

UNIVERSIDADE DE UBERABA
ANA PAULA NAVARRO GONÇALVES

PERFIL EPIDEMIOLÓGICO, CLÍNICO E LABORATORIAL DE ANIMAIS COM
SUSPEITA CLÍNICA DE HEMOPARASITOSE ATENDIDOS NO HOSPITAL
VETERINÁRIO DE UBERABA-MG

UBERABA, MG

2019

ANA PAULA NAVARRO GONÇALVES

PERFIL EPIDEMIOLÓGICO, CLÍNICO E LABORATORIAL DE ANIMAIS COM
SUSPEITA CLÍNICA DE HEMOPARASITOSE ATENDIDOS NO HOSPITAL
VETERINÁRIO DE UBERABA-MG

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Sanidade e Produção Animal nos Trópicos da Universidade de Uberaba.

Orientadora: Profa. Dra. Joely Ferreira Figueiredo Bittar.

UBERABA, MG

2019

Catálogo elaborado pelo Setor de Referência da Biblioteca Central UNIUBE

G586p Gonçalves, Ana Paula Navarro.
Perfil epidemiológico, clínico e laboratorial de animais com suspeita clínica de hemoparasitose atendidos no Hospital Universitário de Uberaba-MG / Ana Paula Navarro Gonçalves. – Uberaba, 2019.
55 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade de Uberaba. Programa de Mestrado em Medicina Veterinária, concentração: Sanidade e Produção Animal nos Trópicos do Programa de Pós-Graduação.
Orientadora: Profa. Dra. Joely Ferreira Figueiredo Bittar.

1. Doenças parasitárias. 2. Doenças parasitárias – Diagnóstico. 3. Parasitologia veterinária. I. Bittar, Joely Ferreira Figueiredo. II. Universidade de Uberaba. Programa de Mestrado em Medicina Veterinária. III. Título.

CDD 636.089696

UNIVERSIDADE DE UBERABA
ANA PAULA NAVARRO GONÇALVES

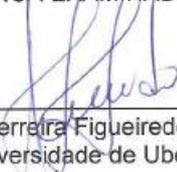
PERFIL EPIDEMIOLÓGICO, CLÍNICO E LABORATORIAL DE ANIMAIS COM SUSPEITA CLÍNICA DE
HEMOPARASITOSE ATENDIDOS NO HOSPITAL VETERINÁRIO DE UBERABA-MG

Dissertação apresentada como parte dos requisitos
para obtenção do título de Mestre em Sanidade e
Produção Animal nos Trópicos do Programa de
Pós-Graduação em Sanidade e Produção Animal
nos Trópicos da Universidade de Uberaba.

Área de concentração: Sanidade e Produção
Animal nos Trópicos

Aprovada em: 06/09/2019

BANCA EXAMINADORA:



Prof^a. Dr^a. Joely Ferreira Figueiredo Bittar - Orientadora
Universidade de Uberaba



Prof. Dr. Ian Martin
Universidade de Uberaba



Prof^a. Dr^a. Alessandra Aparecida Medeiros -
Ronchi
Universidade Federal de Uberlândia

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a Deus, que sempre me protegeu, abençoando todos os meus passos.

Aos meus pais Denise Cássia Navarro Gonçalves e Pedro Gonçalves da Silva, que sempre acreditaram em mim, e nunca mediram esforços para me ajudar em minha caminhada profissional. Sem vocês eu não teria chegado até aqui. Vocês são meu orgulho e minha maior inspiração. Obrigada pelo amor incondicional e pela paciência quando eu estava nos meus dias ruins. Eu amo MUITO vocês.

À minha irmã Déborah Evelyn Navarro Gonçalves, que mesmo distante, sempre esteve ao meu lado com palavras acolhedoras, me incentivando a enfrentar os desafios de cabeça erguida.

À toda minha família, a meus tios, tias, primos e primas que vibraram comigo na aprovação no processo seletivo do mestrado. Obrigada por todo incentivo, e por sempre estarem ao meu lado.

Agradeço a todos os professores que me apoiaram nessa jornada. De modo singular, gostaria de agradecer a professora e orientadora Dra. Joely Ferreira Figueiredo Bittar, que teve papel imprescindível nesse projeto, não apenas ensinando e ajudando a me tornar uma profissional exemplar, mas também por ser minha amiga, me acalmando nos momentos de desespero. Obrigada pela confiança depositada em mim.

À toda equipe do Instituto René Rachou (Fiocruz Minas). Obrigada Dr. Márcio Sobreira Silva Araújo e Dra. Josiane da Silva Quetz pela paciência e por todo ensinamento proporcionado nos dias em que trabalhamos juntos. Aprendi muito com vocês e serei eternamente grata por tudo que fizeram por mim. Agradeço também à equipe do laboratório, alunos da pós-graduação e iniciação científica que me auxiliaram no projeto e me proporcionaram dias de muitas risadas.

Aos meus amigos, Guilherme Caetano Garcia e Cleibiane Evangelista Franco Borges. A vocês minha eterna gratidão não apenas pela ajuda imprescindível nesse projeto, mas também pelo apoio emocional, pelo carinho e palavras doces nos momentos em que mais precisei. Espero um dia retribuir o que fizeram por mim.

Agradeço a compreensão e paciência de todos os meus amigos que me apoiaram, ouvindo meus desabafos, me incentivando sempre a melhorar cada vez mais. Em especial Janaína Sales de

Araújo, Dênia Monteiro, Daniela Paiva Rodrigues da Cunha, Gabrielle Cristina Tavares, Vassilikí Jaconi Stamoulis, Artur Barbosa Arantes, Marya Eduarda Paranhos Cardoso.

À Universidade de Uberaba e ao programa de Mestrado em Sanidade e Produção Animal nos Trópicos, por me proporcionarem um crescimento pessoal e profissional desde minha graduação até minha formação como mestre, em especial: professor Dr. Eustáquio Resende Bittar, professor Dr. Ian Martin, professor Dr. Endrigo Gabellini Leonel, Andreia Vieira, Flávia Michele da Silva, Guilherme e Lanamara Batista Gomes. Obrigada pelos favores, puxões de orelha e conselhos durante esses anos. Agradeço também a todos meus professores do programa. Muito obrigada a todos vocês pelos ensinamentos e pela amizade.

Agradeço aos alunos de iniciação científica Janayra e Marcus por todo auxílio imprescindível nesse projeto.

À CAPES por fornecer a taxa PROSUP. Obrigada por tornar o meu sonho realidade.

Enfim, o meu muito obrigado a todos que acreditaram em mim e me fizeram crescer de alguma forma. Ninguém vence sozinho, e vocês foram essenciais para essa conquista.

RESUMO

A hemoparasitose causada pela *Babesia canis* é uma importante doença que possui alta casuística na clínica médica veterinária, podendo levar o paciente à óbito. É uma moléstia que ocasiona sinais clínicos semelhantes e inespecíficos a outras enfermidades como erliquiose, rangeliose e anaplasmose, dificultando assim um diagnóstico preciso. Além disso, possui como fator de risco a presença de carrapatos, que também é transmissor de outras enfermidades. Com isso, o presente trabalho objetivou avaliar os critérios clínicos e fatores de risco que levaram os clínicos a suspeitarem da hemoparasitose e correlaciona-los com os perfis hematológico, parasitológico e sorológico dos animais suspeitos de babesiose canina atendidos no Hospital Veterinário de Uberaba (HVU). 77 animais suspeitos de hemoparasitose foram separados em dois grupos: com sinais compatíveis (GCSC n=7) e sem sinais compatíveis (GSSC n=70) e os dados clínicos, epidemiológicos, hematológico, parasitário (P) e sorológico (S) foram obtidos e tabulados. Notou-se que sexo, idade e raça não difeririam entre os grupos e que os sinais clínicos e/ou fatores de risco mais predominantes no GCSC foram presença de carrapatos (100%), esplenomegalia (42,85%), icterícia (14,28%). As alterações hematológicas prevalentes no GCSC foram anemia normocítica normocrômica (57,14%), eosinopenia (71,43%), leucocitose (57,14%) e trombocitopenia (85,71%) enquanto que no GSSC observou-se o eritrograma normal (47,14%), neutrofilia (42,85%), leucopenia (12,85%) e trombocitopenia (55,71%). A positividade parasitológica foi observada apenas no GSSC (4,28%). No exame sorológico detectou-se presença de anticorpos anti-*Babesia* em 71,43% e 77,15% dos animais do GCSC e GSSC, respectivamente. Após a separação dos subgrupos S1(P-S-), S2 (P+S+), S3 (P-S+) e S4 (P+S-) pode-se notar que no GCSC, houve predomínio da anemia normocítica normocrômica nos animais do S1 (100% - 2/2) e no S3 (40% - 3/5), e no GSSC a normalidade eritrocitária foi a mais prevalente no S1 (68,75% - 11/16) e S3 (39,21% - 20/51). Nas alterações leucocitárias, observou-se desvio à esquerda regenerativo em 50% (1/2) dos cães do GCSC no S1 e 60% (3/5) no S3 e no GSSC, em 43,75% (7/16) dos animais do S1. A normalidade leucocitária predominou nos subgrupos S2 e S3 do GSSC. Trombocitopenia foi observada em 100% dos cães do GCSC pertencentes ao S1 e 80% (4/5) do S3, e no GSSC em 50% (8/16) no S1, 66,67% (2/3) no S2 e 56,86% (29/51) no S3. Com os resultados obtidos concluiu-se que para diagnóstico da babesiose canina, é necessário não apenas avaliar os achados clínicos e hematológicos dos animais, como também realizar exames laboratoriais específicos, a fim de instituir um tratamento adequado ao paciente.

