = 2/12$) in the sick group (Table 2).

230

231 Systemic Arterial Blood Pressure

232 The mean and the standard deviation for non-invasive systemic arterial pressure in the
233 CG and SG were 124.1 ± 18.9 mmHg and 142.5 ± 14.5 mmHg, respectively, revealing a
234 statistically significant difference between the groups ($p = 0.021$) (Chart 1).

235



236

237 Chart 1: Sampling distribution of the values for systemic arterial pressure (mmHg) in the sick
 238 and control groups.

239

240 Conventional electrocardiogram

241 The predominant cardiac rhythm observed in the sick group was the sinus rhythm
 242 (66.66%, n = 8/12), with 16.66% (n = 2/12) presenting sinus arrhythmia and 16.66% (n =
 243 2/12) presenting sinus tachycardia. In the control group, 30% (n = 3/10) presented sinus
 244 rhythm and 70% (n = 7/10) presented sinus arrhythmia. The average HR in the SG was 109
 245 bpm (± 22 bpm). A first-degree atrioventricular blockage was observed in two animals
 246 (16.66%, n = 2/12) of the SG.

247 The duration of the QRS complex diverged between the groups ($p = 0.019$), with both
 248 groups above the reference values and longer durations in the SG (Chart 2). The P wave
 249 amplitude varied between the CG and the SG ($p = 0.045$), with means and standard deviations
 250 of 0.20 ± 0.04 and 0.15 ± 0.06 mV, respectively, both of which are within the reference values
 251 (Chart 3). The ST segment diverged between the groups ($p = 0.05$), but no animal presented
 252 ST elevation or depression. The electrical axis of the QRS complex remained within the

253 reference values for the species. The electrocardiographic parameters for both groups are
254 described in Table 3.

255

256

257

258

259

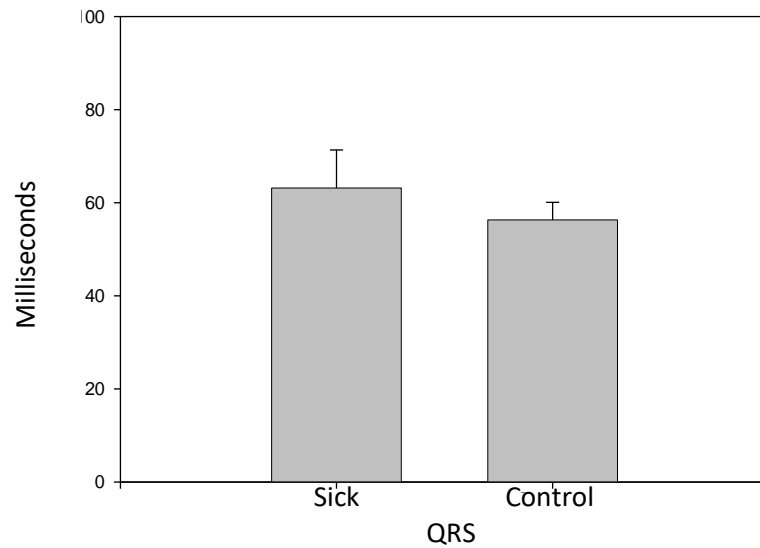
260

261

262

263

264



265

266 Chart 2: Sampling distribution of QRS complex duration in the sick and control groups.

267

268 Holter and Heart Rate Variability

269 The predominant cardiac rhythm during the 24-hour Holter in the SG was sinus
270 tachycardia (58.33%, n = 7/12), with high average heart rates even during sleep.

271 During the 24 hours, 91.66% (n = 11/12) of the animals afflicted by Acute Monocytic
272 Ehrlichiosis presented arrhythmia, but all animals presented less than 25 isolated events
273 during the recording. These arrhythmic events included premature ventricular contractions
274 (58.33%, n = 7/12), premature atrial contractions (41.66%, n = 5/12), second-degree type 2
275 atrioventricular blockages (16.66%, n = 2/12) and pauses exceeding three seconds (25%, n =
276 3/12).

277 In the CG, the only arrhythmic event observed were ventricular escapes in 80% (n =
278 8/12) of the animals, always following a sinus pause/block and predominantly happening
279 during sleep. No animal presented more than 50 events, and all events were isolated.

280 The time-domain and frequency-domain heart rate variability indexes are presented in
281 Tables 4, 5, 6 and 7. There was a statistically significant difference between the groups
282 regarding the time-domain HRV indexes SDNN and SDNNindex (Chart 3).

283 Regarding frequency-domain HRV, the following indexes presented statistically
284 significant differences between the groups: HF in sleep state (ms^2) ($p=0.015$), LF/HF ratio in
285 vigilance state ($p=0.002$), LF in vigilance state (ms^2) ($p=0.019$), LF in sleep state (n.u.)
286 ($p=0.003$) and HF in sleep state (n.u.) ($p=0.003$) (Chart 4). The remaining frequency-domain
287 HRV indexes presented no statistically significant differences between the groups.

288 When comparing the frequency-domain HRV indexes within each group and considering
289 the sleep and vigilance states, there were statistically significant differences for the following
290 indexes: HF (ms^2) in the CG ($p=0.002$); LF (ms^2) in the SG ($p=0.041$); LF/HF in the CG
291 ($p=0.002$); HF (n.u.) in the CG ($p=0.001$); LF (n.u.) in the CG ($p=0.001$) (Chart 5). The
292 remaining frequency-domain HRV indexes presented no statistically significant differences
293 within each group in the sleep and vigilance states.

294 Correlation tests were employed to verify possible correlations between the time-domain
295 and frequency-domain HRV indexes in the CG and the SG during the sleep and vigilance
296 states. Table 8 presents the correlations verified.

297 Strong correlations ($r > 0.7$) were observed between the following indexes: pNN50% and
298 HF (sleep) in the CG; RMSSD and HF (vigilance) in the SG; SDNNindex and VLF
299 (vigilance) in the SG. The following indexes presented moderate correlation ($0.4 < r < 0.7$):
300 pNN50% and HF (vigilance) in the CG; SDNNindex and LF (vigilance) in the SG;
301 SDNNindex and LF (sleep) in the SG. The remaining indexes did not present significant
302 correlations.

303 Correlation tests were also conducted between the clinical parameters (HR, RR, and
304 Systemic Arterial Pressure) and the time-domain and frequency-domain HRV indexes. No
305 significant correlations were observed.

306

307

308

309

310

311

312

313

314

315

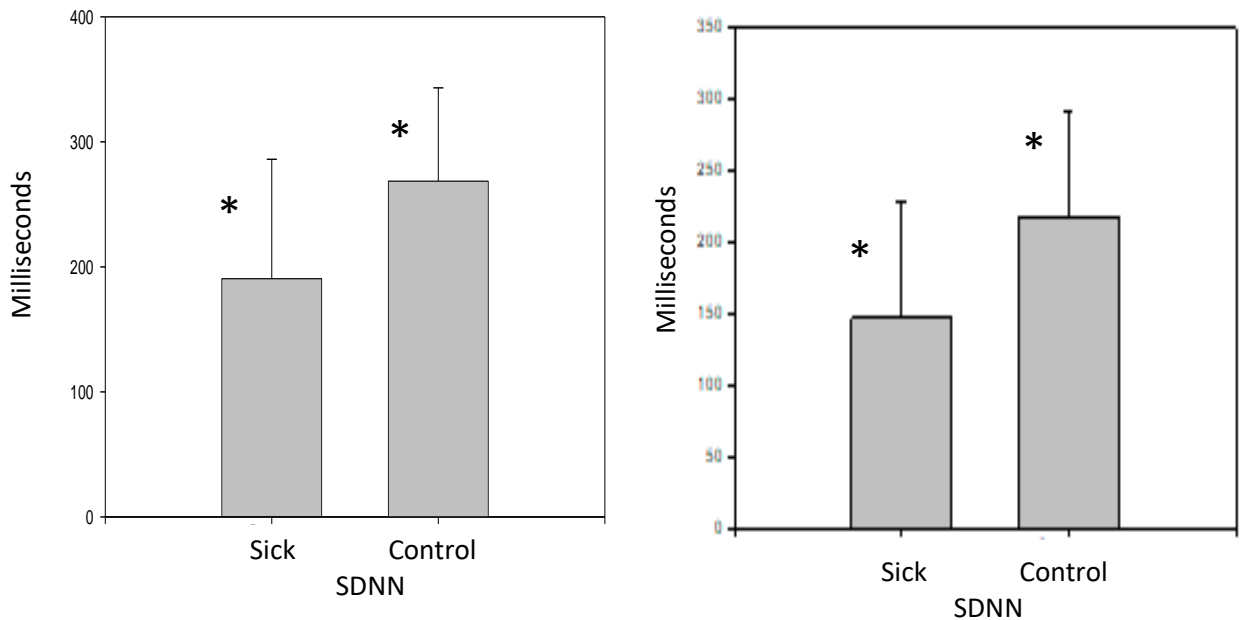
316

317

318

319

320



321 Chart 3 – Sampling distribution of the time-domain HRV indexes SDNN (ms) (A) and
322 SDNNindex (B) in the Holter test for the sick and control groups.

323

324

325

326

327

328

329

330

331

332

333

334

335
 336
 337
 338
 339
 340
 341
 342
 343
 344
 345
 346
 347
 348
 349
 350
 351
 352
 353
 354
 355
 356
 357
 358
 359
 360
 361
 362
 363
 364
 365

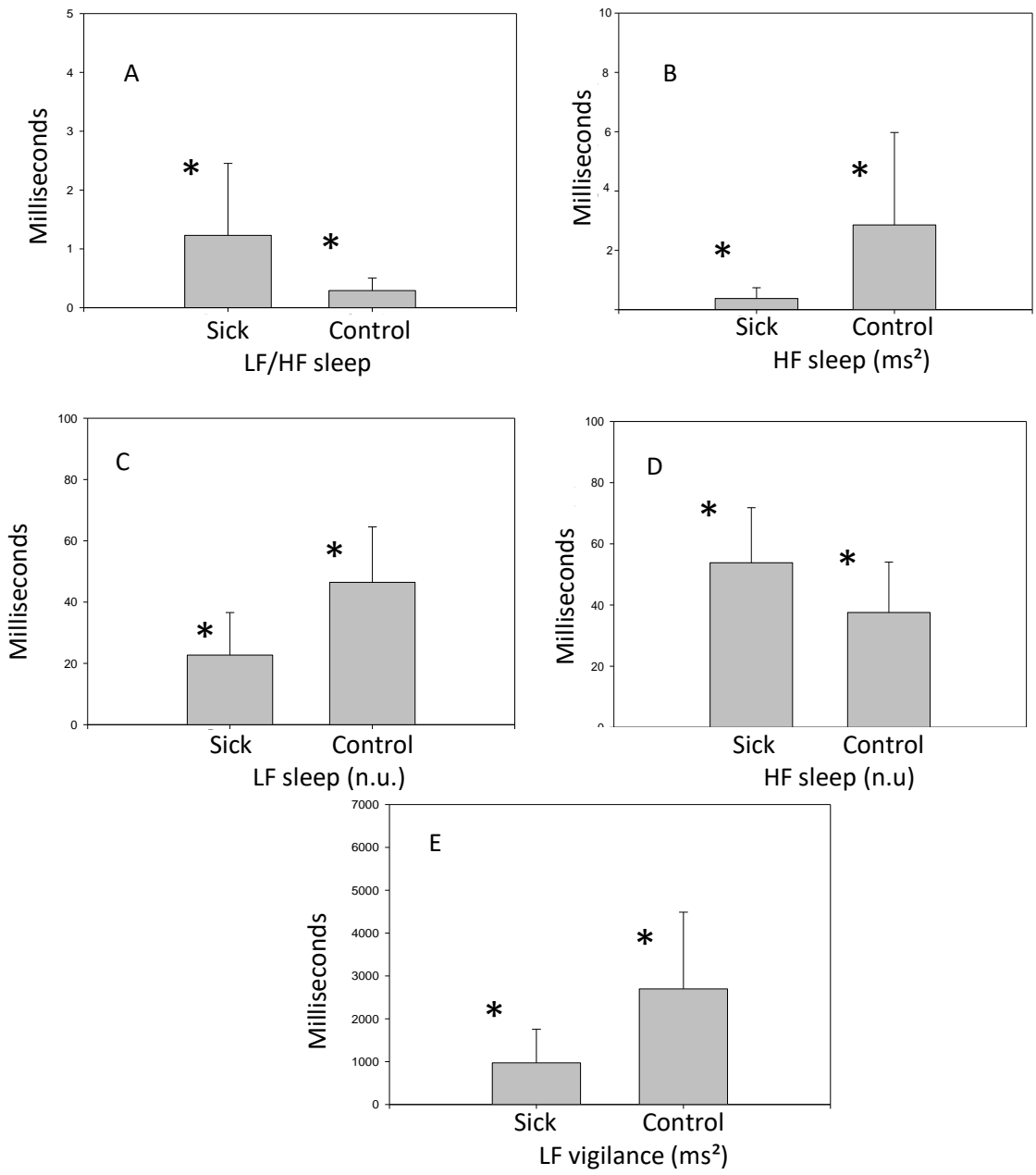


Chart 4 – Sampling distribution of the frequency-domain HRV indexes in the sick and control groups: A) sleep state LF/HF; B) HF (ms^2); C) LF (n.u.); D) HF (n.u.); E) vigilance state LF (ms^2).