Palavras-chaves: *Babesia canis*, doença, diagnóstico

ABSTRACT

Haemoparasitosis caused by *Babesia canis* is an important disease that has a high number of cases in the veterinary medical clinic and can lead the patient to death. It is a disease that causes similar and nonspecific clinical signs to other diseases such as erlichiosis, rangeliiosis and anaplasmosis, thus hindering an accurate diagnosis. In addition, its risk factor is the presence of ticks, which are also transmitters of other diseases. Thus, the present study aimed to evaluate the clinical criteria and risk factors that led clinicians to suspect hemoparasitosis and to correlate them with the hematological, parasitological (P) and serological profiles (S) of animals suspected of canine babesiosis seen at the Veterinary Hospital of Uberaba (HVU). 77 animals suspected of hemoparasitosis were separated into two groups: with compatible signals (GCSC n=7) and without compatible signals (GSSC n=70) and clinical, epidemiological, hemoatological, parasitic and serological data were obtained and tabulated. It was noted that gender, age and race would not differ between groups and that the most prevalent clinical signs and / or risk factors in the GCSC were ticks (100%), splenomegaly (42,85%), jaundice (14,28%). The hematological changes prevalent in the GCSC were normocytic normochromic anaemia (57,14%), eosinopenia (71,43%), leukocytosis (57,14%) and thrombocytopenia (85,71%) and in GSSC normal erythrogram (47,14%), neutrophilia (42,85 %), leucopenia (12,85%) and thrombocytopenia (55,71%). Blood smear was performed which was positive only in GSSC (4,28%). Serological examination revealed anti-*Babesia* antibodies in 71,43% e 77,15% of GCSC and GSSC animals, respectively. After the separation of the subgroups S1 (P-S-), S2 (P + S +), S3 (P-S +) and S4 (P + S-), it can be noted that in GCSC, there was a predominance of normochromic normocytic anaemia in S1 animals (100% -2/2) and S3 (40% 3/5), and in GSSC erythrocyte normality was the most prevalent in S1 (68.75% - 11/16) and S3 (39,21% - 20/51). In leukocyte alterations, neutrophilia leukocytosis was observed with the presence of left deviation regenerative in 50% (1/2) of GCSC dogs in S1 and 60% (3/5) in S3, and GSSC in 43,75 % (7/16) of S1 animals. Leukocyte normality predominated in GSSC subgroups S2 and S3. Thrombocytopenia was observed in 100% of GCSC dogs belonging to S1 and 80% (4/5) of S3, and in GSSC in 50% (8/16) in S1, 66,67% (2/3) in S2 and 56,86% (29/51) in S3. With the obtained results it was concluded that for diagnosis of canine babesiosis, it is necessary not only to evaluate the clinical and haematological findings of the animals, but also to perform specific laboratory exams, in order to establish an appropriate treatment to the patient.

Key-words: *Babesia canis*, disease, diagnosis

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1:** Fotomicrografia de esfregaço sanguíneo de ponta de orelha de cão. A) Inclusão de um par de merozoíto de *B. canis* em hemácia. B) Hemácias contendo quatro e duas inclusões de merozoítos de *B. canis*. (Fonte: Arquivo Pessoal)..... 15
- Figura 2:** Perfil clínico dos animais pertencentes aos grupos com sinais clínicos compatíveis (GCSC) e sem sinais compatíveis (GSSC) atendidos no Hospital Veterinário de Uberaba. 28
- Figura 3:** Perfil dos animais com suspeita de hemoparasitose canina pertencentes aos grupos com sinais clínicos compatíveis (GCSC) e sem sinais compatíveis (GSSC) em relação às alterações eritrocitárias (A), e plaquetárias (B) atendidos no Hospital Veterinário de Uberaba. Teste utilizado: Teste de Fisher com significância de 5% ($p < 0,05$)..... 31
- Figura 4:** Perfil parasitológico e sorológico dos animais pertencentes aos grupos com sinais clínicos compatíveis (GCSC) e sem sinais compatíveis (GSSC) com suspeita de hemoparasitose canina atendidos no Hospital Veterinário de Uberaba. Teste utilizado: Teste de Fisher com significância de 5% ($p < 0,05$). 33

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Atuais espécies de Babesia identificadas em cães em relação à sua morfologia, vetores e distribuição geográfica (adaptado de PETRA et al., 2018).....	18
Tabela 2: Perfil dos animais pertencentes aos grupos com sinais clínicos compatíveis (GCSC) e sem sinais compatíveis (GSSC) em relação aos fatores de risco atendidos no Hospital Veterinário de Uberaba.	29
Tabela 3: Perfil epidemiológico (sexo, idade e raça) dos animais pertencentes aos grupos com sinais clínicos compatíveis (GCSC) e sem sinais compatíveis (GSSC) atendidos no Hospital Veterinário de Uberaba.	30
Tabela 4: Alterações leucocitárias dos animais pertencentes aos grupos com sinais clínicos compatíveis (GCSC) e sem sinais compatíveis (GSSC) atendidos no Hospital Veterinário de Uberaba.	32
Tabela 5: Perfil de positividade ou negatividade dos animais dos grupos GCSC e GSSC em relação aos exames parasitológicos e sorológicos, atendidos no Hospital Veterinário de Uberaba.....	33
Tabela 6: Perfil dos cães pertencentes aos grupos com sinais clínicos compatíveis (GCSC) e sem sinais compatíveis (GSSC) no subgrupo 1 (S1), subgrupo 2 (S2) e subgrupo 3 (S3) em relação aos sinais clínicos e fatores de risco atendidos no Hospital Veterinário de Uberaba.	33
Tabela 7: Perfil dos animais pertencentes aos grupos com sinais clínicos compatíveis (GCSC) e sem sinais compatíveis (GSSC) no subgrupo 1 (S1), subgrupo 2 (S2) e subgrupo 3 (S3) em relação às alterações eritrocitárias atendidos no Hospital Veterinário de Uberaba.	34
Tabela 8: Perfil dos animais pertencentes aos grupos com sinais clínicos compatíveis (GCSC) e sem sinais compatíveis (GSSC) no subgrupo 1 (S1), subgrupo 2 (S2) e subgrupo 3 (S3) em relação às alterações leucocitárias atendidos no Hospital Veterinário de Uberaba.....	35
Tabela 9: Perfil dos animais pertencentes aos grupos com sinais clínicos compatíveis (GCSC) e sem sinais compatíveis (GSSC) no subgrupo 1 (S1), subgrupo 2 (S2) e subgrupo 3 (S3) em relação às alterações plaquetárias atendidos no Hospital Veterinário de Uberaba.....	36

LISTA DE ABREVIATURAS

CID	-	Coagulação intravascular disseminada
DO	-	Densidade Ótica
EDTA	-	Ácido etilenodiaminotetracético di sódico
ELISA	-	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
GCSC	-	Grupo com sinais compatíveis
GSSC	-	Grupo sem sinais compatíveis
HVU	-	Hospital Veterinário de Uberaba
IC	-	Índice de corte
MG	-	Minas Gerais
OIE	-	Organização mundial da saúde
PAAF	-	Punção aspirativa por agulha fina
PCR	-	Reação em cadeia da polimerase
RIFI	-	Reação de Imunofluorescência indireta
RJ	-	Rio de Janeiro
RS	-	Rio Grande do Sul
S1	-	Subgrupo 1
S2	-	Subgrupo 2
S3	-	Subgrupo 3
S4	-	Subgrupo 4

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1 BABESIOSE CANINA: ETIOLOGIA, TRANSMISSÃO E CICLO BIOLÓGICO	14
2.1.1 Epidemiologia	16
2.1.2 Sinais Clínicos	18
2.1.3 Diagnóstico	20
2.1.3.1 Teste Parasitológico.....	21
2.1.3.2 Teste Sorológico	22
2.1.4 Tratamento.....	22
3. OBJETIVOS	24
3.1 OBJETIVO GERAL.....	24
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	24
4. MATERIAL E MÉTODOS	25
4.1 LOCAL DO EXPERIMENTO	25
4.2 ANIMAIS EXPERIMENTAIS E OBTENÇÃO DE DADOS CLÍNICOS E EPIDEMIOLÓGICOS:.....	25
4.3 AVALIAÇÃO HEMATOLÓGICA	25
4.4 PESQUISA PARASITOLÓGICA E SOROLÓGICA	26
4.4.1 Avaliação parasitológica Babesia	26
4.4.2 Avaliação sorológica Babesia.....	26
4.4.3 Correlação entre exames parasitológico e sorológico.....	27
4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA:	27
5. RESULTADOS	28
6. DISCUSSÃO	38
7. CONCLUSÕES	44
REFERÊNCIAS	45
ANEXO A - OFÍCIO DE APROVAÇÃO COMITÊ DE ÉTICA E EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (UNIUBE).....	55

1. INTRODUÇÃO

As hemoparasitoses possuem distribuição mundial sendo considerado um desafio para médicos veterinários devido sua frequência, morbidade e potencial zoonótico (CARDOSO et al., 2012; WITTER et al., 2013; MACHADO et al., 2018). A babesiose canina é umas das principais hemoparasitoses, causada por protozoários intracelulares do gênero *Babesia* spp., filo Apicomplexa, classe Sarcodina, ordem Piroplasmida, família Babesiidae e é transmitida pelo carrapato *Rhipicephalus sanguineus* (BRAGA; SILVA, 2013; ARAUJO et al., 2015; PEREIRA et al., 2018; ANDRADE et al., 2019). Essa enfermidade é responsável por gerar manifestações clínicas no cão infectado, podendo levar o animal à óbito. Além disso, possui alta casuísta na rotina médico-veterinária e representa um problema na saúde pública devido ao seu elevado potencial zoonótico (COSTA, 2011; VALENTE, 2014).

No Brasil, a babesiose canina é predominantemente ocasionada pela *Babesia canis vogeli*, e sua prevalência varia de 18,8 % a 73, 3 % de acordo com população estudada, região e teste laboratorial preconizado (TABOADA, 1998; ARAUJO et al., 2015; GOTTLIEB et al., 2016). Quando avaliada no exame parasitológico, a prevalência da infecção varia entre 1,9% a 42% (DANTAS-TORRES, 2008). A doença é descrita no Sudeste, Centro-Oeste, Norte, Sul e Nordeste do Brasil, sendo que nessa última região, a prevalência do patógeno é escassa, necessitando de maiores estudos em suas cidades (LEMOS et al., 2012; ARAUJO et al., 2015; COSTA et al., 2015; MELO et al., 2015; MALHEIROS et al., 2015; CARDINOT et al., 2016; MORAES et al., 2016).

A sintomatologia e as alterações hematológicas das hemoparasitoses são inespecíficas e semelhantes, dificultando um diagnóstico preciso (RODRIGUES, 2017). Esplenomegalia, linfadenopatia, icterícia, febre, mucosas pálidas e hemorragia, são algumas manifestações clínicas que os animais com babesiose canina podem apresentar dependendo da evolução da doença: aguda, subclínica ou crônica (BIRKENHEUER et al., 2012; NALUBAMBA et al., 2015; SILVA, 2017; BANETH, 2018). Nas alterações laboratoriais, observa-se anemia, trombocitopenia, anisocitose, policromasia, sendo a anemia normocítica normocrômica mais comum em infecções por *Babesia spp* (VILELA et al., 2013). Os parâmetros leucocitários são variáveis, podendo ocorrer uma leucocitose ou leucopenia (EICHENBERGER et al., 2016). A presença de uma dessas alterações no paciente, leva ao veterinário a suspeitar da babesiose canina, se esquecendo ou não dando importância para a individualidade de cada animal e outros aspectos relacionados à doença. A presença de carrapatos é considerada um fator relevante para

suspeita clínica da babesiose canina, uma vez que esse ectoparasita é transmissor da doença (DOS SANTOS et al., 2018). Porém, muitas das vezes, o veterinário suspeita da doença apenas com a presença desse artrópode, não observando outras condições clínicas do animal.

Com isso, vê-se a necessidade de o médico veterinário realizar um diagnóstico mais preciso, não recorrendo apenas à observação de sinais clínicos, alterações hematológicas e /ou fatores de risco para suspeitar de uma infecção por *Babesia* spp (BRAGA; SILVA, 2013; BREDA et al., 2018).

Para um diagnóstico definitivo testes parasitológicos são rotineiramente utilizados, assim como métodos sorológicos que são frequentemente empregados para detecção de anticorpos anti-*Babesia*, e ainda há técnicas moleculares, como a PCR, que irá detectar presença de DNA do hemoprotozoário. Contudo, esses exames são limitados uma vez que o parasitológico e sorológico possui baixa sensibilidade e baixa especificidade respectivamente, além de que todos os testes podem resultar falso negativos ou falso positivos (BOLLELA; SATO; FONSECA, 1999; VALENTE, 2014; OLIVEIRA, 2015; GOTTLIEB et al., 2016).

Devido à importância da hemoparasitose na clínica veterinária, objetivou-se nesse trabalho avaliar os critérios clínicos e fatores de risco que levaram os clínicos a suspeitarem da doença e correlaciona-los com os perfis hematológico, parasitológico e sorológico dos animais suspeitos de hemoparasitose (babesiose canina) atendidos no Hospital Veterinário de Uberaba.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 BABESIOSE CANINA: ETIOLOGIA, TRANSMISSÃO E CICLO BIOLÓGICO

A babesiose é uma doença hemolítica desenvolvida a partir de infecção de hemácias por hematozoários transmitidos por carrapatos, causando anemia (BRANDÃO; HAGIWARA, 2002). O gênero do hematozoário causador dessa doença é *Babesia*, filo Apicomplexa, classe Sarcodina, ordem Piroplasmida, família Babesiidae (BRAGA; SILVA, 2013).

A *Babesia* foi dividida em duas espécies de acordo com sua identificação morfológica: *Babesia canis*, descrita pela primeira vez na Itália por Piana e Galli-Valerio em 1985, e *Babesia gibsoni* descrita em 1910 por Patton na Índia (MONTEIRO, 2011; SALEM; FARAG, 2014; GALVÁN et al., 2018). Com o avanço da biologia molecular, pesquisadores identificaram outras espécies de *Babesia* como *B. conradae* e *B. microti-like* que também são piroplasmas capazes de infectar o cão. Porém há controvérsias sobre o piroplasma *B. microti-like*, que foi identificada em um cão na Espanha e gera dúvidas a respeito do seu gênero (PETRA et al., 2018; MEGID; RIBEIRO; PAES, 2018).

Com base na especificidade do vetor, propriedades antigênicas e critérios filogenéticos, a *Babesia canis* foi dividida em três subespécies: *B. canis canis*, *B. canis vogeli*, *B. canis rossi* (DUARTE et al., 2008). A *B. canis rossi* é considerada a espécie mais patogênica, e é transmitida pelo carrapato *Haemaphysalis leachi*, sendo mais comum no África do Sul e Sudão; *B. canis vogeli* é a menos patogênica, transmitida pelo *Rhipicephalus sanguineus*, também conhecido como carrapato marrom, sendo encontrada na América do Norte, América do Sul, África, Europa, Austrália; *B. canis canis* possui patogenicidade moderada e é transmitida pelo carrapato *Dermacentor reticulatis* e é endêmica na Europa (NELSON; COUTO, 2001; NODEN; SONI, 2015). No Brasil, a babesiose canina é causada principalmente pela *B. canis vogeli*, com relatos da *Babesia gibsoni* no sul do país (SILVA et al., 2012).

Em relação à morfologia, o formato piriforme da *Babesia* permitiu que esse parasita recebesse o nome de “piroplasma” (PETRA et al., 2018). A *Babesia canis* possui formato irregular, arredondado e em pêra, sendo considerada grande *Babesia* pelo seu tamanho aproximado de 2,4 µm x 5,0 µm. O parasito se apresenta aos pares nas hemácias, porém também são encontrados quatro, oito ou mais deles numa única célula. A *Babesia gibsoni* tem pequeno tamanho, em torno de 1,0 µm x 3,2 µm, com formato que vai desde redondo a oval, ocupando menos da metade do raio da hemácia. Essa espécie é comumente encontrada individualmente

nas hemácias, porém é possível mais de um parasito na célula (DUARTE et al., 2008; ANTÔNIO; OLIVEIRA; ZAPPA, 2009; MONTEIRO, 2011).

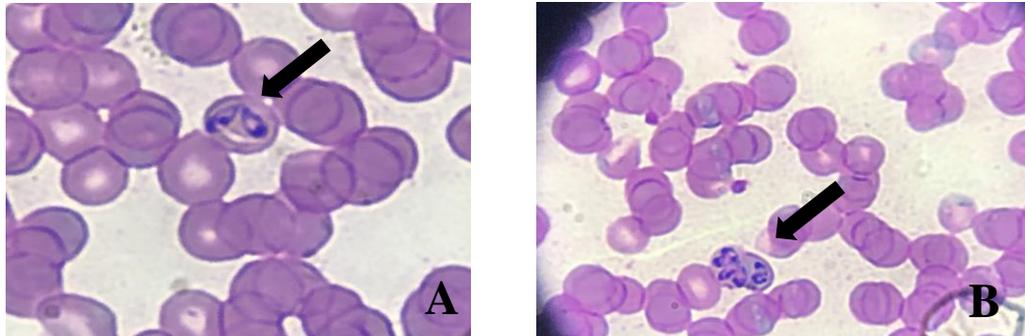


Figura 1: Fotomicrografia de esfregaço sanguíneo de ponta de orelha de cão. A) Inclusão de um par de merozoíto de *B. canis* em hemácia. B) Hemácias contendo quatro e duas inclusões de merozoítos de *B. canis*. (Fonte: Arquivo Pessoal).

O principal vetor transmissor da babesiose canina no Brasil é o carrapato *Rhipicephalus sanguineus*, uma vez que ele exerce a hematofagia (AGUIAR et al., 2013). O ixodídeo predomina o ano todo em regiões tropicais e subtropicais, e está adaptado para viver em ambientes úmidos e secos. O carrapato pode se desenvolver em locais com temperatura de 20°C a 35°C, tendo uma ovipostura, eclosão dos ovos e muda larval e ninfal bem sucedidas. Assim, em condições climáticas favoráveis, o vetor pode completar até três ou quatro gerações por ano (DANTA-TORRES, 2009; DANTA-TORRES, 2010). Apesar de ainda não estar totalmente esclarecido, o aquecimento global pode ter impacto indireto na população de *R. sanguineus*, colaborando para uma maior abundância de carrapatos, e conseqüentemente aumentando a transmissão de patógenos, como por exemplo, a *Babesia canis vogeli* (DANTA-TORRES, 2010; AGUIAR et al., 2013).

A transmissão da doença ocorre no carrapato de forma transestadial (horizontal) e transovariana (vertical). Na primeira forma, os ixodídeos adquirem o patógeno quando larva ou ninfa, e o transmitem para estágio seguinte. Na transmissão transovariana, a fêmea infectada transmite *Babesia* spp para seus descendentes, e as larvas já eclodem infectadas (VASCONCELOS, 2010).

No Brasil, ainda verificou-se a transmissão transplacentária e transfusão sanguínea de animais enfermos com babesiose canina (CORRÊA et al., 2005; ANTÔNIO; OLIVEIRA; ZAPPA, 2009). Os carrapatos adultos, tanto macho quanto fêmea, apresentam maior quantidade de esporozoítos na saliva e por isso são considerados os principais estádios transmissores da *Babesia* spp (RISTIC, 1988).

Com o repasto sanguíneo, o parasito que se encontra nas glândulas salivares do carrapato, atinge a corrente sanguínea do cão e infecta os eritrócitos, formando os trofozoítos. Este, após reprodução assexuada, origina merozoítos que podem lisar as hemácias invadindo novas células, ou permanecem dentro delas, evoluindo para gamontes (SEIXAS et al., 2011; SOLANO-GALLEGO; BANETH, 2011; SCHNITTGER et al., 2012; DWI et al., 2018). Ao se alimentar de sangue infectado (gamontes), a maturação sexual continua no interior do ixodídeo (SOLANO-GALLEGO; BANETH, 2011; SCHNITTGER et al., 2012).

Os zigotos são formados com a fusão dos gametas masculinos e femininos, e se transformam em cinetos móveis, que atravessam a parede do intestino do carrapato, caindo na cavidade geral transformando-se em esporocinetos por esporogonia, infectando diversos órgãos do artrópode, como ovários e glândulas salivares (SOUSA, 2012). Os esporocinetos na glândula salivar originam esporozoítas infectantes que serão transmitidos por repasto sanguíneo, e os esporocinetos presentes no ovário, atingem os ovos infetando as larvas que nascem contaminadas (VASCONCELOS, 2010; SOUSA, 2012).