366

367

368

369

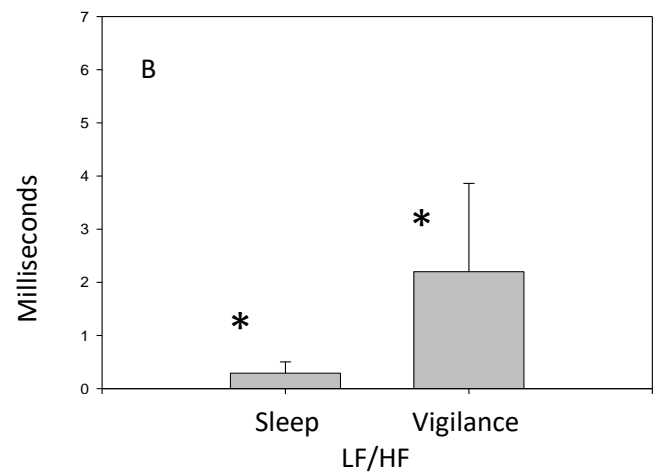
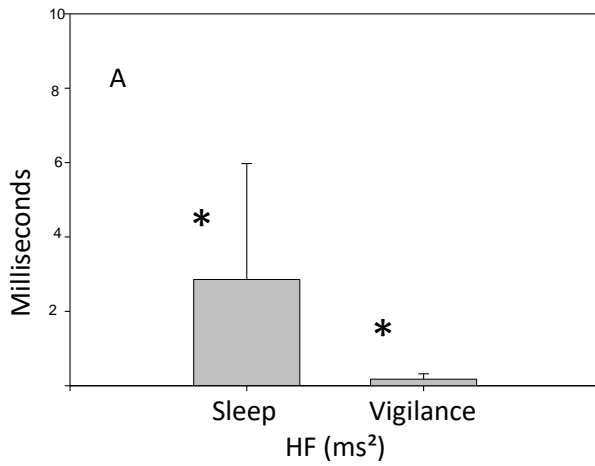
370

371

372

373

374



375

376

377

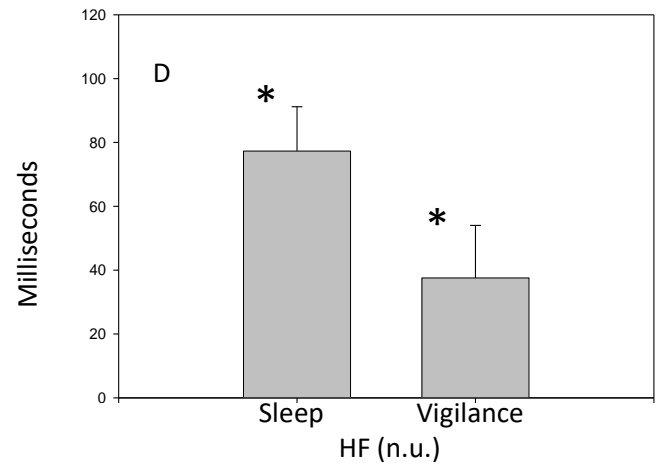
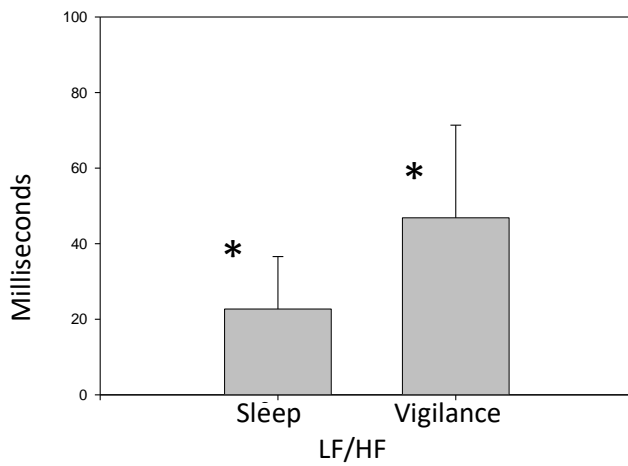
378

379

380

381

382



383

384 Chart 5 – Sampling distribution of the frequency-domain HRV index for the control group in
 385 the sleep and vigilance states: A) HF (ms²); B) LF/HF; C) LF (n.u.);D) HF (n.u.).

386

387

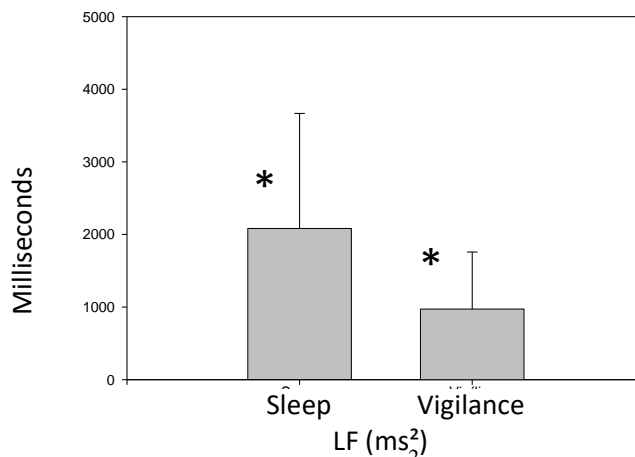
388

389

390

391

392



393

393 Chart 6 – Sampling distribution of LF (ms²) for the sick group in the sleep and vigilance

394 states.

395 **Discussion**

396 Myocardial injuries in dogs infected naturally by *Ehrlichia canis* have been evidenced in
397 the literature based on the serum concentrations of troponin I (cTnI), echocardiograms,
398 electrocardiograms and histopathological findings. Alterations in these examinations may be
399 caused by myocardial hemorrhage, vasculitis, anemia and exacerbated systemic inflammatory
400 responses (Diniz, 2008; Koutinas et al., 2012; Kalogianni et al.; 2016).

401 In this study, the animals in the SG presented mild anemia, thrombocytopenia, and
402 leukopenia in the full blood count, revealing a statistically significant difference for these
403 parameters in contrast with the CG.

404 The levels of the liver enzymes ALT, AP and GGT, in addition to urea and creatinine, did
405 not differ significantly between the groups, which may be explained by the fact that the
406 animals were still in the initial stages of the disease. The histopathological assays in previous
407 studies have revealed plasmacytic infiltration in the liver and the kidneys during the chronic
408 phase of the disease (Harrus et al., 1996; Hess et al., 2006; Sanches, 2015). These authors
409 observed severe kidney and liver compromise in animals afflicted by CME associated with
410 the deposition of immune complexes.

411 Animals in the SG presented a reduction in albumin levels and an increase in globulin
412 levels, with a statistically significant difference between the groups. Hypoalbuminemia,
413 hyperglobulinemia, and hypergammaglobulinemia are typical findings in this disease (Harrus
414 et al., 2015; Santarém e Aguiar, 2016). Hypoalbuminemia may happen in any phase of the
415 disease and be secondary to anorexia and fluid loss due to vasculitis (Santarém et al. 2008). In
416 the acute phase, it may be explained by the inhibition of its synthesis by the cytokines and by
417 the increased vascular permeability with overflow into the extracellular space (Codner et al.
418 1992).

419

420 The blood pressure values observed in sick animals were lower ($P = 0.02$) than in the CG,
421 but still within the reference values for the species. These findings diverged from the ones
422 observed by Diniz (2006). The author evaluated infected animals without phase distinction
423 and noticed an increase in the blood pressure values. Filippi (2016), in an evaluation of
424 animals in the chronic phase of CME, reported findings in line with the ones observed in this
425 study. It is believed that animals in the acute phase of the disease do not present significant
426 alterations in blood pressure because they are normovolemic and that the difference between
427 the groups is due to their clinical conditions. The animals in the control group were healthy
428 and, therefore, became agitated when brought to the veterinary hospital due to the test and the
429 contact with other animals. On the other hand, animals in the sick group were apathetic and
430 unreactive to the hospital environment. The fact that they were calmer than the animals in the
431 control group may explain the statistically significant difference between the groups despite
432 both being within the reference values for the species.

433 Regarding the electrocardiographic parameters, we observed an increase in the duration
434 of the QRS complex. According to Tilley (1992), increased QRS complex durations suggest
435 chamber overload and cardiac remodeling. We did not observe any changes in the amplitude
436 or the duration of the P Wave, but the amplitude was lower in the SG despite remaining
437 within the reference values.

438 Also, the electrocardiographic parameters may vary according to the animal's body
439 weight. According to Cardoso et al. (2013), P wave variability may be related to the body
440 measurements since larger animals often present higher values.

441 A recent study conducted by Kalogianni et al. (2016) with 12 animals infected
442 experimentally with acute CME also did not observe any alterations in the
443 electrocardiographic parameters, corroborating with the data obtained in this study.

444

445 It should be considered that the results in this study were obtained through a computer-
446 based digital system and that, according to Wolf et al. (2000), there is an average increase of
447 approximately 10 ms in the electrocardiographic waves when employing this method to
448 record the heart's electrical activity. However, we believe that a study employing
449 echocardiographic examination would be ideally positioned to identify changes in the
450 dimensions of the heart chambers.

451 In the SG, 41.66% of the animals presented increases in the T wave amplitude in contrast
452 to 8.33% in the CG. These values are in line with the ones observed by Filippi (2016) in a
453 study with dogs in the chronic phase of the disease. This alteration, according to the author,
454 could be attributed to the degree of anemia observed in the animals or to a cardiac injury
455 caused by the bacteria. These results conflict with the ones described by Diniz (2006), who
456 noted that only 8.7% of the animals presented this alteration.

457 A previous study assessed the behavior of HRV in animals with chronic CME through a
458 Holter exam (Filippi, 2016), but only the time-domain HRV indexes were employed. In this
459 study, we observed that the time-domain HRV indexes were reduced, but only SDNN and
460 SDNNindex presented statistically significant differences between the groups. The decrease
461 of these indexes in the SG, together with an increase in the average HR, suggest increased
462 sympathetic tonus in dogs afflicted by acute CME.

463 Despite the HRV indexes not presenting a marked reduction, the results observed in this
464 study suggest a reduction in HRV. According to Junqueira Jr. (1998), several afflictions may
465 promote an early imbalance in the activity of the ANS.

466 Regarding the frequency-domain HRV indexes, we observed a predominance of the
467 sympathetic ANS during the sleep state in the SG, which is in line with what was observed in
468 the electrocardiogram, with a constant and accelerated rhythm observed predominantly during
469 the sleep state in the sick group, while in the control group it alternated between the sleep and

470 vigilance states. The literature is scarce regarding the use of time-domain and frequency-
471 domain HRV index to evaluate animals infected by *Ehrlichia canis* during the acute phase of
472 the disease, and we found no studies describing the behavior of these indexes in animals with
473 acute ehrlichiosis.

474 On the other hand, Bogucki & Noszczyk-Nowak (2015), in a study about HRV in healthy
475 dogs, observed a value of $5845.45 \pm 2914.20 \text{ ms}^2$ for the HF index. In this study, the nighttime
476 HF values diverged between the groups, with the SG presenting $\text{HF} = 3767.5 \pm 3604.4 \text{ ms}^2$,
477 which is lower than the values observed by Bogucki & Noszczyk-Nowak. This reveals a
478 reduced parasympathetic activity in the SG, which could be due to an imbalance in the ANS
479 caused by the release of inflammatory mediators.

480 The index LF (sleep) (ms^2) did not diverge between the sick and control groups, but upon
481 further analysis, with the results expressed in normalized units (n.u.) a divergence was
482 observed. This may be due to the data normalization process, which removes the influence of
483 the HRV index from the LF and HF indexes, which makes the data more reliable (Camm,
484 1996). Under the light of these findings, we observed a reduction in the HRV, which indicates
485 a predominance of sympathetic activity during sleep.

486 For the LF index during the vigilance state, we observed a significant difference between
487 the groups when expressing the results without data normalization (ms^2), highlighting the
488 relevance of normalization to improve data reliability.

489 When analyzing the index within the same group and comparing the values of two
490 distinct states (sleep and vigilance), we observed that, in the CG, the LF (ms^2) did not diverge
491 between the sleep and vigilance states. However, upon analyzing the data in normalized units,
492 we observed higher values during sleep when expressing the values in ms^2 and lower values
493 during sleep when expressing the values in n.u. This, as mentioned before, points towards
494 better data reliability with n.u since it is believed that sympathetic activity is predominant

495 during active periods. In the SG, LF (ms²) diverged between the two states before data
496 normalization, but not afterward, which illustrates the reduction of HRV in this group.

497 When comparing the sleep and vigilance states separately in the SG and the CG, there
498 was no statistically significant difference between the states for the HF index (ms² and n.u.) in
499 the SG, but there was a difference between the states in the CG. This fact points towards an
500 imbalance in the ANS activity in the SG as the HF index represents parasympathetic activity,
501 which is predominant during sleep. The CG, however, shows equilibrium between
502 sympathetic and parasympathetic activity, with the predominance of parasympathetic activity
503 during sleep, which explains the statistically significant difference observed between both
504 states. These results are in line with those observed by Vanoli (1995) in humans after acute
505 myocardial infarction, who observed a decrease in HRV during nighttime, which highlights
506 an autonomic imbalance caused by the affliction.

507 Still regarding the HF index during sleep in the SG, we observed that the values were
508 considerably lower than in the control group, revealing a decrease in parasympathetic activity
509 during sleep. However, the values for this index during the vigilance state were considerably
510 higher in the SG, revealing higher parasympathetic activity during the vigilance state (which
511 would be expected during sleep. Under the light of these results, we can infer that autonomic
512 imbalances happen during both the sleep and vigilance states, revealing that ehrlichiosis,
513 much like other diseases, promotes a dysfunction between the sympathetic ANS and the
514 parasympathetic ANS.

515 The LF/HF ratio, which illustrates sympathovagal balance, presented significant
516 differences when comparing the sleep and vigilance states in the CG, but the difference was
517 not statistically significant in the SG. Therefore, the afflicted animals presented an autonomic
518 imbalance. A study conducted by Finley & Nugents (1994) with patients afflicted by sickle
519 cell anemia revealed that the patients presented a significantly higher LF/HF ratio than

520 healthy patients. According to the author, this difference happens because there is a period of
521 autonomic stability during the initial phase of non-REM sleep with increased baroreceptor
522 activity.

523 During this time, the efferent parasympathetic fibers promote a reduction in the systemic
524 arterial pressure and the HR, halving the cardiac output (Falcão 2008) (paradoxical sleep). In
525 this study, the LF/HF ratio also diverged between the groups, but unlike the study conducted
526 by Falcão (2008), the values were lower in the SG. This may be explained by the uneven
527 number of animals in each group (CG = 10 and SG = 12) or by the fact that it was not
528 possible to verify which stage of sleep the patients were in during the measurements.

529 When looking for possible correlations between the time-domain and frequency-domain
530 HRV indexes, we observed strong and directly proportional correlations between pNN50%
531 and HF during sleep in the CG. Since the pNN50% index represents the rate of adjacent RR
532 intervals exceeding 50 ms, this correlation indicates the maintenance of vagal activity during
533 the adequate time. This index has high sensitivity to changes in vagal activity, which, when
534 interrupted suddenly, is represented by short RR intervals. On the other hand, the SG did not
535 present any correlation between the indexes illustrating parasympathetic activity (pNN50%
536 and HF), which may be explained by the loss of vagal balance caused by the affliction.

537 In the SG, we observed a strong positive correlation between the indexes representing the
538 activity of the parasympathetic ANS (RMSSD and HF) during the vigilance state, reinforcing
539 that the afflicted animals present an increase in sympathetic activity while still maintaining
540 some parasympathetic activity. This results in a partial autonomic balance since the RMSSD
541 index is less sensitive than pNN50% due to a lower influence of the RR intervals.

542 A moderate positive correlation was observed between the indexes pNN50% and HF
543 during the vigilance state in the CG, which may be explained by the reduced parasympathetic
544 activity in this state.