É importante salientar que é necessário que o carrapato se mantenha em repasto por no mínimo três dias para que ocorra a transmissão da doença, e a parasitemia é desenvolvida em média dois dias após a entrada do protozoário no organismo do animal e tem duração em média de quinze dias (PINTO, 2009).

2.1.1 Epidemiologia

A distribuição geográfica da enfermidade depende da necessidade climática do seu vetor, ocorrendo no Brasil em áreas tropicais e subtropicais com infestação em todas as estações do ano (ASSIS et al., 2005; BRAGA; SILVA, 2013; GUTIÉRREZ et al., 2015). Para Braga e Silva (2013), a enfermidade possui caráter endêmico em todo Brasil, e prevalência crescente em determinadas regiões. Segundo Gottlieb et al. (2016), a soroprevalência de *Babesia canis vogeli*, no Brasil, varia de 18,8 a 73,3%. Estudos demonstraram a presença da babesiose canina em diversas regiões brasileiras. Em Belo Horizonte, 66,9% dos 127 cães avaliados apresentaram anticorpos anti-*Babesia*. Em São Paulo e Rio de Janeiro, encontrou-se respectivamente 42,4% e 41,1% de cães positivos. Também em Londrina, Paraná, 37,7 % dos animais avaliados foram positivos para babesiose canina (ANDRADE, 2007; GUIMARÃES et al., 2009). Porém, segundo Araujo et al (2015), na região nordeste a prevalência do patógeno é escassa, sendo necessário maiores estudos principalmente em cidades pequenas e médias da região semi-árida.

Na Europa, a *Babesia canis* transmitida pelo *Dermacentor* spp., é predominante principalmente na região central. Já na Bacia do Mediterrâneo, prevalece a *Babesia vogeli*, enquanto a *Babesia gibsoni* só é encontrada na Europa quando cães de áreas endêmicas são importados (CHECA et al., 2019). Em Portugal, 23,3% dos 60 cães avaliados em um estudo tiveram anticorpos anti-*Babesia* spp (DUARTE, 2016). Segundo Duh et al (2004), na Eslovênia encontrou-se no exame molecular (PCR) de cães, positividade de 4,6% e 1,3% para *Babesia canis* e *Babesia vogeli* respectivamente.

Na América Latina, a *Babesia vogeli* se sobressai na maioria do país segundo Maggi e Krämer (2019). De acordo com os autores, na Argentina o parasito foi detectado em 10% de cães em Córdoba e 6,8% em Santa Fé. Na Colômbia, a soroprevalência foi de 4,8% em Bogotá e 58% em Villavicencio. Na Venezuela, positividade de 2,2% de *B. vogeli* em testes moleculares realizados em cães. Maggi e Krämer (2019) também citam uma prevalência molecular de 5% para *Babesia gibsoni* em cães da Costa Rica. Em Nicarágua, de 10 cães positivos para *Babesia* spp., os autores apontam 6 infectados com *B. vogeli* e 4 com *B. gibsoni*.

De acordo com Jongejan et al. (2018), a *Babesia gibsoni* é considerada endêmica na Ásia. Na China Oriental, um estudo detectou soroprevalência de 3,47% de *B. gibsoni* em cães domésticos (ZHANG et al., 2017). No trabalho realizado por Bilwal et al. (2017), 16 dos 79 esfregaços sanguíneos indicaram positividade também para *B. gibsoni*. Jikuya et al. (2017) cita um estudo molecular no Japão que aponta positividade em 2,4% dos cães domésticos para *Babesia gibsoni*, demonstrando mais uma vez a prevalência do parasito no continente asiático.

Na África do Sul, Sudão, Uganda e Nigéria, áreas consideradas endêmicas, a *Babesia* mais virulenta é a *Babesia rossi*, transmitida pelo carrapato *Haemaphysalis leachi* (DUARTE et al., 2008; CARDOSO et al., 2016). Segundo Troskie et al. (2019), *B. vogeli* também pode ser encontrada no Sul da África. No Hospital Acadêmico Veterinário Onderstepoort, 1,4% de 350 pacientes atendidos foram atribuídos a *B. vogeli*, enquanto que 98,6% do restante foram positivos para *B. Rossi* (PENZHORN et al., 2016).

As espécies de *Babesia* atualmente identificada em cães, com seus vetores e distribuição geográfica estão descritas na tabela 1.

Tabela 1: Atuais espécies de *Babesia* identificadas em cães em relação à sua morfologia, vetores e distribuição geográfica (adaptado de *PETRA et al., 2018*).

Morfologia	Espécies	Vetor	Distribuição geográfica
Grande (2,4 µm x 5,0 µm)	<i>Babesia canis</i>	<i>Dermacentor reticulatus</i>	Europa
	<i>Babesia vogeli</i>	<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	Global (Europa, Ásia, África, Austrália, América)
	<i>Babesia rossi</i>	<i>Haemaphysalis</i> spp.	Sul e Leste África
Pequena (1,0 µm x 3,2 µm)	<i>Babesia gibsoni</i>	<i>Haemaphysalis longicornis</i> / <i>Haemaphysalis bispinosa</i>	Global (Ásia, África, Austrália, América, Europa)
	<i>Babesia conradae</i>	<i>Rhipicephalus sanguineus</i> (suposição)	América (EUA ocidental)
	<i>Babesia microti-like</i> sp.	<i>Ixodes</i> spp. (suposição)	Europa (Espanha, Portugal)

Em relação ao sexo e idade, a babesiose alcança tanto fêmeas quanto machos, e animais jovens são mais susceptíveis à doença, porém a enfermidade atinge animais de todas as idades (SILVA et al., 2012; BRAGA; SILVA, 2013). Não há predisposição racial para a babesiose canina, entretanto Megid, Ribeiro e Paes (2018) relataram uma hipótese de que cães de briga, como Pit Bull e animais esplenectomizados apresentam maior chance de estarem infectados por *Babesia* spp.

Veneziano et al. (2018) citaram que cães de caça podem ser mais propensos a adquirir babesiose canina, uma vez que têm um contato mais próximo a áreas arborizadas e rurais as quais o vetor pode estar presente. A grande incidência da doença nos cães, em território brasileiro, é confrontada com os poucos estudos referente a esta enfermidade, logo, os impactos de ocorrência da mesma são sempre negativos, tanto pelo aspecto afetivo dos tutores de cães, quanto pelo aspecto financeiro dos comercializadores desses animais (MILKEN et al., 2008).

2.1.2 Sinais Clínicos

As manifestações clínicas provocadas pela babesiose variam de acordo com as espécies existentes, virulência das cepas, além de estado imunológico individual, presença de outras

doenças e idade. Esses fatores determinarão a resposta do hospedeiro frente à infecção (BANETH, 2018).

A patogenia está relacionada à hemólise intra e extravascular causada pela ação mecânica da multiplicação do parasito dentro do eritrócito, e pela ação de anticorpos e ativação do sistema complemento (FERREIRA, 2018; MEGID; RIBEIRO; PAES, 2018). A liberação de mediadores inflamatórios gera vasodilatação, hipotensão e estase sanguínea, levando a uma acidose metabólica, agravando o processo (BRAGA e SILVA, 2013; GUTIÉRREZ et al., 2015). A lise de hemácias também libera hemoglobina na circulação, com hemoglobinemia relacionada com hemoglobinúria e bilirrubinemia (COSTA, 2014). Há uma sobrecarga hepática ocasionada pelo aumento da fração indireta de bilirrubina, que acarreta em icterícia, congestão esplênica e hepática, gerando uma hepatoesplenomegalia. O estado febril se explica pela liberação de substâncias pirógenas consequentes do rompimento da hemácia (FIGUEIREDO, 2011). A icterícia nem sempre é presente, tendo causas de morte com a evolução da doença que pode levar até um mês para convalescência (ANTÔNIO; OLIVEIRA; ZAPPA, 2009).

O período de incubação varia entre 4 e 20 dias, e o prognóstico é reservado a desfavorável (HOMER et al., 2000; CORDERO; ROJO, 2004).

Os sintomas encontrados nessa enfermidade em cães são hipertermia, anemia, palidez de mucosas, icterícia, vômito, esplenomegalia e hepatomegalia (SOUSA et al., 2013; PEREIRA et al., 2018). Souza et al. (2016) acrescentaram outros sintomas, como quadro agudo de anorexia, apatia, diarreia e pneumonia. Em algumas situações, os animais podem apresentar distúrbios neurológicos com extrema apatia e agressividade, e ainda paralisia, desequilíbrio e ataxia. Quando há transmissão placentária os filhotes recém-nascidos apresentam anorexia, apatia e acentuada icterícia, indo à óbito 12 horas após o nascimento (ANTÔNIO; OLIVEIRA; ZAPPA, 2009).

Caeiros (2012) descreve dois tipos de infecções, as agudas e hiperagudas. De acordo com o autor, a hiperaguda é rara e possui uma alta taxa de mortalidade, com sinais severos e uma extensa lesão tecidual. Já a doença aguda, se caracteriza por letargia, febre, anemia hemolítica, linfadenomegalia, entre outros.

Alguns animais podem combater uma infecção aguda, e ainda assim serem portadores do agente infeccioso, estando na forma crônica (subclínica) da doença. Quando submetidos a quadros de estresse, imunossupressão ou alguma doença secundária, esses animais apresentam reagudização da enfermidade, apresentando fraqueza, anemia, prostração e apatia (COSTA, 2014).

Os achados hematológicos são variados, sendo a anemia normocítica normocrômica, anisocitose, policromasia achados comum na babesiose canina. O leucograma é inconsistente, podendo ser encontrados diversas alterações na série branca como leucopenia, leucocitose, neutrofilia, eosinofilia, entre outros. Os resultados dependem da manifestação clínica e fase da doença. A hemólise intra e extravascular são responsáveis pela anemia regenerativa, e a trombocitopenia pode ser causada por inúmeros fatores, como diminuição na produção de plaquetas e aumento de sequestro e agregação da mesma (VASCONCELOS, 2010; COSTA, 2011; VILELA et al., 2013; EICHENBERGER et al., 2016; GOTTLIEB et al., 2016).

Nos achados patológicos encontra-se hepato-esplenogemalia, o qual a necropsia revela baço cinco vezes maior que o normal, fígado de coloração amarelo-pardo, edema e hemorragias consequentes da injúria vascular, microtrombos, bexiga urinária com conteúdo de sangue, entre outros (PACHECO et al., 2009; BRAGA; SILVA, 2013).

2.1.3 Diagnóstico

O diagnóstico das hemoparasitoses é considerado um obstáculo para o médico veterinário, uma vez que doenças como babesiose, rangelióse e erliquiose acarretam sinais clínicos e hematológicos semelhantes (OLIVEIRA et al., 2018; LEAL et al., 2015; GOTTLIEB et al., 2016). Além disso, podem ocorrer coinfeções entre esses agentes, uma vez que hemoparasitas podem apresentar vetores comum, como o carrapato *Rhipicephalus sanguineus*, o que requer um diagnóstico preciso para que seja instituído um tratamento adequado ao paciente (HORNOK, 2012; DE TOMMASI et al., 2014; OLIVEIRA, 2015).

A investigação diagnóstica da babesiose canina vem ganhando destaque nas pesquisas veterinárias, pois o aumento da população canina impulsionou uma maior distribuição dessa enfermidade (MILKEN et al., 2008). O diagnóstico presuntivo dessa doença é embasado em critérios clínicos, epidemiológicos, alterações hematológicas e as vezes na resposta ao tratamento estabelecido. Porém, pelo fato desses critérios serem semelhantes à outra hemoparasitoses, é de suma importância realizar técnicas laboratoriais como exame parasitológico, sorológico e molecular para estabelecer um diagnóstico definitivo (VALENTE, 2014; SOARES, 2015).

O método direto, também chamado de parasitológico, é um teste convencionalmente utilizado no diagnóstico de hemoparasitoses, e é baseado nas características morfométricas para cada espécie de parasita, no qual se observa o parasito no interior das hemácias através do

esfregação sanguíneo (KJEMTRUP et al., 2006; SOARES, 2015). Já os métodos indiretos, ou exames sorológicos, detectam presença de anticorpos anti-*babesia*, sendo o teste de ELISA e Reação de Imunofluorescência Indireta os mais utilizados (FURUTA et al., 2009; ZANETTE et al., 2014). Como método molecular, temos a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), que detecta DNA do parasito em amostras de sangue periférico, fragmentos de lesões e medula óssea, permitindo estudos taxonômicos e uma caracterização filogenética (BIRKENHEUER et al., 2004; DAVITKOV et al., 2015; OLIVEIRA, 2015; PEREIRA et al., 2017).

2.1.3 Teste Parasitológico

O diagnóstico parasitológico da babesiose é obtido pela presença do protozoário no interior do eritrócito visualizado pela técnica de esfregação sanguíneo. Para infecção por *B. canis*, nota-se presença de grandes organismos piriformes, geralmente aos pares, enquanto que para *B. gibsoni*, observa-se microrganismos intracelulares singulares e menores (NELSON; COUTO, 2015).

Para esse método, deve-se priorizar o esfregação de ponta de orelha, por este ser mais sensível do que exames feitos com sangue obtido das veias jugular ou cefálica. Deve-se também utilizar a primeira gota de sangue obtida da perfuração do vaso capilar, uma vez que a partir da segunda gota a porcentagem de hemácias parasitadas reduz significativamente (MEGID; RIBEIRO; PAES, 2018).

A visualização de inclusão de piroplasmas no interior de eritrócitos através do esfregação sanguíneo possui limitações, uma vez que não detecta a enfermidade em animais com baixa parasitemia ou em cães com infecção inaparente ou crônica (CANUTO; MATIAS; AQUINO-CORTEZ, 2016; DZIEŃGIEL et al., 2016). Esse método de diagnóstico direto é considerado específico, porém não distingue morfológicamente algumas espécies além da inexistência do parasito não descartar a presença da infecção (SILVA et al., 2014; COTA et al., 2018;).

Silva et al. (2016) avaliaram amostras de 146 cães com suspeita de babesiose canina, e detectaram positividade para *B. canis vogeli* em apenas dois animais testados. Dos Santos et al. (2018) também relatara em seu estudo, que das 538 amostras sanguíneas testadas para hemoparasitoses, apenas nove foram positivas no exame parasitológico para babesiose canina.

Segundo Parpinelli et al. (2017), um estudo comparativo determinou positividade de 37,2% em amostras testadas em PCR para babesiose, enquanto que as mesmas amostras testadas no parasitológico demonstraram apenas 13,5%.

Frente às limitações do teste parasitológico, é necessário que o médico veterinário analise o paciente e solicite outros testes de diagnóstico como o sorológico e/ou o molecular.

2.1.4 Teste Sorológico

O Ensaio Imunoenzimático (ELISA) e a Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) são testes sorológicos utilizados para diagnosticar hemoparasitoses, entre elas, a babesiose canina (BRAGA; SILVA, 2013). Esses métodos indiretos possuem grande valia, uma vez que os cães não eliminam totalmente o parasito após infecção, podendo também detectar casos com baixa ou parasitemia intermitente e infecções crônicas (PINTO, 2009; PANTCHEV et al., 2015).

Os exames sorológicos possuem baixo custo e alta sensibilidade, porém uma especificidade moderada que se justifica pela incidência de falso positivo ocasionada pela pré exposição ao parasito, reação cruzada com *B. gibsoni*, *Rangelia vitalii* e outros parasitas da ordem apicomplexa, e pela presença de anticorpos colostrais em filhotes de até 5 meses (PINTO, 2009; SOUSA, 2012). Sousa (2012) ainda afirmara que os animais tratados podem permanecer soropositivos por muito tempo, tornando o método sorológico deficiente quando estes pacientes são assintomáticos, não diferenciando uma infecção tardia de uma prévia. Resultados falsos-negativo podem ocorrer em uma infecção recente, visto que para detectar anticorpos anti-*Babesia* são necessários 5 a 10 dias após infecção (VALENTE, 2014).

Estudo realizado por Diakou et al. (2019) avaliou animais com suspeita de hemoparasitoses, o qual 1% foi soropositivo no teste RIFI para detecção de anticorpos anti-*Babesia*, e nenhum cão apresentou positividade no esfregaço sanguíneo. Assim como Valente (2014) que avaliou 93 amostras de cães, e ao utilizar o exame de reação imunofluorescência indireta (RIFI) detectou positividade de 48,4% para *B. canis*, porém apenas 5,1% foram positivas no exame parasitológico.

Braga (2011) encontrou, dos 315 animais avaliados para babesiose canina, 48,6% de positividade no exame sorológico, porém desse total, apenas 6,5% também obtiveram resultado positivo no exame molecular de PCR, evidenciando-se as limitações do teste sorológico.

2.1.5 Tratamento

Os fármacos antiprotozoários, antimicrobianos e a terapia de suporte, são considerados pilares da terapia na babesiose canina (AYOOB et al., 2010). Os medicamentos mais utilizados são o aceturato de diamizeno, utilizado na dose de 3,5mg/kg subcutânea ou intramuscular em dose única, e o dipropionato de imidocarb, dose de 5mg/kg subcutânea ou intramuscular,

repetido um vez após 14 dias, ou dose única de 7,5 mg/kg (CAEIROS, 2012; CRIVELLENTI; BORIN- CRIVELLENTI, 2015).

O mecanismo de ação do fármaco aceturato de diamizeno consiste pela interferência com a glicólise aeróbica e a síntese de DNA do hemoparasito, ocasionando dilatação de membranas de organelas intracelulares e destruição do citoplasma e núcleo (BORIN-CRIVELLENTI; CRIVELLENTI, 2013). Esse medicamento apresenta menor margem de segurança, e pode causar no animal quadros de ataxia, diarreia e salivação (MEGID; RIBEIRO; PAES, 2018). Segundo Flores et al. (2014), seu uso foi proibido nos Estados Unidos da América, porém é comumente utilizado em outros países, especialmente nos países da África.

O dipropionato de imidocarb atua sobre o parasita pela alteração da forma do núcleo e morfologia citoplasmática e é altamente eficaz contra *B. canis*, porém também apresenta efeitos colaterais como depressão, diarreia e secreção ocular intensa que podem aparecer entre dez a doze horas após sua administração, sendo recomendado uma administração prévia de sulfato de atropina (0,04 mg/kg, subcutânea) 15 minutos antes para evitar o aparecimento de tais efeitos (BRANDÃO; HAGIWARA, 2002; BORIN-CRIVELLENTI; CRIVELLENTI, 2013; MEGID; RIBEIRO; PAES, 2018). Pantchev et al (2015) ainda relata que o efeito profilático do dipropionato de imidocarb é variável (entre 2 a 6 semanas) e enfatiza que apesar do fármaco eliminar o parasito, também pode impedir o desenvolvimento da imunidade do animal, deixando-o suscetíveis à reinfeção.

Em casos onde não haja acesso à fármacos anti-*Babesia*, pode-se utilizar clindamicina, doxiciclina ou metronidazole que mostraram certa eficácia no alívio de sinais clínicos, porém são necessários mais estudos para determinar a duração da antibioticoterapia (CAEIROS, 2012; MORENO, 2015).

A fluidoterapia consiste numa terapia de suporte importante na forma complicada da doença, no qual o animal precisa ser hidratado, além de expandir o volume vascular, evitando uma acidose metabólica com a correção dos desequilíbrios eletrolíticos e ácido-básicos, perdidos durante episódios de vômito e diarreia (ETTINGER; FELDMAN, 2004; AYOUB et al., 2010).