545 Another moderate positive correlation was observed between the indexes SDNNindex
546 and LF during both the sleep and vigilance states. SDNNindex may indicate several things,
547 and changes in the index may be caused by a reduction in the vagal tonus or an increase in the
548 sympathetic tonus – it is impossible to determine which with certainty because the index LF
549 represents the activity of the sympathetic ANS predominantly (Vanderlei, 2009). It is worth
550 noting that this correlation is not significant in healthy animals because, due to the
551 multifaceted character of the time-domain HRV indexes, these animals present autonomic
552 balance. However, the parasympathetic activity is reduced in the afflicted animals and, despite
553 the multifaceted character of the index, it tends towards sympathetic activity and correlates
554 with the corresponding index for sympathetic ANS activity in the frequency domain, pointing
555 towards the loss of autonomic balance and predominance of sympathetic activity in both the
556 sleep and vigilance states.

557 The correlation observed between the indexes SDNNindex and VLF was strong and
558 positive. The time-domain index, as mentioned before, is multifaceted and the frequency-
559 domain index is seldom studied, especially in Veterinary Medicine. These indexes represent
560 the thermoregulatory cycles and activity of the renin-angiotensin-aldosterone system (RAAS)
561 together with a still not fully understood peripheral vasomotor activity. This correlation may
562 indicate that both the peripheral vasomotor tonus and RAAS activity are modified by the
563 activity of the ANS and that these correlations may change with the afflictions, considering
564 that this correlation was not observed in healthy animals.

565

566 **Conclusion**

567 The analysis of the results obtained by this study allows us to conclude that the acute
568 phase of CME does not present the same arrhythmogenic character that the chronic phase

569 does. There was no correlation between the clinical, electrocardiographic and HRV alterations
570 in the infected animals.

571 The afflicted animals show a predominance of the sympathetic ANS regarding the time-
572 domain HRV indexes, but upon consideration of the frequency-domain HRV indexes we may
573 verify that this apparent sympathetic predominance detected by the time-domain indexes
574 happens because of a reduction of parasympathetic activity in animals afflicted by acute
575 CME, in addition to the reduced HRV during the sleep and vigilance states.

576 These findings are not enough to suggest that the animals are suffering from the initial
577 effects of myocarditis, but this reduction in the HRV indexes indicate that the bacteria may
578 have a direct initial effect on the heart even during the acute phase. Further and more
579 thorough studies are needed to verify the involvement of the heart in this stage of the disease,
580 including a more substantial number of animals and adding the assessment of an
581 echocardiogram and the serum concentrations of cardiac biomarkers.

582

583 **Conflict of Interest Statement**

584 The authors declare that they have no financial or personal relationships that may
585 influence or compromise the content of this study.

586

587 **Acknowledgments**

588 To the *Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior* (Capes) for
589 granting a Master's Degree scholarship.

590

591

592

593

594 **References**

- 595 Brown, S., Atkins, C., Bagley, R. et al., 2007. ACVIM Consensus Statement Guidelines for
596 the Identification , Evaluation , and Management of Systemic Hypertension in Dogs and
597 Cats. *J Vet Intern Med* 542–558.
- 598 Bogucki,Sz., Noszczyk-Nowak, A. Short-term heart rate variability (HRV) in healthy dogs.
599 2015. *Polish Journal of Veterinary Sciences* Vol. 18, No. 2, p. 307–312.
- 600 Camm, J. A., Bigger, T, J., et al, 1996. Heart rate variability Standards of measurement,
601 physiological interpretation, and clinical use Task Force of The European Society of
602 Cardiology and The North American Society of Pacing and Electrophysiology. *European*
603 *Heart Journal* 17, 354–381
- 604 Chamas, P. P. C., 2011. Estudo do eletrocardiograma ambulatorial, eletrocardiograma de alta
605 resolução (ECGAR) e variabilidade da frequência cardíaca como indicadores prognósticos
606 na cardiomiopatia arritmogênica de cães Boxer. Tese de Doutorado. Universidade de São
607 Paulo. Disponível em: [http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/10/10136/tde-28052012-](http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/10/10136/tde-28052012-144230/en.php)
608 [144230/en.php](http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/10/10136/tde-28052012-144230/en.php)
- 609 Cardoso, M.J.L.; Melussi, M.; Junior, A.Z.; et al., 2013. Eletrocardiografia computadorizada
610 em cães da raça American pit bull terrier. vol. 34(5). Londrina: Semina Ciências Agrárias.
- 611 Codner, E. C.; Caceci, T.; Saunders, E.K.; Smith, C. A.; Robertson, J. L.; Martin, R. A.; Troy,
612 G.C., 1992. Investigation of glomerular lesions in dogs with acute experimentally induced
613 Ehrlichia canis infection. *American Journal of Veterinary Research*, v.53, p.2286-2291.
- 614 Diniz, P.P.V.P.2006. Miocardite em cães com Ehrliquiose Monocítica. (Tese Doutorado) –
615 FMVZ - UNESP Botucatu.
- 616 Diniz, P.P.V.P., Morais, H.S.A., Breitschwerdt, E.B., Schwartz, D.S., 2008. Serum Cardiac
617 Troponin I Concentration in Dogs with Ehrlichiosis. *J Vet Intern Med* 22, 1136–1143.
- 618 Dumler, J.S., Barbet, A.F., Bekker, C.P.J., 2001. Reorganization of genera in the families
619 Rickettsiaceae and Anaplasmataceae in the order Rickettsiales: unification of some species
620 of Ehrlichia with Anaplasma, Cowdria with Ehrlichia and Ehrlichia with Neorickettsia,
621 descriptions of six new species combi 2145–2165.
- 622 Edwards, N.J. 1987. Bolton’s Handbook of Canine and Feline Eletrocardiography. 2nd Edn.
623 W.B. Saunders Company, Toronto, ON, Canadá, 381 p.
- 624 Evermann, J. F., Sellon, R.K., Sykes, J.E., 2012. Viral, Rickettsial, and Chlamydial Diseases.
625 in: Greene – Infectious Diseases of the dog and cat. 4^a ed – Elsevier Saunders.
- 626

- 627 Falcão, S. R. 2008. Variabilidade da frequência cardíaca no domínio da frequência, durante o
628 sono, em crianças e adolescentes portadores de anemia falciforme. Dissertação de mestrado
629 faculdade de Medicina da Universidade de Brasília - Ciências Médicas. 60p.
- 630 Filippi, M.G., 2016. Avaliação eletrocardiográfica ambulatorial de cães com ehrliquiose
631 monocítica crônica. 180f. Disertação de Mestrado Faculdade de Medicina Veterinária e
632 Zootecnia, UNESP, Botucatu. Disponível em:
633 <https://alsafi.ead.unesp.br/handle/11449/148819>
- 634 Finley, J.P., Nugent, S.T., Hellenbrand, W., 1987. Heart-rate variability in children. Spectral
635 analysis of developmental changes between 5 and 24 years. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* v.
636 65 p. 2048-2052.
- 637 Haberman, C.E., Kang, C.W., Morgan, J.D., Brown, S.A., 2006. Evaluation of oscillometric
638 and Doppler ultrasonic methods of indirect blood pressure estimation in conscious dogs
639 Résumé 211–217.
- 640 Harrus, S., Waner, T., Weiss, D. J., Keysary, A., Bark, H., 1996. Kinetics of serum
641 antiplatelet antibodies in experimental acute canine ehrlichiosis. *Veterinary Immunology
642 and Immunopathology*, v. 51, p. 13-20.
- 643 Harrus, S., Waner, T., Neer, T. M., 2015. Ehrlichia canis infection. In: GREENE, C. E.
644 (Org.). *Infectious diseases of the dog and cat*. 4th edition. Georgia: Elsevier, p. 227-256.
- 645 Hess, P. R., English, R. V., Hegarty, B. C., Brown, G. D., Breitschwerdt, E. B., 2006.
646 Experimental Ehrlichia canis infection in the dog does not cause immunosuppression.
647 *Veterinary Immunology and Immunopathology*, v. 109, p.117-125.
- 648 Junqueira Jr., L. F., 1998. Disfunção Autonômica Cardíaca, In: Porto C.C. (editor): *Doenças
649 do Coração -Tratamento e Reabilitação*. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, Cap. 58, pág.
650 306-311.
- 651 Kalogianni L, Koutinas C. K., Theodorou k., et al, 2016. Cardiac troponin I concentrations,
652 electrocardiographic and echocardiographic variables remained unchanged in dogs
653 experimentally infected with Ehrlichia canis, *The Veterinary Journal* 217, 109–111.
- 654 Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML. 2008. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*, 6th
655 Ed., Academic Press.
- 656 Koutinas, C.K., Mylonakis, M. E., O'Brien, P. J., et al, 2012. Serum cardiac troponin I
657 concentrations in naturally occurring myelosuppressive and non-myelosuppressive canine
658 monocytic ehrlichiosis, *The Veterinary Journal* 194,259–261.
- 659 Kittleson, M.D., 1998. *Eletrocardiography: basic concepts, diagnosis of chamber*

660 enlargement, and intraventricular conduction disturbances. in: KITTLESON, M.D;
661 KIENLE, R.D. Small animal cardiovascular medicine. St. Louis: Mosby.

662 Mazini, A. M., 2013. Avaliação da ocorrência de arritmias e da variabilidade da frequência
663 cardíaca em cães obesos pelo método Holter. tese de Doutorado - Universidade de São
664 Paulo. Disponível em: <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/10/10136/tde-25092012-112844/en.php>

665

666 Navarrete Ampuero, R. A., 2013. Variabilidade da frequência cardíaca em cães com
667 degeneração mixomatosa crônica da valva mitral. Dissertação de Mestrado - Faculdade de
668 Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal - UNESP. Disponível em:
669 <https://repositorio.unesp.br/handle/11449/108416>

670 Price, J.E., Sayer, P.D., 1983. Canine ehrlichiosis. In: KIRK, R.W. Current Veterinary
671 therapy. 8 ed. Philadelphia: W.B. Saunders.

672 Rasmussen, C.E., Falk, T., Petric, A.D., Schaldemose, M., Zois, N.E., Moesgaard, S.G.,
673 Ablad, B., Nilsen, H.Y., Ljunvall, I., Höglund, K., Häggström, H.D., Bland, J.M., Olsen,
674 L.H., 2014. Holter Monitoring of Small Breed Dogs with Advanced Myxomatous Mitral
675 Valve Disease with and without a History of Syncope. Journal of Veterinary Internal
676 Medicine, v.28, p.363-370.

677 Santarém, V. A., De Deus, J. M., Braga L.C., 2008. Alterações bioquímicas em cães
678 citopênicos e não citopênicos com ehrlichiose. Semina: Ciências Agrárias, 29(4).

679 Santarém e Aguiar, 2016. Erliquiose monocítica canina in: MEGID, J; RIBEIRO, M.G.;;
680 PAES, A.C., Doenças infecciosas em animais de produção e de companhia, ed.1, editora
681 Roca.

682 Sanches, C.D.D.C., 2015. Estudo histopatológico das lesões viscerais da erliquiose
683 monocítica canina na fase crônica. 62 f. Tese de Doutorado - Faculdade de Medicina
684 Veterinária e Zootecnia, UNESP, Botucatu.

685 Tebaldi, M., Lourenço, M. L. G., Machado, L. H. A., et al. 2012. Estudo da pressão arterial
686 pelo método indireto oscilométrico (petmap®) em cães domésticos não anestesiados.
687 Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia. Universidade Federal de Minas
688 Gerais, Escola de Veterinária, v. 64, n. 6, p. 1456-1464.

689 Tilley, L.P., 1992. Essentials of canine and feline electrocardiography., 3 ed. ed. Philadelphia:
690 Lea and Febiger.

691 Vanderlei, L.C.M., 2009. Basics of heart rate variability and its clinical applicability. Rev.
692 Bra.s Cir. Cardiovasc. 24 (2), 205-217.

693 Vanoli, E.; Adamson, P. B.; Ba-Lin, Pinna, G. D.; Lazzara, R.; Orr, W. C., 1995. Heart Rate
694 Variability During Specific Sleep Stages A Comparison of Healthy Subjects With Patients
695 After Myocardial Infarction. *Circulation*. 91:1918-1922.

696 Wen B., Rikihisa, Y., Mott, J.M., Greene, R., Kim, H.Y., Zhi, N., Couto, G.C., Unver, A.,
697 Bartsch R., 1997. Comparison of nested PCR with immunofluorescent antibody assay for
698 detection of Ehrlichia canis infection in dogs treated with doxycycline, *Journal of Clinical*
699 *Microbiology* 35, 1852–1855.

700 Wolf, R.; Camacho, A. A.; Souza, R. C. A., 2000. Computerized electrocardiography in dogs.
701 *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 52, n. 6, p. 610-615.

702
703
704

705 Table 1 – Mean and standard deviation of the hematological parameters of animals in the
 706 control group and the group afflicted with acute monocytic ehrlichiosis.
 707

Hematological Parameters	Control Group	Sick Group	Reference ^a	P Value
Red blood cells (X 1.000.000 / L)	7.48 ± 7.0	5.40 ± 8.4	5.5 - 8.5	0.001*
Hemoglobin (g/dL)	16.98 ± 1.24	12.74 ± 2.42	12.0 - 18.0	0.001*
Hematocrits (%)	47.1 ± 3.38	36.16 ± 6.65	37.0 - 55.0	0.001*
VCM (fL)	63.17 ± 4.16	48.4 ± 29.35	60.0 - 77.0	0.339
CHCM	36.09 ± 1.89	35.2 ± 1.19	32.0 - 36.0	0.194
PT plasma (g/dL)	6.8 ± 0.58	8.46 ± 1.93	6.0 - 8.0	0.048
RDW (%)	11.01 ± 1.11	11.87 ± 1.70	12.0 - 15.0	0.221
Platelets (X 10 ³ / L)	271 ± 84.84	65.818±39.09	160.0 - 430.0	0.001*
Leukocytes (X 10 ³ /L)	10.97 ± 2.10	67.85 ± 3.91	6.0 - 17.0	0.007*
Segmented neutrophils (X 10 ³ /L)	6.75 ± 1.48	6.26 ± 2.26	3.0 - 11.5	0.199
Lymphocytes (X 10 ³ /L)	2.41 ± 0.69	2.50 ± 2.1	1.0 - 4.8	0.621
Eosinophils (X 10 ³ /L)	1.1 ± 0.6	0.062 ± 0.99	0.1 - 1.25	0.013*
Monocytes (X 10 ³ /L)	0.69 ± 0.4	0.64 ± 0.41	0.15 - 1.35	0.757

708 ^aSchalm, O.W., Jain, N.C., Carrol, E.J. Hematologia Veterinária, 1986

709 * t test for independent samples, significance P < 0.05

710

711

712

713

714

715

716

717

718

719 Table 2 – Mean and standard deviation of the biochemical assay parameters for animals in the
 720 control group and the group afflicted with acute monocytic ehrlichiosis.

Parameters	Control Group	Sick Group	Reference ^a	P Value
Albumin (mg/dL)	3.52 ± 0.27	2.32 ± 0.62	2.6 - 3.3	0.001*
Globulin (mg/dL)	2.58 ± 0.44	5.56 ± 2.46	2.7 - 4.4	0.001*
Urea (mg/dL)	35.15 ± 9.6	41.25 ± 31.86	21.4 - 59.92	0.489
Creatinine (mg/dL)	0.90 ± 0.29	0.91 ± 0.51	0.5-1.5	0.391
ALT (mg/dL)	41.7 ± 6.9	67.3 ± 81.3	21 – 73	0.869
AP (mg/dL)	49.70 ± 44.25	48.08 ± 33.94	20 – 156	0.921
GGT (mg/dL)	1.34 ± 0.95	2.03 ± 1.35	1.2 - 6.4	0.099

721

722 ^aKaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML, *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*, 6th Ed., Academic Press, 2008

723 * t-test for independent samples, significance P < 0.05

724

725

726

727

728

729

730

731

732

733

734

735

736

737

738

739

740

741

742

743

744 Table 3 – Mean and standard deviation of the electrocardiographic parameters for animals in
745 the control group and the group afflicted with acute monocytic ehrlichiosis.

Electrocardiographic Parameters	Control Group	Sick Group	Reference ^a	P Value
Mean HR (bpm)	125.5±16.55	109.5± 22.22	70-160	0.075
Mean QRS Electrical Axis (°)	61±3.16	60.75 ± 32.80	40-100	0.145
P Wave Duration (ms)	49.3±3.68	50.91 ± 6.15	below 50	0.974
PR Interval Duration (ms)	100.6±15.81	103.33 ± 26.31	60-130	0.777
QRS Complex Duration (ms)	56.3±3.77	63.16 ± 8.15	40-55	0.019*
QT Interval Duration (ms)	206.7±8.79	209.5 ± 23.7	150-250	0.895
P Wave Amplitude (mV)	0.20±0.04	0.15 ± 0.06	below 0.4	0.045*
Q Wave Amplitude (mV)	0.24±0.20	0.12 ± 0.11	0-0.5	0.119
R Wave Amplitude (mV)	1.14±0.18	1.13 ± 0.60	0.5-2.5	0.921
S Wave Amplitude (mV)	0.08±0.05	0.04 ± 0.7	0-0.3	0.086
ST Segment (mV)	0.04±0.04	0.007±0.02	-0.15 – 0.20	0.050*
T Wave	> 25% of R Wave in 8.33% of the cases	> 25% R Wave in 41.66% of the cases	< 25% of R Wave Amplitude	

746

^aTiley, 1992; HR: heart rate

747

* t-test for independent samples, significance P < 0.05

748

749

750

751

752

753

754

755

756

757 Table 4 – Mean and standard deviation of time-domain heart rate variability parameters for
 758 animals in the control group and the group afflicted with acute monocytic ehrlichiosis.

Parameters	Control Group	Sick Group	Reference	P Value
SAP (mmHg)	142.5 ± 14.5	118.18 ± 26.21	151.64 ± 27.03	0.021*
Mean HR (bpm)	86 ± 13.31	104.91 ± 26.45	83.10 ± 12.67	0.054
Min HR (bpm)	38.5 ± 6.93	49.91 ± 18.22	44.60 ± 19.62	0.099
Max HR (bpm)	249.1 ± 1.91	235.75 ± 27.05	271.00 ± 27.10	0.444
Mean NN	474±117.6	650.25±147.9	482 ± 845	0.110
SDNN (ms)	268.5 ± 74.65	190.5 ± 95.47	322.30 ± 137.79	0.049*
SDANN (ms)	168.3 ± 39.14	123.33 ± 65.093	187.00 ± 46.42	0.070
SDNN Index (ms)	216.9 ± 74.28	146.75 ± 80.68	260.40 ± 137.91	0.048*
RMSSD (ms)	146.9 ± 45.48	142.75 ± 84.74	123.20 ± 45.31	0.891
PNN50 (%)	55.87 ± 12.84	43.52 ± 24.73	59.29 ± 14.58	0.170

759 SAP: Systemic Arterial Pressure; * t-test for independent samples, significance P < 0.05; Mean HR, Min HR and Max HR:
 760 Mean, minimum and maximum heart rate; NN: Mean of all normal RR intervals; SDNN: standard deviation of all normal RR
 761 intervals; SDANN: standard deviation of the mean of normal RR intervals calculated every five minutes; SDNNindex: mean
 762 of the standard deviation of normal RR intervals calculated every five minutes; pNN50: rate of differences exceeding 50 ms
 763 between adjacent RR intervals; RMSSD: square root of the mean of the squares of adjacent RR intervals.

764
 765
 766
 767
 768
 769
 770
 771

772 Table 5 – Mean and standard deviation of time-domain heart rate variability parameters for
 773 animals in the control group and the group afflicted with acute monocytic ehrlichiosis.

Parameters	Control Group	Sick Group	P Value
HF sleep (ms ²)(x10 ³)	28.5 ± 31.5	3.7 ± 3.6	0.015*
LF sleep (ms ²) (x10 ³)	3.32±1.98	2.08±1.58	0.119
LF/HF sleep	3.32±1.98	2.08±1.58	0.002*
VLF sleep (ms ²) (x10 ³)	2.80±1.99	1.68±1.43	0.141
HF vigilance (ms ²) (x10 ³)	1.76±1.40	1.80± 2.28	0.692
LF vigilance (ms ²) (x10 ³)	2.69±1.79	0.97±0.78	0.019*
LF/HF vigilance	2.19±1.66	1.49±1.66	0.129
VLF vigilance (ms ²) (x10 ³)	4.39±4.33	1.90±2.65	0.113
HF sleep (n.u.)	77.3±13.88	53.81±18	0.003*
LF sleep (n.u.)	22.7±13.88	46.43±18.12	0.003*
HF vigilance (n.u.)	37.56±16.46	53.15±24.5	0.102
LF vigilance (n.u.)	62.44±16.46	46.85±24.50	0.102

774 * t-test for independent samples, significance P < 0.05

775 HF: high frequency; LF: low frequency; LF/HF: the ratio between low frequency and high frequency; VLF: very low
 776 frequency;

777

778

779

780

781

782

783

784

785

786

787

788

789

790 Table 6 – Mean, standard deviation, median, and quartiles of the frequency-domain heart rate
 791 variability indexes regarding the sleep and vigilance states in the sick group.

Variable	State		P Value
	Sleep	Vigilance	
HF (ms ²)	2845 (829 - 6561)	1361 (334 - 1884)	0.237
LF (ms ²)	2081.6±1584.3	972 (± 785.4)	0.041*
LF/HF	0.650 (0.495 – 1.450)	0.825 (0.425 – 2.07)	0.751
VLF (ms ²)	1375.5 (658.5– 2404.5)	1005.0 333.5-2567)	0.583
HF (n.u.)	53.81 ±18.0	53.15 ±24.5	0.940
LF (n.u.)	46.4 ± 18.12	48.85 ±24.5	0.963

792 * t-test for independent samples, significance P < 0.05

793 HF: high frequency; LF: low frequency; LF/HF: the ratio between low frequency and high frequency; VLF: very low
 794 frequency;

795

796 Table 7 - Mean, standard deviation, median and quartiles of the frequency-domain heart rate
 797 variability indexes regarding the sleep and vigilance states in the control group.

Variable	State		P Value
	Sleep	Vigilance	
HF (ms ²)	15727.5 (4970-57130)	12.26 (602 - 3169)	0.002*
LF (ms ²)	3322.9±1989.8	2696.7± 1790.4	0.496
LF/HF	0.291± 0.211	2.199 ± 1.66	0.002*
VLF (ms ²)	2371.5 (1174-4472)	3210.5 (2105-4537)	0.345
HF (n.u.)	77.3 ±13.88	37.5 ±16.46	0.001*
LF (n.u.)	22.7 ±13.88	62.44 ±16.46	0.001*

798 * t-test for independent samples, significance P < 0.05

799 HF: high frequency; LF: low frequency; LF/HF: the ratio between low frequency and high frequency; VLF: very low
 800 frequency;

801

802

803

804

805

806 Table 8 – Correlation between time-domain and frequency-domain HRV indexes in the sleep
 807 and vigilance states.

RMSSD X HF vigilance SG		PNN50 X HF sleep CG		PNN50 X HF vigilance CG	
R	P	r	P	R	P
0.718	0.00707*	0.770	0.0068*	0.697	0.0217*

SDNNindex x LF sleep SG		SDNN index x LF vigilance SG		SDNNindex x VLF vigilance SG	
R	P	r	P	R	P
0.641	0.0248*	0.590	0.0433*	0.720	0.00707*

*significant correlation ($p < 0.05$); HF: high frequency; LF: low frequency; LF/HF: relação entre low frequency e high frequency; VLF: very low frequency; SDNNindex: mean of the standard deviation of normal RR intervals calculated every five minutes; pNN50: rate of differences exceeding 50 ms between adjacent RR intervals; RMSSD: square root of the mean of the squares of adjacent RR intervals.

808

Capítulo III

Discussão Geral

Embora os índices de VFC não apresentassem redução marcante os resultados obtidos em nosso estudo indicam, uma diminuição na VFC. Diversas afecções podem promover um desequilíbrio da atividade do SNA (JUNQUEIRA Jr. 1998). Assim a redução dos índices de VFC neste trabalho pode ser em decorrência de uma injúria miocárdica devido à Ehrlichiose, caracterizando-se, a miocardite, neste caso, nas fases 1 e 2, principalmente na primeira, devido ao caráter agudo e à ausência de sinais clínicos compatíveis com miocardite (Mason, 2003), comprometendo assim a atividade do SNA.

Ainda de acordo com JUNQUEIRA Jr. (1998), a fase 1 da miocardite caracteriza-se por injúria miocárdica inicial, fase 2 presença de injúria miocárdica autoimune e na fase 3, dilatação de câmaras cardíacas (cardiomiopatia dilatada). É provável que a ausência de alterações nos parâmetros eletrocardiográficos e quanto à alguns índices de holter no presente estudo, seja decorrente do fato dos animais apresentarem-se na fase aguda da doença, podendo os mesmos ser portadores de miocardite, porém durante a fase 1, ainda não detectada e adequadamente ilustrada pelos exames aplicados em nosso estudo. Pesquisas incluindo a análise ecocardiográfica, histopatológica e mensuração da concentração de biomarcadores seriam necessários e ilustrariam com maior acurácia a presença de miocardite.

Apesar da falta de significância estatística, é importante discutir achados de dois cães que apresentaram índices de VFC no domínio do tempo bastante distintos dos observados no restante dos animais do estudo com predomínio marcante do SNA simpático e diminuição da ação do SNA parassimpático. A maior diferença foi observada nos índices RMSSD e Pnn50%, que avaliam a influência parassimpática no coração. Nesses animais, não observamos diferenças clínicas e hematológicas que justificassem esse predomínio marcante do SNA simpático, sendo o número de plaquetas, volume globular, hidratação e condição imunológica (leucograma), encontravam-se semelhantes aos demais animais do estudo. Através desses dados podemos inferir que esses animais poderiam estar infectados há mais

tempo que os outros e, com isso, em fases mais avançadas de miocardite. Como nosso estudo utilizou animais naturalmente infectados, não é possível prever exatamente o tempo de infecção de cada animal, apenas que todos estavam na fase aguda, devido as manifestações hematológicas características (HARRUS, 2015). Para se determinar o efeito do tempo de infecção sobre o miocárdio, nos animais dentro da mesma fase da infecção, seria necessário um estudo com animais infectados experimentalmente. Esses dados apoiam a nossa hipótese de que, as alterações na VFC e a ausência de arritmias nos animais em fase aguda, diferem da encontrada em animais com a doença em fase crônica, provavelmente devido ao tempo de infecção e da atuação das citocinas pró-inflamatórias sobre o coração.

O presente estudo foi o primeiro a avaliar animais VFC no domínio da frequência em animais naturalmente infectados e a analisar esses índices durante os períodos de sono e vigília.

Nos animais do GD foi observado quando analisados os índices de VFC no domínio do tempo um desequilíbrio autonômico precoce, porém não foi possível determinar se o SNA afetado foi o simpático ou o parassimpático, enquanto ao avaliarmos os índices de VFC no domínio da frequência é possível determinar que nos animais infectados observa – se um predomínio simpático e uma menor atuação do SNA parassimpático. Essa exacerbação do SNA simpático promove uma sobrecarga cardíaca, podendo gerar uma lesão dos miócitos e a logo prazo gerar focos arrítmicos. O aumento da frequência cardíaca também promove a diminuição da fase diastólica e com isso a diminuição do débito cardíaco. O baixo débito por um período mais prolongado gera uma maior predisposição à doença renal crônica, aumentando a chance desses animais desenvolverem a doença renal ao longo da vida e de forma precoce.

O presente estudo teve como fatores limitantes o pequeno número de animais em cada grupo e a ausência da dosagem sérica de biomarcadores cardíacos como a Troponina I.

Conclusão Geral

Com base nas condições em que o presente estudo foi realizado, as conclusões obtidas foram:

- Na forma aguda da EMC ocorre um predominio do SNA simpático nos animais doentes com relação aos índices de VFC no dominio do tempo, porém quando analisamos os índices de VFC no dominio da frequência podemos avaliar mais profundamente esses dados que constatar que pode sim haver uma diminuição da ação do SNA passimpático e um predominio simpático nos animais acometidos pela EMC em fase aguda.

- A frequência de arritmias nos animais infectados por Ehrlichiose monocítica canina em fase aguda é baixa ou na maioria das vezes, não ocorre.

- O aumento do tempo de infecção pode ser um fator que diminua os índices de VFC no domínio do tempo.

-As informações obtidas não são suficientes para sugerirmos que os animais estão sofrendo efeitos iniciais de miocardite, mas a diminuição dos índices de VFC indicam que a bactéria pode ter um efeito inicial direto sobre o miocárdio mesmo na fase aguda da doença, sendo o tempo de infecção como um fator crucial para sua modificação, porém para uma melhor elucidación do acometimento cardíaco nesta fase da doença são necessários estudos mais abrangentes com um maior número de animais, além da avaliação ecodopplercardiográfica além da dosagem serica de biomarcadores cardíacos.

Referências

AMORIM, D.S., MANÇO, J.C., GALLO JR., L., et al., Chagas' heart disease as an experimental model for studies of cardiac autonomic function in man. *Mayo Clin. Proc.* 57 (suppl): 48-60, 1982.

AKSELROD, S., LISHNER, M., OZ, O., et al. Spectral analysis of fluctuations in heart rate: an objective evaluation of autonomic nervous control in chronic renal failure. *Nephron* v. 45 p. 202-206, 1987

BARROS, V.C.V.; BRITO, M.R. Estudo da variabilidade da frequência cardíaca no paciente após infarto agudo do miocárdio. *Revista da Sociedade Mineira de Cardiologia*. Disponível

em:<http://www.bibliomed.com.br/lib/showdoc.cfm?LibDocID=13320&ReturnCatID=14138&action=full>

BENNETT, T., FARQUHAR, I.K., HOSKING, D.J., et al. Assessment of methods for estimating autonomic nervous control of the heart in patients with diabetes mellitus. *Diabetes*. v 27 p 1167-1174, 1978.