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar os critérios clínicos e fatores de risco da doença, que levaram os médicos veterinários a suspeitarem da doença e correlacioná-los com os perfis hematológico, parasitológico e sorológico dos animais suspeitos de hemoparasitose atendidos no Hospital Veterinário de Uberaba.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar dados clínicos, epidemiológicos e hematológicos de animais suspeitos de hemoparasitose (babesiose canina);
- Realizar pesquisa parasitológica de *Babesia canis* em esfregaços sanguíneos de ponta de orelha de animais suspeitos de hemoparasitose;
- Realizar pesquisa de anticorpos anti-*Babesia canis* em animais suspeitos de hemoparasitose.
- Correlacionar os aspectos clínico, epidemiológico, hematológico e os fatores de risco da doença que levaram os clínicos a suspeitar da hemoparasitose.

4. MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo foi aprovado pelo comitê de ética em Experimentação animal da Universidade de Uberaba (protocolo nº 014/20017).

4.1 LOCAL DO EXPERIMENTO

O experimento foi realizado no setor de clínica de pequenos animais e nos laboratórios de Medicina Veterinária Preventiva e Análises Clínicas do Hospital Veterinário de Uberaba.

4.2 ANIMAIS EXPERIMENTAIS E OBTENÇÃO DE DADOS CLÍNICOS E EPIDEMIOLÓGICOS:

Os dados clínicos (sinais clínicos), epidemiológicos (idade, sexo e raça) e fatores de risco (presença de carrapatos e/ou histórico clínico de hemoparasitose; convívio com outros cães; acesso à rua) foram obtidos de 77 cães com suspeita de hemoparasitose, atendidos no Hospital Veterinário de Uberaba (HVU) no período de julho de 2017 a junho de 2018.

Como critério para confirmar a suspeita clínica de hemoparasitose realizada pelo clínico, observou-se se os animais apresentavam três ou mais sinais e/ou fatores de risco compatíveis com as doenças como: hepatoesplenomegalia, linfadenopatia, icterícia, hipertermia, anemia e presença de ectoparasitas (SILVA, 2017; BANETH, 2018).

Após essa análise, os animais foram separados em dois grupos: Com Sinal Compatível (GCSC): animais com três ou mais sinais clínicos e/ou fator de risco e Sem Sinal Compatível (GSSC): animais com menos de três sinais clínicos e/ou fator de risco.

4.3 AVALIAÇÃO HEMATOLÓGICA

Amostras de sangue colhidas por punção venosa em tubos de coleta contendo ácido etilenodiaminotetracético di-sódico (EDTA), foram encaminhadas para o Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Veterinário de Uberaba, para contagem de hemácias, dosagem de hemoglobina, hematócrito, leucócitos totais e plaquetas através de analisador hematológico ABCVet® (ABX Horiba, Japão).

A contagem diferencial foi realizada em esfregaço sanguíneo, corado por Panótico Rápido® (Laborclin, Paraná, Brasil) em microscópio óptico NIKON® (Nikon, Japão) (aumento 1000x).

Após a obtenção dos resultados hematológicos analisou se os dados eram compatíveis ou não com babesiose (anemia normocítica normocrômica com resposta medular) (SOLANO-GALLEGO et al., 2008; SILVA et al., 2018)

4.4 PESQUISA PARASITOLÓGICA E SOROLÓGICA

4.4.1 Avaliação parasitológica *Babesia*

Para avaliação parasitológica, os animais foram contidos de forma adequada, a fim de reduzir o estresse dos mesmos. Posteriormente, realizou-se a tricotomia na ponta da orelha e punção de um vaso sanguíneo com agulha (25 x 0,80 mm) descartável BD® (BD, New Jersey, EUA) para obtenção de amostra de sangue que foi transferida com auxílio de um tubo capilar para uma lâmina para confecção do esfregaço sanguíneo. A lâmina devidamente identificada foi corada por Panótico Rápido® (Laborclin, Paraná, Brasil) e analisada em microscópio óptico NIKON® (Nikon, Japão) (aumento 1000x) para observação de estruturas compatíveis com *Babesia canis* (merozoítos em hemácias) (SEIXAS et al., 2011).

4.4.2 Avaliação sorológica *Babesia*

Para detecção de anticorpos anti-*Babesia canis*, utilizou-se o kit IMUNOTESTE® - BABESIA (ELISA) – CANINO (Imunodot diagnósticos, Jaboticabal, São Paulo) conforme as recomendações do fabricante com modificações.

As amostras de soro provenientes da coleta de sangue em tubos sem anticoagulante dos animais estudados foram diluídas (1:200) em PBS- Tween 20, e 100µL foram adicionados à microplaca sensibilizadas com proteína recombinante de *Babesia canis* bem como 100 µL dos controles positivo e negativo. A placa foi incubada por 1 hora em estufa a 37°C em câmara úmida e após três lavagens com PBS-Tween 20 e secagem, 100 µL/well de anti-IgG de cão diluído em PBS- Tween 20 foram adicionados. Em seguida, repetiu-se o processo de incubação, lavagem e secagem e adicionou-se 100 µL/well de substrato da enzima fosfatase alcalina paranitrofenil fosfato (pNPP) diluído. A placa foi incubada a 30 minutos em temperatura

ambiente protegida da luz, posteriormente adicionou-se 50 $\mu\text{L}/\text{well}$ da solução de parada da reação, e realizou-se a leitura em leitor de microplaca ELISA (Spectra Max Plus[®], Molecular Devices, Canadá) com absorvância a 405 nm.

O índice de corte (IC) foi adquirido pela média da densidade óptica (DO) de dois soros controles negativos multiplicada pelo fator 2,5. As amostras que apresentaram DO igual ou maior ao IC foram consideradas positivas e as que apresentaram DO menor que o IC foram consideradas negativas.

4.4.3 Correlação entre exames parasitológico e sorológico

Com base nos resultados parasitológicos e sorológicos os animais pertencentes aos grupos GCSC e GSSC foram subdivididos: S1: parasitológico negativo e sorológico negativo, S2: parasitológico positivo e sorológico positivo, S3 parasitológico negativo e sorológico positivo e S4: parasitológico positivo e sorológico negativo.

4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA:

A presença de sinais clínicos compatíveis ou não nos grupos indicados em relação aos dados epidemiológicos e/ou perfil parasitológico e sorológico foram tabulados e submetidos à análise estatística pelo Teste de Fisher com nível de significância de 5% ($p < 0,05$). Os dados foram submetidos à análise estatística descritiva, calculando-se a média e o desvio padrão. As análises estatísticas foram realizadas por meio do *software Statistica 8.0* (STATSOFT, TULSA, 2008).

5. RESULTADOS

Dos 77 animais com suspeita de hemoparasitose, 9,09% (7/77) tinham três ou mais sinais clínicos compatíveis com a babesiose e/ou fatores de risco (GCSC). Destes, 71,42% (5/7) apresentaram hipertermia, desidratação 42,85% (3/7), mucosa hipocorada 42,85% (3/7), esplenomegalia 42,85% (3/7), diarreia com sangue 28,57% (2/7) e mucosa ictérica 14,28% (1/7) (Figura 2).

Os animais que apresentavam menos de três sinais clínicos compatíveis foram agrupados no GSSC, e totalizaram 90,91% (70/77). Os sinais observados no GSSC foram: anorexia 45,71% (32/70), apatia 17,14% (12/70) e mucosas hiperêmicas 7,14% (5/70) (Figura 2).

A esplenomegalia foi estatisticamente superior no GCSC em relação ao GSSC ($p < 0,05$).

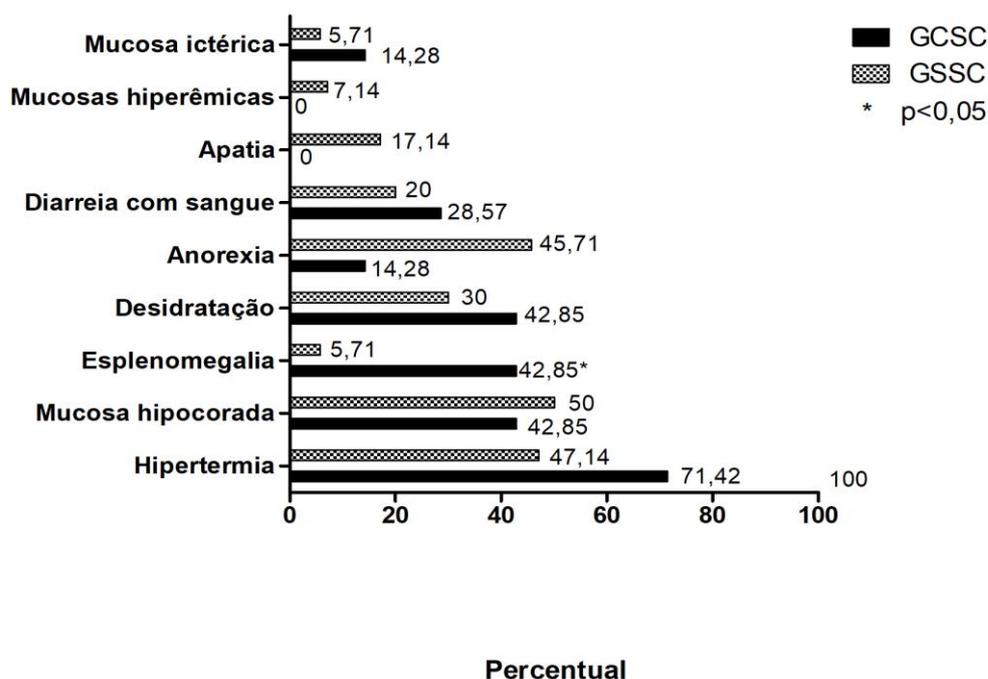


Figura 2: Perfil clínico dos animais pertencentes aos grupos com sinais clínicos compatíveis (GCSC) e sem sinais compatíveis (GSSC) atendidos no Hospital Veterinário de Uberaba. Teste utilizado: Teste de Fisher com significância de 5% ($p < 0,05$).

Em relação aos fatores de risco, avaliou-se acesso à rua e/ou convívio com outros animais e pode-se observar que em ambos os grupos a maioria dos animais não acessava à rua e não convivia com outros cães. Além disso, avaliou-se também a presença de carrapatos e notou-se elevada porcentagem nos dois grupos, sendo que no GSSC 62,86% (44/70) dos cães

apresentavam carrapatos, podendo este ser o motivo pelo qual o médico veterinário suspeitou da enfermidade (Tabela 2).