BOGUCKI, SZ., NOSZCZYK-NOWAK, A. Short-term heart rate variability (HRV) in healthy dogs. *Polish Journal of Veterinary Sciences* Vol. 18, No. 2, p. 307–312. 2015.

DINIZ, P.P.V.P. Miocardite em cães com Ehrliquiose Monocítica. (Tese Doutorado) – FMVZ - UNESP Botucatu. 2006.

BATMAZ, H.; NEVO, E.; WANER, T.; SENTURK, S.; YILMAZ, Z.; HARRI, S. Seroprevalence of Ehrlichia canis antibodies among dogs in Turkey. *Veterinary Record*, v. 148, p. 665-666, 2001.

CHAMAS, P. P. C. Estudo do eletrocardiograma ambulatorial, eletrocardiograma de alta resolução (ECGAR) e variabilidade da frequência cardíaca como indicadores prognósticos na

cardiomiopatia arritmogênica de cães Boxer. 2011. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

CAMM, J. A., BIGGER, T. J., et al., Heart rate variability Standards of measurement, physiological interpretation, and clinical use Task Force of The European Society of Cardiology and The North American Society of Pacing and Electrophysiology. *European Heart Journal* 17, 354–381. 1996.

CARDOSO, M.J.L.; MELUSSI, M.; JUNIOR, A.Z.; et al. Eletrocardiografia computadorizada em cães da raça American pit bull terrier. vol. 34(5). Londrina: Semina Ciências Agrárias, 2013.

CARVALHO, B.V.L.A. Hipertensão arterial felina. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária - Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 2009.

CALVERT, C. A. Heart rate variability. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*, v. 28, n. 6, p. 1409-1427, 1998.

COHN, L.A. Ehrlichiosis and related infections. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice*. 2003, v.33, n.4, p.863-884.

COUTO, C. G. Hematologia. In: NELSON, R. W. & COUTO, C. G. (Org.) *Medicina Interna de Pequenos Animais*. 5ª Edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 1201-1282, 2015.

DINIZ, P.P.V.P.; MORAIS, H.S.A.; BREITSCHWERDT, E.B.; SCHWARTZ, D.S. Serum Cardiac Troponin I Concentration in Dogs with Ehrlichiosis. *J Vet Intern Med* 22, 1136–1143, 2008

ECKBERG, D.L., DRABINSKY, M., BRAUNWALD, E. Defective cardiac parasympathetic control in patients with heart disease. *New Engl. J. Med.* v. 285 p. 877-883, 1971.

EWING, D.J., MARTYN, C.N., YOUNG, R.J., et al. The value of cardiovascular autonomic function tests: 10 years experience in diabetes. *Diabetes Care* v. 8 p.491-498. 1985.

EVERMANN, J. F.; SELLON, R.K.; SYKES, J.E. Viral, Rickettsial, and Chlamydial Diseases. in: Greene – *Infectious Diseases of the dog and cat*. 4^a ed – Elsevier Saunders, 2012.

FARIA, J.L.M., MUNHOZ, T. D., JOÃO, C.F., et al., *Ehrlichia canis* (Jaboticabal strain) induces the expression of TNF- α in leukocytes and splenocytes of experimentally infected dogs. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, Jaboticabal, v. 20, n. 1, p. 71-74. 2011.

FILIPPI, M.G. Avaliação eletrocardiográfica ambulatorial de cães com ehrliquiose monocítica crônica. 2016. 180f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP, Botucatu.

FINLEY, J.P., NUGENT, S.T., HELLENBRAND, W. Heart-rate variability in children. Spectral analysis of developmental changes between 5 and 24 years. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* v. 65 p. 2048-2052, 1987.

GOODWIN, JK. Holter monitoring and cardiac event recording. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, v.28, n.6, p. 1391-1402, 1998.

GROVES M.G.; DENNIS G.L.; AMYX, H.L.; HUXSOLL, D.L. Transmission of *Ehrlichia canis* to dogs by ticks (*Rhipicephalus sanguineus*). *American Journal of Veterinary Research*, v. 36, n.7, p. 937-940, 1975.

HARRUS, S., WANER, T. Diagnosis of monocytotropic ehrlichiosis (*Ehrlichia canis*): 394 An overview. *The Veterinary Journal*, v.187, p. 292-296, 2011.

HARRUS, S., WANER, T., WEISS, D. J., KEYSARY, A., BARK, H. Kinetics of serum antiplatelet antibodies in experimental acute canine ehrlichiosis. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, v. 51, p. 13-20, 1996.

HARRUS, S.; WANER, T.; NEER, T. M. Ehrlichia canis infection. In: GREENE, C. E. (Org.). Infectious diseases of the dog and cat. 4th edition. Georgia: Elsevier, p. 227-256, 2015.

HARVEY, J. W. Atlas of veterinary hematology: blood and bone marrow of domestic animals. Philadelphia: Elsevier, p. 228, 2001.

HARVEY, J. W. Veterinary hematology: a diagnostic guide and color atlas. Missouri: Elsevier. p. 360. 2012.

HAVENS, N. S.; KINNEAR, B. R.; MATO, S. Fatal Ehrlichial Myocarditis in a Healthy Adolescent: A Case Report and Review of the Literature. Clinical Infectious Diseases, v. 54, n. 8, p.113-114, 2012.

HESS, P. R., ENGLISH, R. V., HEGARTY, B. C., BROWN, G. D., BREITSCHWERDT, E. B. Experimental Ehrlichia canis infection in the dog does not cause immunosuppression. Veterinary Immunology and Immunopathology, v. 109, p.117-125, 2006.

JUNQUEIRA JR., L. F., Disfunção Autonômica Cardíaca, In: Porto C.C. (editor): Doenças do Coração -Tratamento e Reabilitação. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, Cap. 58, p. 306-311, 1998.

JUNQUEIRA JR., L.F. Ambulatory assessment of cardiac autonomic function in Chagas' heart disease patients based on indexes of R-R interval variation in the Valsalva maneuver. Braz. J. Med. Biol. Res. v. 23, p. 1091-1102, 1990.

KOUTINAS, C.K., MYLONAKIS, M. E., O'BRIEN, P. J., et al, Serum cardiac troponin I concentrations in naturally occurring myelosuppressive and non-myelosuppressive canine monocytic ehrlichiosis, The Veterinary Journal 194,259–261, 2012

KITTLESON, M.D. Eletrocardiography: basic concepts, diagnosis of chamber enlargement, and intraventricular conduction disturbances. in: KITTLESON, M.D; KIENLE, R.D. Small animal cardiovascular medicine. St. Louis: Mosby, 1998.

KALOGIANNI L, KOUTINAS C. K., THEODOROU K., et al., Cardiac troponin I concentrations, electrocardiographic and echocardiographic variables remained unchanged in dogs experimentally infected with Ehrlichia canis, The Veterinary Journal 217, 109–111, 2016

LABARTHE, N.; PEREIRA, M. C.; BARBARINI, O.; MCKEE, W.; COIMBRA, C.A.; HOSKINS, J. Serologic prevalence of Dirofilaria immitis, Ehrlichia canis and Borrelia burgdorferi infection in Brazil. Veterinary Therapeutics, v.4, p. 67-75, 2003.

LOMBARDI, F., SANDRONE, G., PERNPRUNER, S., et al. Heart rate variability as an index of sympathovagal interaction after acute myocardial infarction. Am. J. Cardiol. v. 60 p. 1239-1245, 1987.

LOPES, P.F.F., OLIVEIRA, M.I.B., ANDRÉ, S.M.S., et al., Clinical applicability of Heart Rate Variability. Rev Neurocienc. 21 (4), 600-603.2013.

LORGA FILHO, A. et al. Artigo Especial Recomendações da Sociedade Brasileira de Arritmias Cardíacas. Arquivo Brasileiro de Cardiologia, v. 101, n. 2, p. 101–105, 2013.

MALLIANI, A., PAGANI, M., LOMBARDI, F., CERUTTI, S., Cardiovascular neural regulation explored in the frequency domain. Circulation v. 84 p. 482-492, 1991.

MALIK, M.; CHAIRMAN, M.D. Heart rate variability: Standards of measurement physiological interpretation and clinical use. European Heart Journal, v. 17, p. 354-381, 1996.

MARÃES, V.R.F.S. Frequência cardíaca e sua variabilidade: análises e aplicações. Revista Andaluza de Medicina Del Deporte, v. 3, n. 1, p. 33-42, 2010.

MASON, J. W., Myocarditis and dilated cardiomyopathy: An inflammatory link, Cardiovascular Research 60, p. 5–10. 2003.

MATTHEWMAN, L.A.; KELLY, P.J.; MAHAN, S.M.; SEMU, D.; TAGWIR, M.; BOBADE, P.; BROUQUI, P.; MASON, P.R.; RAOULT, D. Western blot and indirect fluorescent antibody testing for antibodies reactive with Ehrlichia canis sera from apparently healthy dogs in Zimbabwe. Journal of South African Veterinary Association, v. 64, p. 111-115, 1993.

MAZINI, A. M. Avaliação da ocorrência de arritmias e da variabilidade da frequência cardíaca em cães obesos pelo método Holter (Doctoral dissertation, Universidade de São Paulo).

MCLEOD, J.G., TUCK, R.R., Disorders of the autonomic nervous system: Part 1. Pathophysiology and clinical features. Ann. Neurol. v. 21 p. 419-430, 1987.

MYLONAKIS, M. E.; DAY, M. J.; SIARKOU, V. VERNAU, W.; KOUTINAS, A. F. Absence of myelofibrosis in dogs with myelosuppression induced by Ehrlichia canis infection. Journal of Comparative Pathology, California, v. 142, p. 328-331, 2010.

MONTENEGRO, V. M. et al. Chagas Disease in Dogs from Endemic Areas of Costa Rica. Mem Inst Oswaldo Cruz, v. 97, n. June, p. 491–494, 2002.

MONTEZE, N.M. Variabilidade da frequência cardíaca em trabalhadores de turno: resposta ao ortostatismo e relação com a antropometria, composição corporal e pressão arterial. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2014.

NAVARRETE AMPUERO, R. A. (2013). Variabilidade da frequência cardíaca em cães com degeneração mixomatosa crônica da valva mitral.(dissertação de mestrado).

NATELSON, B.H. Neurocardiology an interdisciplinary area for the 80s. Arch. Neurol. v. 42 p.178-184, 1985.

NETO, G. B. P. et al. Holter electrocardiography in dogs showing doxorubicin-induced dilated cardiomyopathy. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v. 58, n. 6, p. 1037–1042, 2006.

NEER, T.M., E. B. BREITSCHWERDT, R. T. GREENE, AND M. R. LAPPIN. Consensus statement on ehrlichial disease of small animals from the infectious disease study group of the ACVIM. American College of Veterinary Internal Medicine. Journal of Veterinary Internal Medicine, n. 16 p. 309–315, 2002.

OLIVEIRA, M.S.; MUZZI, R.A.L.; ARAÚJO, R.B.; MUZZI, L.A.L.; FERREIRA, D.F.; NOGUEIRA, R.; SILVA, E.F. Heart rate parameters of myxomatous mitral valve disease in dogs with and without heart failure obtained using 24-hour Holter eletrocardiography. Veterinary Record, v.170, n.24, p.622, 2012.

PASTORE, C.A.; GRUPI, C.J.; MOFFA, P.J. Eletrocardiografia atual. Curso de eletrocardiografia do Serviço de eletrocardiografia do INCOR. São Paulo: Atheneu, 2008.

PRICE, J.E.; SAYER, P.D. Canine ehrlichiosis. In: KIRK, R.W. Current Veterinary therapy. 8 ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1983.

PRETORIUS, A.M.; KELLY, P.J. Serological survey for antibodies reactive with Ehrlichia canis and E. chaffeensis in dogs from the Bloemfontein area, South Africa. Journal of South African Veterinary Association, v. 69, p.126-128, 1998.

PASCON, J. P. E. et al. Clinical characterization of chronic chagasic cardiomyopathy in dogs 1. Pesquisa Veterinária Brasileira, v. 30, n. 2, p. 115–120, 2010.

PATTERSON, D.F.; DETWEILER, D.K.; HUBBEN, K.; BOTTS, R.P. Spontaneous abnormal cardiac arrhythmias and conduction disturbances in the dog (a clinical and pathological study of 3000 dogs). American Journal of Veterinary Research, v.22, p.355, 1961.

RASMUSSEN, C.E.; FALK, T.; PETRIC, A.D.; SCHALDEMOSE, M.; ZOIS, N.E.; MOESGAARD, S.G.; ABLAD, B.; NILSEN, H.Y.; LJUNVALL, I.; HÖGLUND, K.; HÄGGSTRÖM, PEDERSEN, H.D.; BLAND, J.M.; OLSEN, L.H. Holter Monitoring of

Small Breed Dogs with Advanced Myxomatous Mitral Valve Disease with and without a History of Syncope. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, v.28, p.363-370, 2014.

REZENDE, R.S., COELHO, H.E., KAMIMURA, R., et al. Análise microscópica do miocárdio ventricular esquerdo em cães soropositivos para cinomose. *Pesqui. Vet. Bras.* 29, 117–119, 2009.

RIERA, A. R. P., FRIEDMANN, A. A., OLIVEIRA, C.A.R., et al., Diretrizes da Sociedade Brasileira de Cardiologia sobre Análise e Emissão de Laudos Eletrocardiográficos. *Arquivo Brasileiro de Cardiologia*, 93 (3 supl.2) p. 1-19. 2009.

SANCHES, C.D.D.C. Estudo histopatológico das lesões viscerais da erliquiose monocítica canina na fase crônica. 2015. 62 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP, Botucatu.

SANTARÉM, V. A., DE DEUS, J. M., BRAGA L.C., Alterações bioquímicas em cães citopênicos e não citopênicos com ehrlichiose. *Semina: Ciências Agrárias*, 29(4), 2008.

SANTARÉM e AGUIAR, Erliquiose monocítica canina in: MEGID, J; RIBEIRO, M.G.; PAES, A.C., *Doenças infecciosas em animais de produção e de companhia*, ed.1, editora Roca, 2016.

STOCKHAM, S. L; SCOTT, M. A. *Fundamentos de Patologia Clínica Veterinária*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011.

SUTO, Y.; SUTO, A.; INOKUMA, H.; OBAYASHI, H.; HAYASHI, T. First confirmed canine case of Ehrlichia canis infection in Japan. *Veterinary Record*, v.148, p. 809-811, 2001.

SYKES, J.E. Ehrlichia, Anaplasmosis, Rocky Mountain Spotted Fever, and Neorickettsial Infection. In: ETTINGER S.J.; FELDMAN, E.C. *Textbook of Veterinary Internal Medicine – Diseases of the Dog and Cat - 7 ed.* W.B. Saunders CO. p. 901-904, 2010.

SELK GHAFARI, M.; MARJANI, M.; MASOUDIFARD, M. Concurrent atrioventricular block , sinus arrest and pneumothorax in a dog secondary to vehicle accident. Iranian Journal of Veterinary Research, v. 10, n. 2, p. 192–194, 2009.

TILLEY, L.P. Essentials of canine and feline electrocardiography., 3 ed. ed. Philadelphia: Lea and Febiger, 1992.

TRIMARCO, B., VOLPE, M., RICCIARDELLI, B., et al. Valsalva maneuver in the assessment of baroreflex responsiveness in borderline hypertensives. Cardiology. v. 70 p. 6-14, 1983.

TONELLO, L.; RODRIGUES, F.B.; SOUZA, J.W.S.; CAMPBELL, C.S.G.; LEICHT, A.S.; BOULLOSA, D.A. The role of physical activity and heart rate variability for the control of work related stress. Frontiers in physiology, doi: 10.3389/fphys.2014.00067, 2014

VANDERLEY, L.C.M.; PASTRE, C.M.; HOSHI, R.A.; CARVALHO, T.D.; GODOY, M.F. Noções básicas de variabilidade da frequência cardíaca e sua aplicabilidade clínica. Revista Brasileira de Cirurgia Cardiovascular, v. 24, n. 2, p. 205-217, 2009.

VIEIRA, R.F.C.; BIONDO, A.W.; GUIMARÃES, A.M.S.; SANTOS, A.P.; SANTOS, R.P.; DUTRA, L.H.; DINIZ, J.P.V.P; MORAIS, H.A.; MESSIK, J.B.; LABRUNA, M.B.; VIDOTTO, O. Ehrlichiosis in Brazil. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, Jaboticabal, v.20, n.1, p. 1-12, 2011.

Normas da Revista

Ticks and tick borne diseases

Disponível em:

https://www.elsevier.com/wps/find/journaldescription.cws_home/721452?generatepdf=true

Tabela 9: Correlação entre os índices de VFC no domínio do tempo e da frequência nos períodos de sono e vigília

PNN50 X HF sono GD		PNN50 X HF vigília GD		PNN50 X HF sono GC		PNN50 X HF vigília GC	
R	P	r	P	r	P	R	P
0,483	0,105	0,559	0,0547	0,770	0,0068*	0,697	0,0217*

RMSSDXHF sono GD		RMSSD X HF vigília GD		RMSSD X HF sono GC		RMSSD X HF vigília GC	
R	P	r	P	r	P	R	P
0,455	0,130	0,718	0,00707*	0,231	0,490	0,590	0,0665

SDNNindex x LF sono GD		SDNN index x LF vigília GD		SDNN index x LF sono GC		SDNN index x LF vigília GC	
R	P	r	P	r	P	R	P
0,641	0,0248*	0,590	0,0433*	0,393	0,261	0,609	0,0615

SDNNindex x VLF sono GD		SDNNindex x VLF vigília GD		SDNNindex x VLF sono GC		SDNNindex x VLF vigília GC	
R	P	r	P	r	P	R	P
0,436	0,157	0,720	0,00707*	0,0737	0,840	0,600	0,0599

*correlação significativa (p< 0,05)

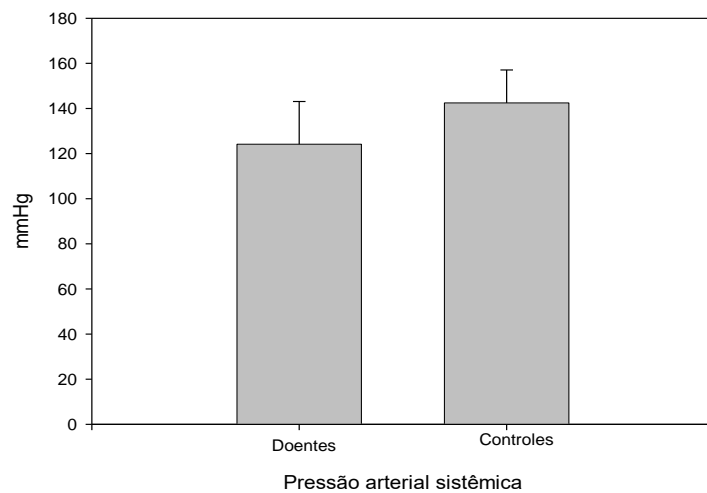


Gráfico 7 - Distribuição amostral da pressão arterial sistêmica (mmHg) entre os grupos doente e controle.

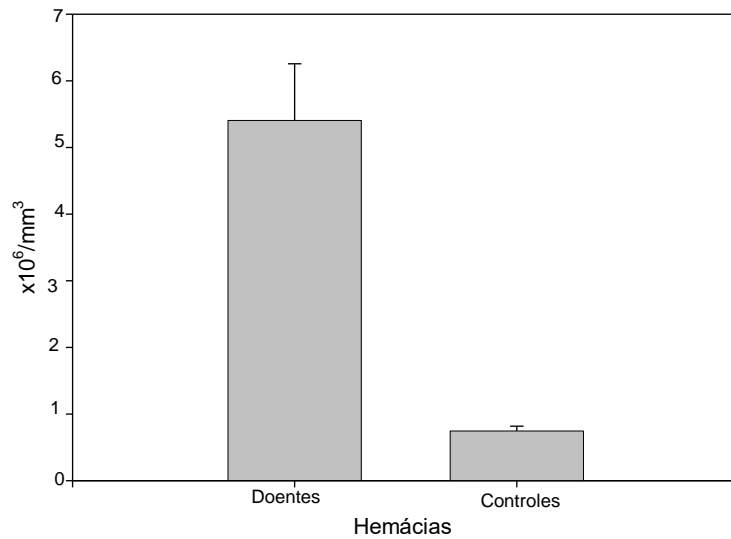


Gráfico 8 - Distribuição amostral do número de hemácias (x10⁶/μL) entre os grupos doente e controle.

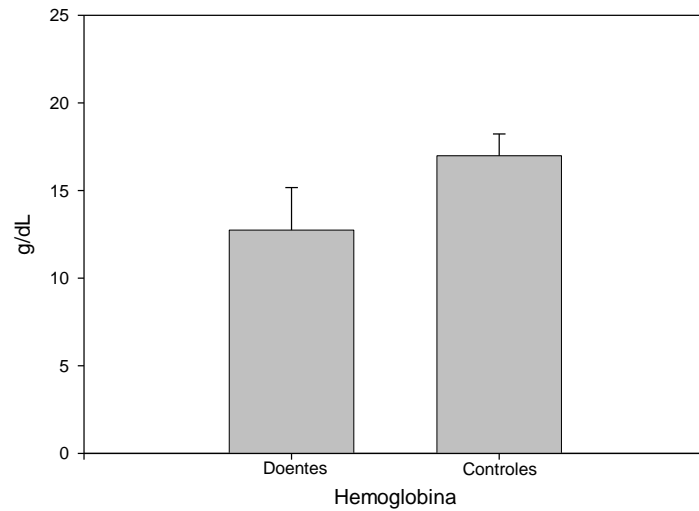


Gráfico 9 - Distribuição amostral da concentração de hemoglobina (g/dL) entre os grupos doente e controle.

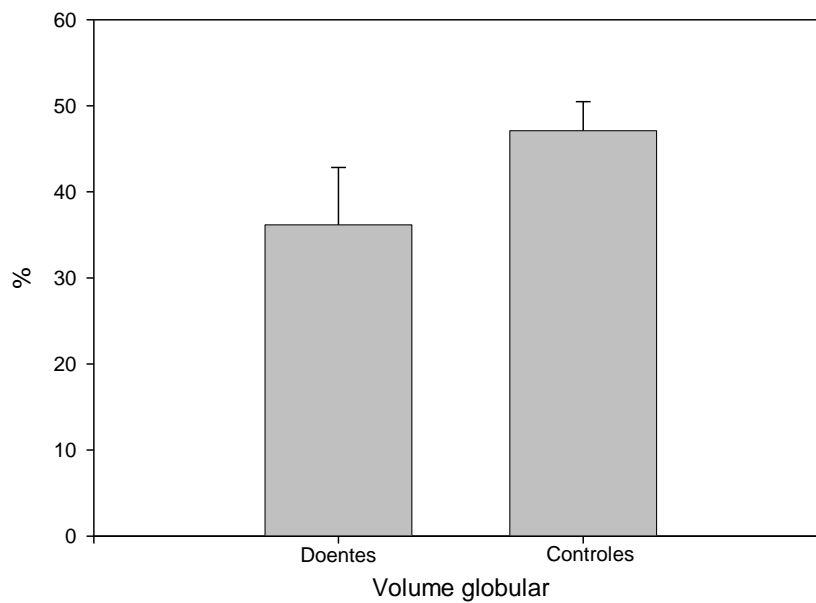


Gráfico 10 - Distribuição amostral do volume globular (%) entre os grupos doente e controle.

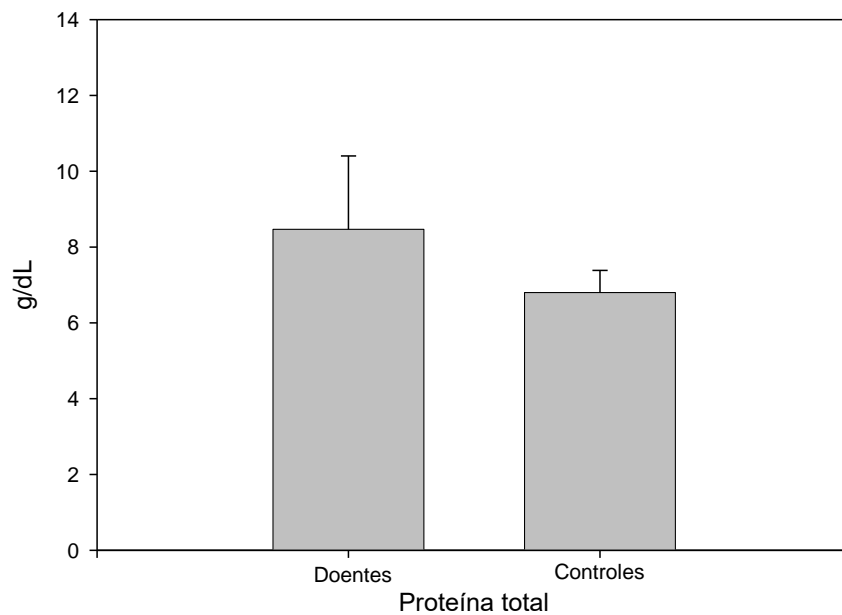


Gráfico 11 - Distribuição amostral da concentração de proteína plasmática (g/dL) total entre os grupos doente e controle.

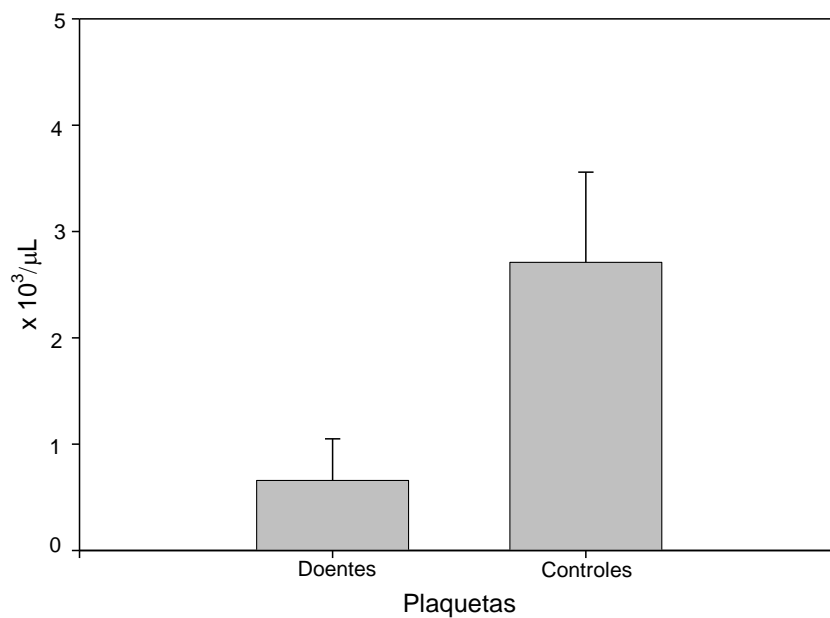


Gráfico 12 - Distribuição amostral de plaquetas (x 10³/mm³) entre os grupos doente e controle.

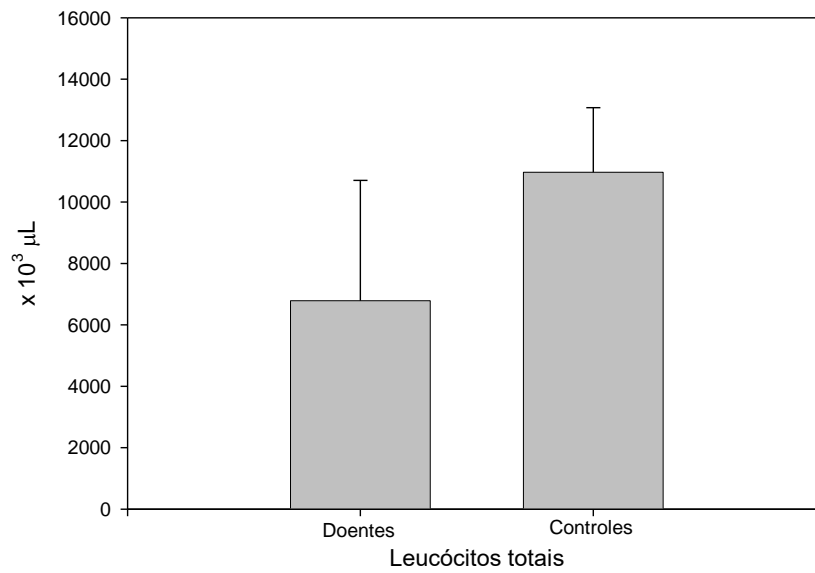


Gráfico 13 - Distribuição amostral do número total de leucócitos (x 10³/μL) entre os grupos doente e controle.