Tabela 2: Perfil dos animais pertencentes aos grupos com sinais clínicos compatíveis (GCSC) e sem sinais compatíveis (GSSC) em relação aos fatores de risco atendidos no Hospital Veterinário de Uberaba.

Dados epidemiológicos	GCSC		GSSC	
	N	%	N	%
Com acesso à rua	2/7	28,57 ^a	18/70	26,08 ^a
Sem acesso à rua	1/7	14,28 ^a	10/70	14,28 ^a
Não informado	4/7	57,14 ^a	42/70	60 ^a
Com convívio com outros cães	2/7	28,57 ^a	21/70	30 ^a
Sem convívio com outros cães	0/7	0 ^a	11/70	15,71 ^a
Não informado	5/7	71,42 ^a	38/70	54,29 ^a
Presença de carrapatos	7/7	100 ^a	44/70	62,86 ^a

Nota: Letras minúsculas distintas nas colunas indicam diferenças significativas ($P < 0,05$) entre os grupos pelo teste de Fisher.

Em relação ao sexo, no grupo GCSC observou-se um maior percentual para machos enquanto que no GSSC notou-se um maior percentual de fêmeas (Tabela 3). A faixa etária entre 11 a 15 anos prevaleceu com 42,85% no GCSC, enquanto que no GSSC observou-se prevalência com 47,15% de animais com 1 a 5 anos de idade (Tabela 3). Em relação à raça, a raça prevalente foi a raça Poodle nos dois grupos com 42,86% no GCSC e 11,43% no GSSC (Tabela 3).

Tabela 3: Perfil epidemiológico (sexo, idade e raça) dos animais pertencentes aos grupos com sinais clínicos compatíveis (GCSC) e sem sinais compatíveis (GSSC) atendidos no Hospital Veterinário de Uberaba.

Caracterização amostral	GCSC		GSSC	
	N	%	N	%
Sexo				
Fêmea	3	42,85 ^a	40	57,15 ^a
Macho	4	57,15 ^a	30	42,85 ^a
TOTAL	7	100	70	100
Idade (anos)				
1-5	2	28,57 ^a	33	47,15 ^a
6-10	2	28,57 ^a	28	40 ^a
11-15	3	42,86 ^a	9	12,85 ^a
TOTAL	7	100	70	100
Caracterização amostral	GCSC		GSSC	
	N	%	N	%
Raça				
Poodle	3	42,86 ^a	8	11,43 ^a
Pitbull	1	14,28 ^a	2	2,9 ^a
Rotweiller	0	0 ^a	1	1,43 ^a
Pinscher	1	14,28 ^a	4	5,72 ^a
Fox Paulistinha	0	0 ^a	4	5,72 ^a
Fila Brasileiro	0	0 ^a	3	4,29 ^a
Border Collie	0	0 ^a	2	2,85 ^a
Continuação...				
Caracterização amostral	GCSC		GSSC	
	N	%	N	%
Raça				
Boxer	0	0 ^a	2	2,85 ^a
Lhasa Apso	0	0 ^a	2	2,85 ^a
Shih Tzu	0	0 ^a	2	2,85 ^a
Yorkshire	0	0 ^a	2	2,86 ^a
Chow Chow	0	0 ^a	1	1,42 ^a
Labrador	0	0 ^a	1	1,42 ^a
Maltês	0	0 ^a	1	1,42 ^a
Pastor Belga	0	0 ^a	1	1,42 ^a
Pug	0	0 ^a	1	1,42 ^a
Sem raça definida	2	28,58 ^a	33	47,15 ^a
TOTAL	7	100	70	100

Nota: Letras minúsculas distintas nas colunas indicam diferenças significativas ($P < 0,05$) entre os grupos pelo teste de Fisher com nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

Em relação ao perfil hematológico, observou-se que a maioria dos animais do GCSC apresentava anemia normocítica normocrômica (57,14% - 4/7) (Figura 3A), desvio à esquerda regenerativo (DER) 57,14% (4/7) (Tabela 4) e trombocitopenia 85,72% (6/7) (Figura 3B) enquanto que no GSSC a maioria não apresentava alterações eritrocitárias (47,14% - 33/70)

(Figura 3A) e plaquetária (38,58% - 27/70) (Figura 3B), mas linfopenia foi a alteração leucocitária mais prevalente (27,14% - 19/70) (Tabela 4). A intensa leucopenia encontrada em alguns animais, impossibilitou a contagem leucocitária. Em relação à resposta medular eritrocitária, foi observado presença dessa alteração em 57,14% (4/7) dos animais no GCSC, e em 34,28% (24/70) dos cães avaliados do GSSC. Em todos parâmetros avaliados não se observou diferença significativa ($p < 0,05$) entre os grupos estudados.

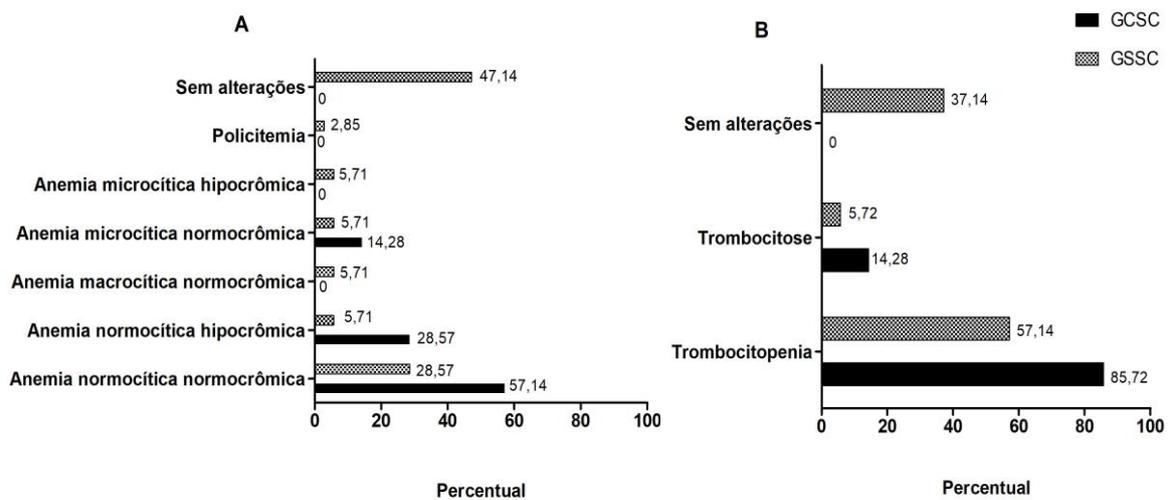


Figura 3: Perfil dos animais com suspeita de hemoparasitose canina pertencentes aos grupos com sinais clínicos compatíveis (GCSC) e sem sinais compatíveis (GSSC) em relação às alterações eritrocitárias (A), e plaquetárias (B) atendidos no Hospital Veterinário de Uberaba. Teste utilizado: Teste de Fisher com significância de 5% ($p < 0,05$).

Tabela 4: Alterações leucocitárias dos animais pertencentes aos grupos com sinais clínicos compatíveis (GCSC) e sem sinais compatíveis (GSSC) atendidos no Hospital Veterinário de Uberaba.

Alterações leucocitárias	GCSC		GSSC	
	N	%	N	%
Leucocitose	4/7	57,14 ^a	27/70	38,57 ^a
Leucopenia	1/7	14,28 ^a	9/70	12,85 ^a
Leucócito S.A	2/7	28,57 ^a	34/70	48,57 ^a
Neutrofilia	4/7	57,14 ^a	30/70	42,85 ^a
Neutropenia	0/7	0 ^a	5/70	7,14 ^a
Neutrófilo S.A	2/7	28,57 ^a	32/70	45,71 ^a
Linfocitose	1/7	14,28 ^a	3/70	4,28 ^a
Linfopenia	1/7	14,28 ^a	19/70	27,14 ^a
Linfócito S.A	4/7	57,14 ^a	46/70	65,71 ^a
Monocitose	2/7	28,57 ^a	11/70	15,71 ^a
Monocitopenia	1/7	14,28 ^a	12/70	17,14 ^a
Monócito S.A	3/7	42,85 ^a	44/70	62,85 ^a
Eosinofilia	0/7	0 ^a	2/70	2,85 ^a
Eosinopenia	5/7	71,43 ^a	27/70	38,57 ^a
Eosinófilo S.A	1/7	14,28 ^a	38/70	54,28 ^a
DER*	4/7	57,14 ^a	19/70	27,14 ^a

Nota: Letras minúsculas distintas nas colunas indicam diferenças significativas ($P < 0,05$) entre os grupos pelo teste de Fisher. * DER: desvio esquerda regenerativo, S.A: sem alterações.

Analisando o exame parasitológico pode-se notar que 4,28% (3/70) dos animais do GSSC apresentaram, em hemácias, merozoíto compatível com *Babesia canis* e 100% (7/7) dos animais do GCSC eram negativos (Figura 4A).

A frequência de anticorpos anti-*Babesia canis* foi semelhante entre os grupos GCSC (71,43% - 5/7) e GSSC (77,15% - 54/70) (Figura 4B) e não foi notada diferença significativa ($p < 0,05$) entre os grupos.