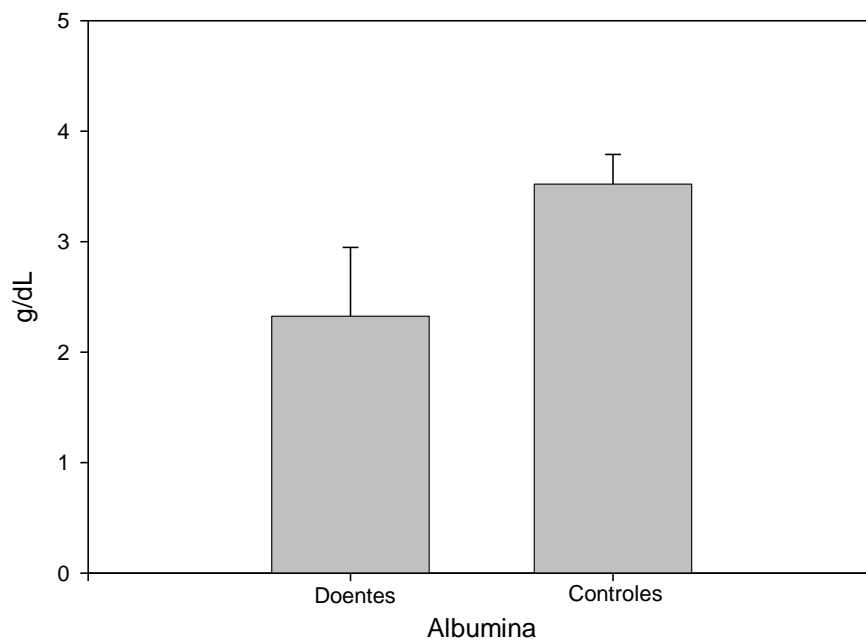


Gráfico 14 - Gráfico da distribuição amostral da concentração de albumina (g/dL) entre os grupos doente e controle.

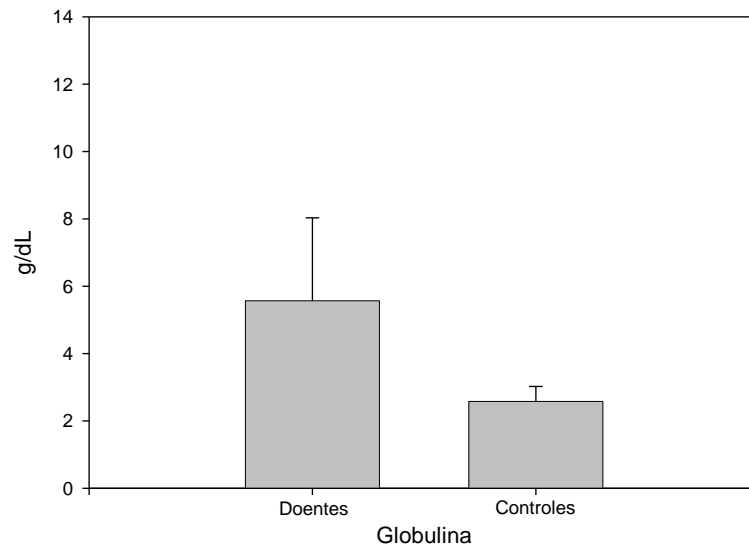


Gráfico 15 - Distribuição da concentração de globulina (g/dL) entre os grupos doente e controle.

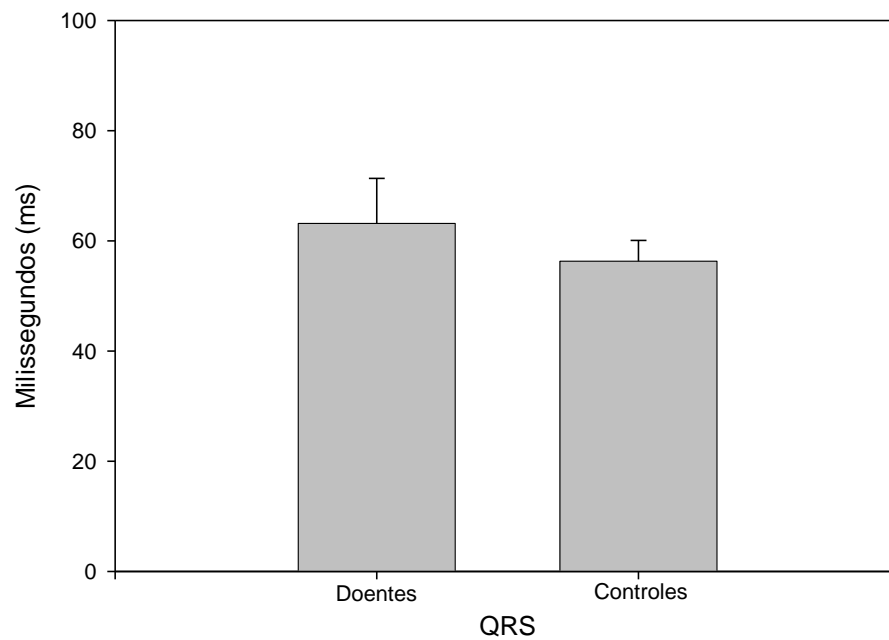


Gráfico 16 - Distribuição amostral duração do complexo QRS (ms) no eletrocardiograma entre os grupos doente e controle.

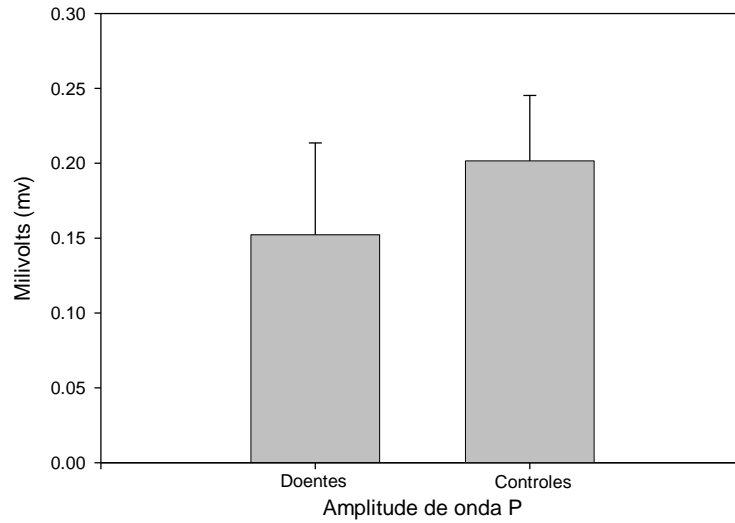


Gráfico 17 - Distribuição amostral da amplitude da onda P (mV) no eletrocardiograma entre os grupos doente e controle.

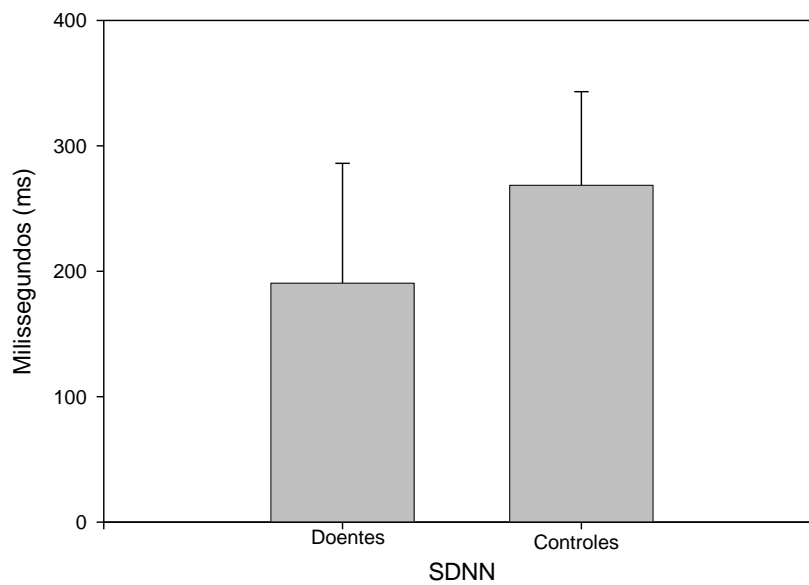


Gráfico 18 - Distribuição amostral de SDNN (ms) no Holter entre os grupos doente e controle.

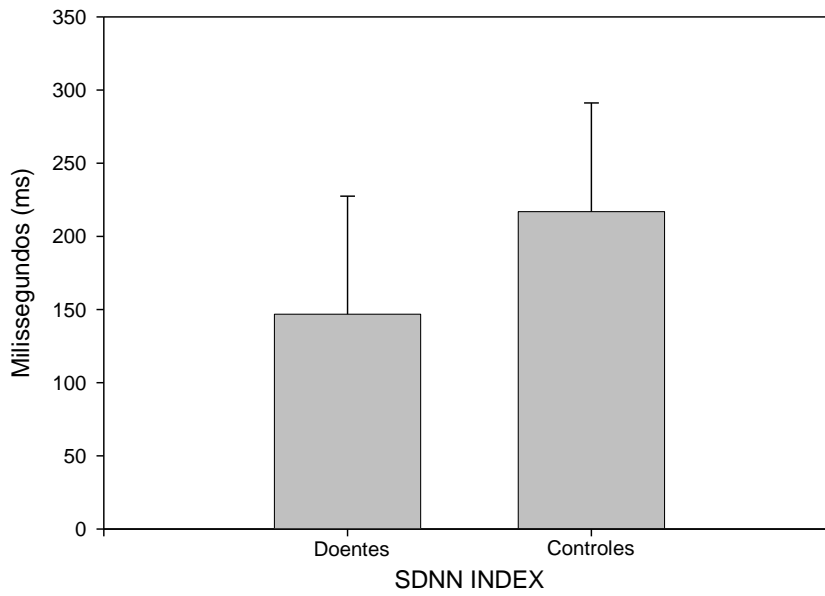


Gráfico 19 - Distribuição amostral de SDNNindex no Holter entre os grupos doente e controle.

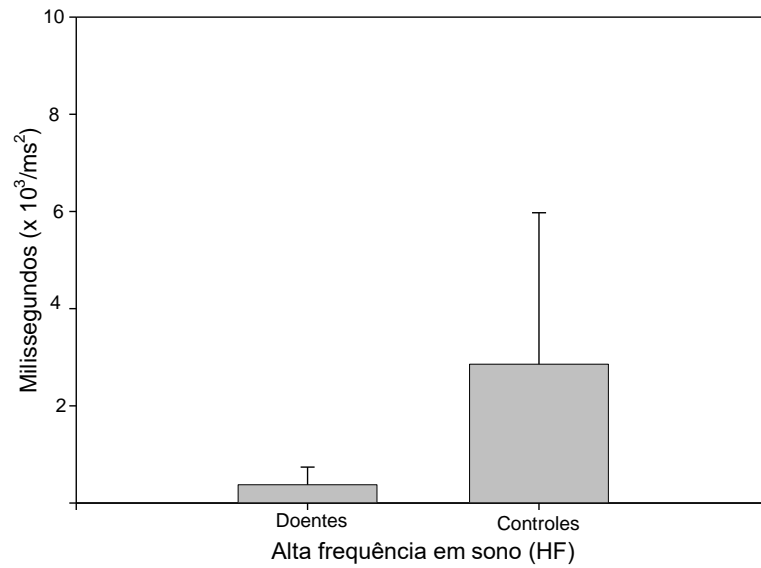


Gráfico 20 - Distribuição amostral de HF (ms²) no Holter entre os grupos doente e controle.

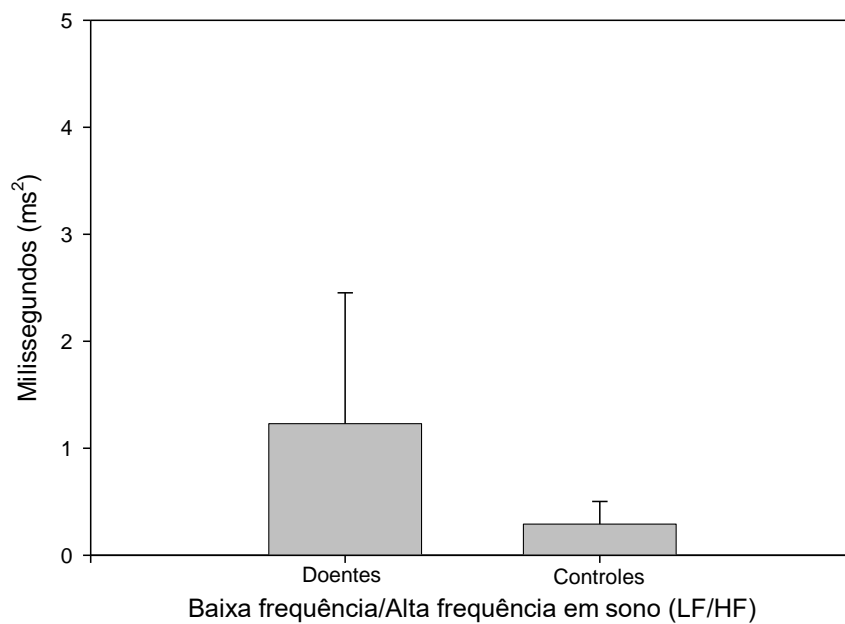


Gráfico 21 - Distribuição amostral de LF/HF no Holter entre os grupos doente e controle.

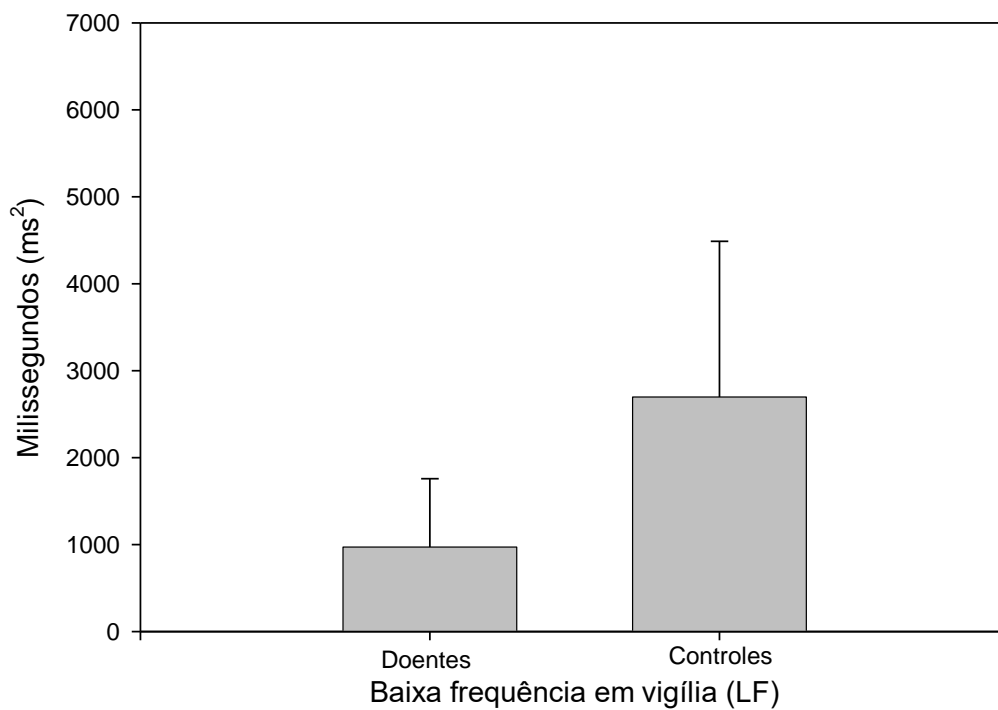


Gráfico 22 - Distribuição amostral LF (ms²) vigília no Holter entre os grupos doente e controle.

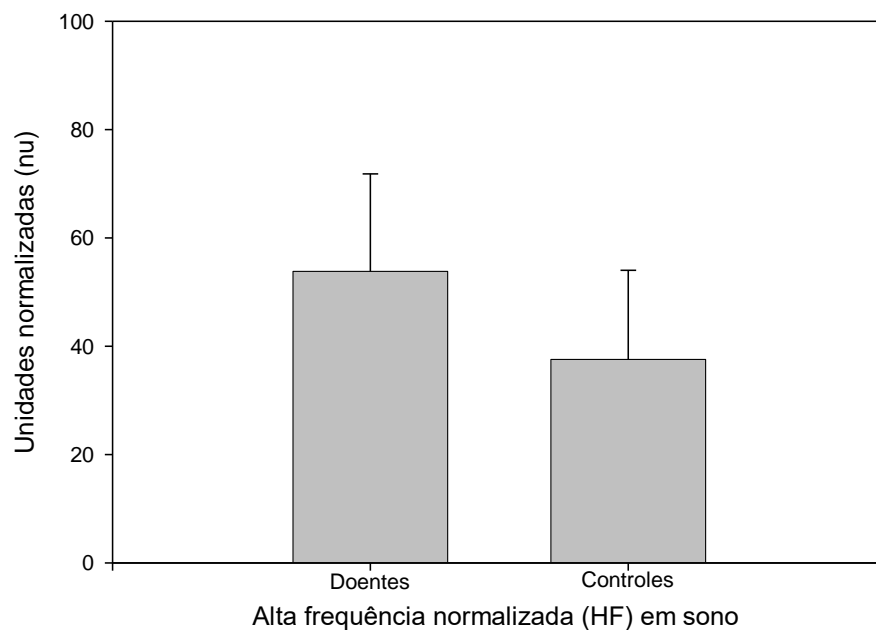


Gráfico 23 - Distribuição amostral de HF (n.u.) sono no Holter entre os grupos doente e controle.

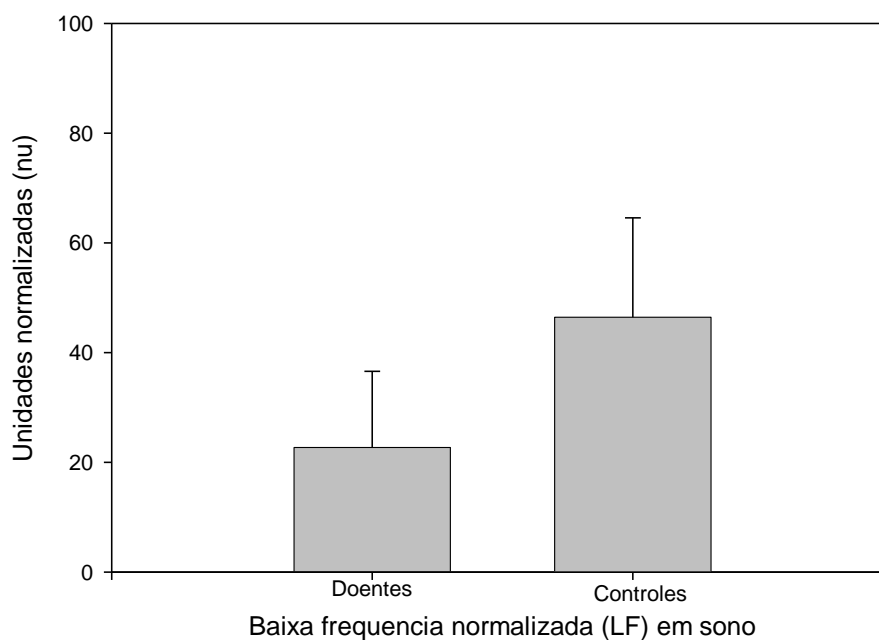


Gráfico 24 - Distribuição amostral de LF (n.u.) sono no Holter entre os grupos doente e controle.

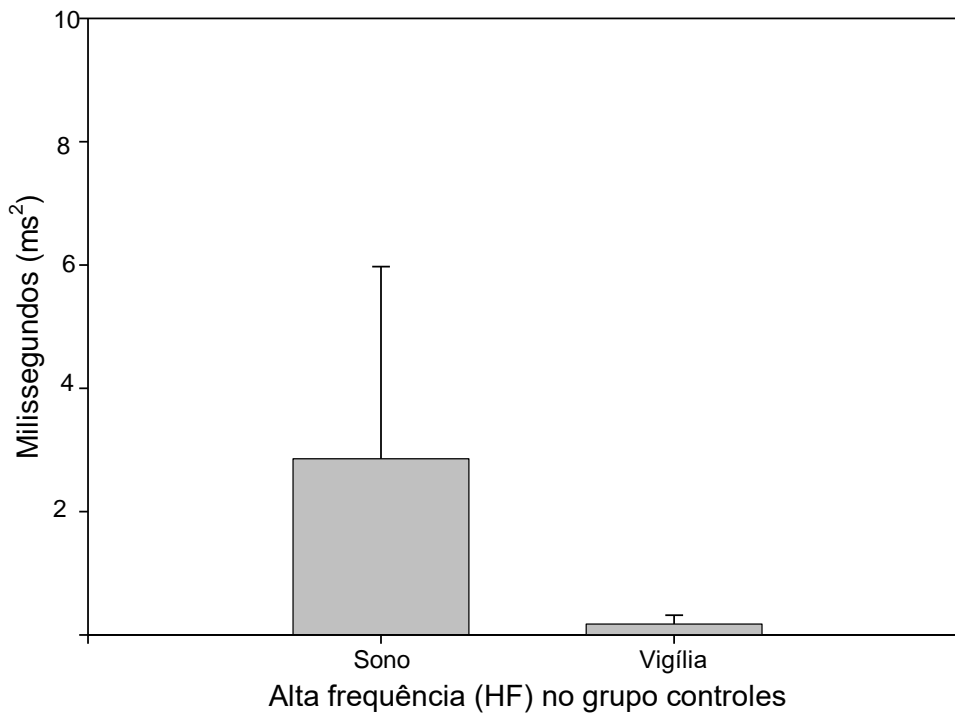


Gráfico 25 - Distribuição amostral de HF (ms²) no Holter no grupo controle nos períodos de sono e vigília.

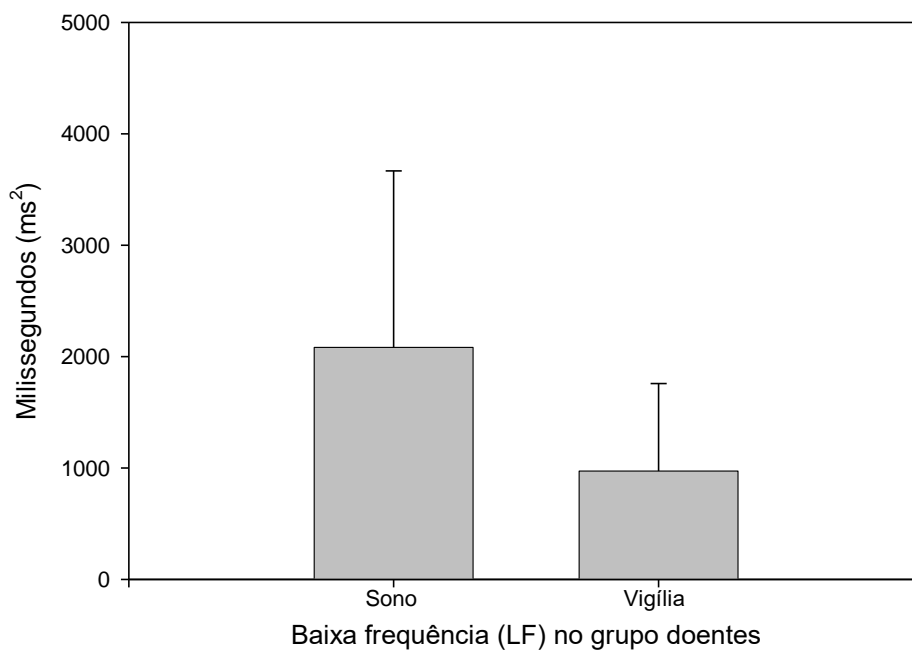


Gráfico 26 - Distribuição amostral de LF (ms²) no Holter no grupo doente nos períodos de sono e vigília.

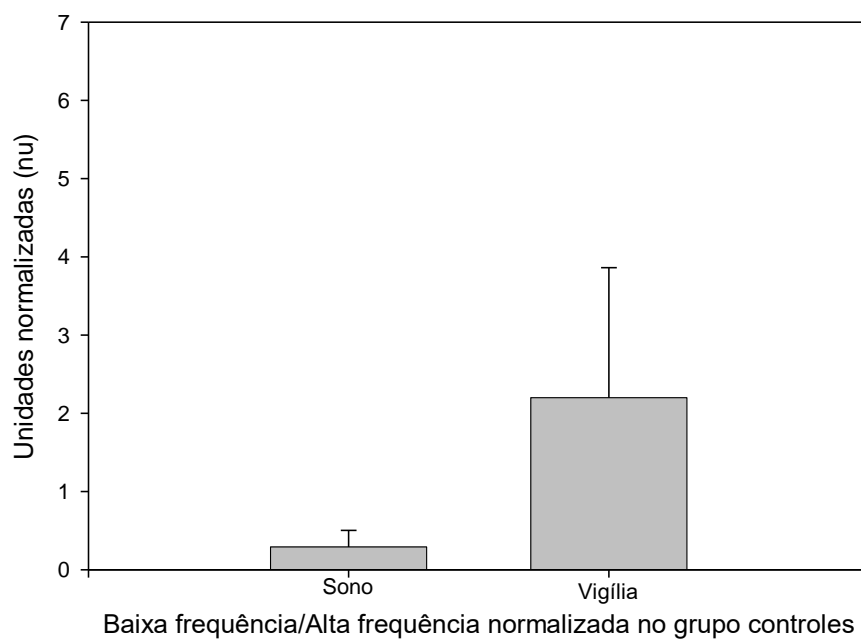


Gráfico 27 - Distribuição amostral de LF/HF no Holter no grupo controle nos períodos de sono e vigília.

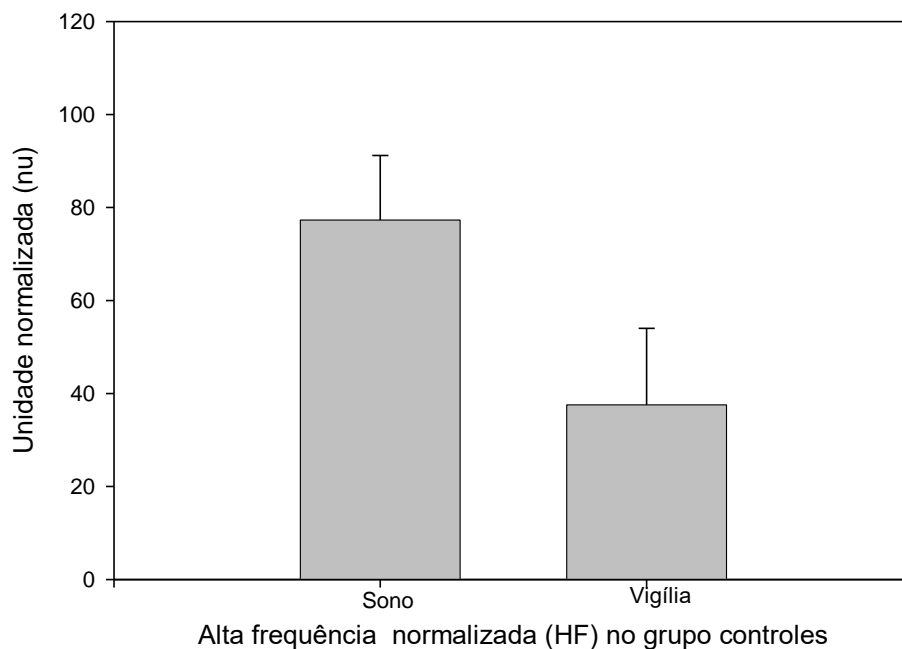


Gráfico 28 - Distribuição amostral de HF (n.u.) no Holter no grupo controle nos períodos de sono e vigília.

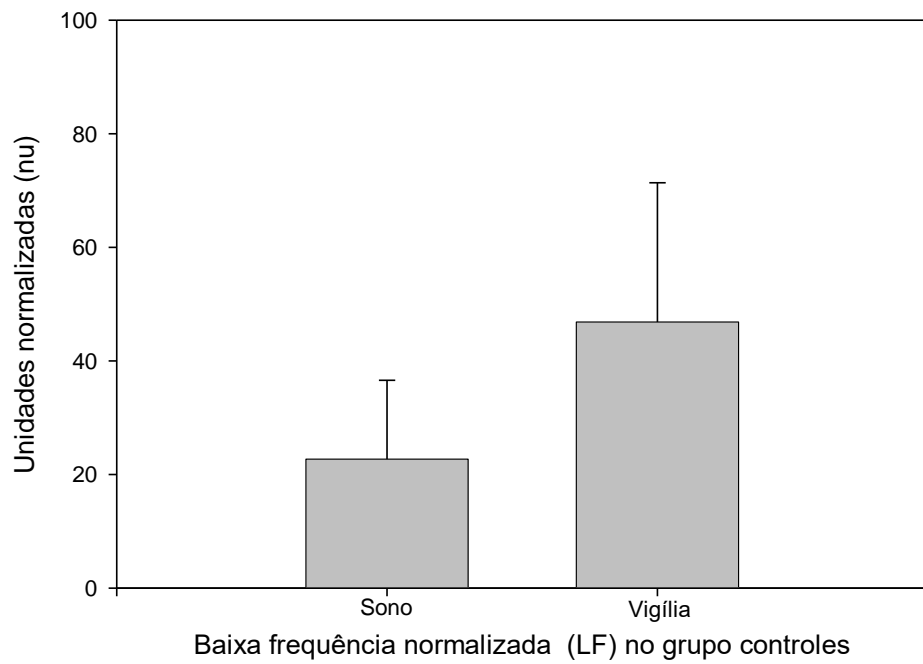


Gráfico 29 - Distribuição amostral de LF (n.u.) no Holter no grupo controle nos períodos de sono e vigília.