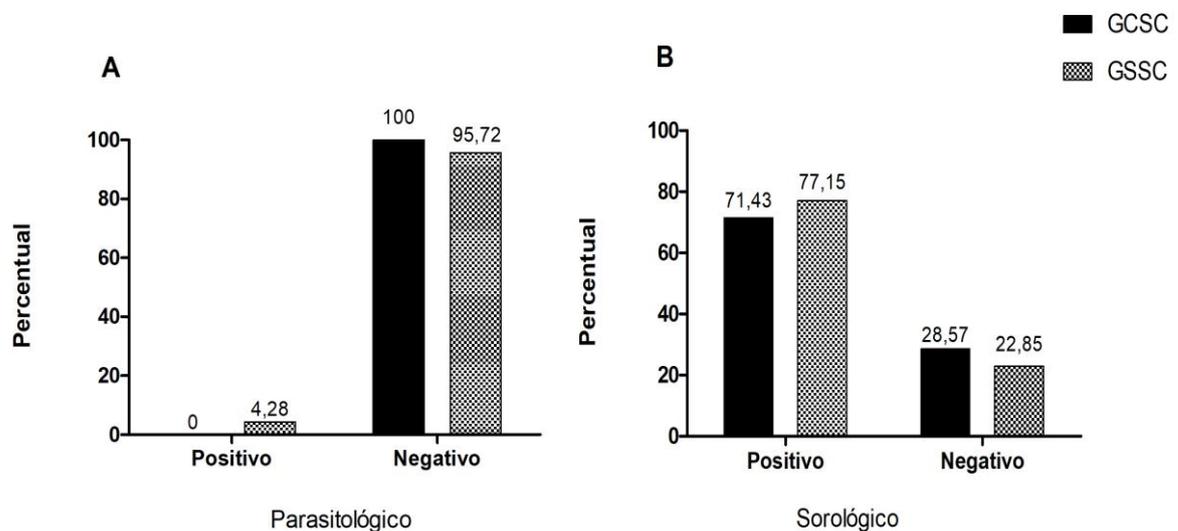


Figura 4: Perfil parasitológico e sorológico dos animais pertencentes aos grupos com sinais compatíveis (GCSC) e sem sinais compatíveis (GSSC) com suspeita de hemoparasitose canina atendidos no Hospital Veterinário de Uberaba. Teste utilizado: Teste de Fisher com significância de 5% ($p < 0,05$).

Separando os animais nos subgrupos (Tabela 5) notou-se que nenhum animal apresentou exame parasitológico positivo e sorológico negativo, assim, o subgrupo S4 foi excluído.

A maioria dos animais pertencentes aos grupos GCSC (71,42%) e GSSC (72,86%) apresentava exame parasitológico negativo e sorológico positivo (S3) (Tabela 5). Não houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre os grupos. Porém, notou-se diferença significativa ($p < 0,05$) entre os animais dos subgrupos S1, S2 e S3 no GSSC.

Tabela 5: Perfil de positividade ou negatividade dos animais dos grupos GCSC e GSSC em relação aos exames parasitológicos e sorológicos, atendidos no Hospital Veterinário de Uberaba.

Exames parasitológico e sorológico	GCSC		GSSC	
	N	%	N	%
S1 (P-S-)	2/7	28,58 ^{Aa}	16/70	22,86 ^{Ba}
S2 (P+S+)	0/7	0 ^{Aa}	3/70	4,28 ^{Aa}
S3(P-S+)	5/7	71,42 ^{Aa}	51/70	72,86 ^{Ca}

Nota: Letras maiúsculas distintas indicam diferenças significativas entre as colunas e Letras minúsculas distintas nas linhas indicam diferenças significativas ($P < 0,05$) entre as linhas pelo teste de Fisher.

Os sinais clínicos e fatores de risco mais comuns pertinentes aos animais do GCSC e GSSC de cada subgrupo estão descritos na Tabela 6. Não foi notado diferença significativa ($p < 0,05$) entre os grupos.

Tabela 6: Perfil dos cães pertencentes aos grupos com sinais clínicos compatíveis (GCSC) e sem sinais compatíveis (GSSC) no subgrupo 1 (S1), subgrupo 2 (S2) e subgrupo 3 (S3) em relação aos sinais clínicos e fatores de risco atendidos no Hospital Veterinário de Uberaba.

Sinais	S1(P-S-)		S2(P+S+)		S3(P-S+)							
	GCSC (n=2)		GSSC (n=16)		GCSC (n=5)		GSSC (n=51)					
	N	%	N	%	N	%	N	%				
Carrapatos	1	50 ^a	7	43,75 ^a	0	0 ^a	2	66,66 ^a	5	100 ^a	35	68,62 ^a
Mucosa Hipocorada	1	50 ^a	9	56,25 ^a	0	0 ^a	1	33,33 ^a	2	40 ^a	24	47,05 ^a
Hipertermia	2	100 ^a	5	31,25 ^a	0	0 ^a	2	66,66 ^a	3	60 ^a	27	52,94 ^a
Diarreia c/ sangue	1	50 ^a	6	37,5 ^a	0	0 ^a	0	0 ^a	1	20 ^a	4	7,84 ^a
Vômito	1	50 ^a	5	31,25 ^a	0	0 ^a	2	66,66 ^a	2	40 ^a	12	23,52 ^a

Mucosa ictérica	0	0 ^a	1	6,25 ^a	0	0 ^a	1	33,33 ^a	1	20 ^a	2	3,92 ^a
Esplenomegalia	0	0 ^a	2	12,5 ^a	0	0 ^a	0	0 ^a	3	60 ^a	2	3,92 ^a
Desidratação	0	0 ^a	7	43,75 ^a	0	0 ^a	2	66,66 ^a	3	60 ^a	12	23,52 ^a
Anorexia	0	0^a	5	31,25^a	0	0^a	2	66,66^a	1	20^a	25	49,01^a

Nota: Letras minúsculas distintas nas colunas indicam diferenças significativas ($P < 0,05$) entre os grupos pelo teste de Fisher.

Os animais do GCSC e GSSC foram avaliados em cada subgrupo (S1, S2 e S3) em relação às alterações eritrocitárias (Tabela 7) leucocitárias (Tabela 8) e plaquetárias (Tabela 9).

Nas alterações eritrocitárias, observou-se que no GCSC a anemia normocítica normocrômica predominou nos animais S1 (100% - 2/2) e no S3 (40% 2/5), enquanto no GSSC a normalidade eritrocitária foi a mais prevalente no S1 (68,75% - 11/16) e S3 (39,21% - 20/51) (Tabela 7). Notou-se diferença significativa na policitemia dos animais do GSSC no S2 em relação aos demais subgrupos ($p < 0,05$) (Tabela 7). Não houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre os grupos.

Tabela 7: Perfil dos animais pertencentes aos grupos com sinais clínicos compatíveis (GCSC) e sem sinais compatíveis (GSSC) no subgrupo 1 (S1), subgrupo 2 (S2) e subgrupo 3 (S3) em relação às alterações eritrocitárias atendidos no Hospital Veterinário de Uberaba.

Alterações eritrocitárias	S1(P-S-)				S2(P+S+)				S3(P-S+)			
	GCSC (n=2)		GSSC (n=16)		GCSC (n=0)		GSSC (n=3)		GCSC (n=5)		GSSC (n=51)	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
Anemia normocítica normocrômica	2	100 ^a	3	18,75 ^a	0	0 ^a	1	33,34 ^a	2	40 ^a	17	33,34 ^a
Anemia microcítica hipocromica	0	0 ^a	1	6,25 ^a	0	0 ^a	0	0 ^a	1	20 ^a	2	3,92 ^a

Anemia normocítica hipocromica	0	0 ^a	0	0 ^a	0	0 ^a	0	0 ^a	1	20 ^a	5	9,80 ^a
Anemia marocítica normocromica	0	0 ^a	0	0 ^a	0	0 ^a	0	0 ^a	0	0 ^a	3	6 ^a
Anemia microcítica normocromica	0	0 ^a	0	0 ^a	0	0 ^a	0	0 ^a	1	20 ^a	4	7,84 ^a
Policitemia	0	0 ^a	1	6,25 ^a	0	0 ^a	1	33,33 ^b	0	0 ^a	0	0 ^a
Sem alteração	0	0 ^a	11	68,75 ^a	0	0 ^a	1	33,33 ^a	0	0 ^a	20	39,21 ^a

Nota: Letras minúsculas distintas nas colunas indicam diferenças significativas ($P < 0,05$) entre os grupos pelo teste de Fisher.

Nas alterações leucocitárias, notou-se que 50% (1/2) dos cães do GCSC no S1 e 60% (3/5) no S3 apresentaram leucocitose por neutrofilia com presença de desvio à esquerda regenerativo (Tabela 8). A eosinopenia foi observada em 100% dos animais no S1 e 60% no S3 (Tabela 8).

No GSSC, 43,75% (7/16) dos animais do S1 apresentaram leucocitose por neutrofilia com desvio à esquerda regenerativo. Nos subgrupos S2 e S3 houve predomínio de normalidade leucocitária (Tabela 8). Alguns animais tanto do GCSC quanto do GSSC, apresentaram intensa leucopenia, o que prejudicou a contagem leucocitária. Não houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre os grupos.

Tabela 8: Perfil dos animais pertencentes aos grupos com sinais clínicos compatíveis (GCSC) e sem sinais compatíveis (GSSC) no subgrupo 1 (S1), subgrupo 2 (S2) e subgrupo 3 (S3) em relação às alterações leucocitárias atendidos no Hospital Veterinário de Uberaba.

Alt. Leuc	S1(P-S-)				S2(P+S+)				S3(P-S+)			
	GCSC (n=2)		GSSC (n=16)		GCSC (n=0)		GSSC (n=3)		GCSC (n=5)		GSSC (n=51)	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
Leucocitose	1	50 ^a	7	43,75 ^a	0	0 ^a	1	33,33 ^a	3	60 ^a	19	37,25 ^a
Leucopenia	0	0 ^a	3	18,75 ^a	0	0 ^a	0	0 ^a	1	20 ^a	6	11,76 ^a
Leucocitos sem alteração	1	50 ^a	6	37,5 ^a	0	0 ^a	2	66,67 ^a	1	20 ^a	26	50,98 ^a

Trombocitose	0	0 ^a	1	6,25 ^a	0	0 ^a	0	0 ^a	1	20 ^a	4	7,85 ^a
Trombocitopenia	2	100 ^a	8	50 ^a	0	0 ^a	2	66,66 ^a	4	80 ^a	29	56,86 ^a
Sem alterações	0	0 ^a	7	43,75 ^a	0	0 ^a	1	33,34 ^a	0	0 ^a	18	35,29 ^a

Nota: Letras minúsculas distintas nas colunas indicam diferenças significativas ($P < 0,05$) entre os grupos pelo teste de Fisher.

6. DISCUSSÃO

A babesiose canina é uma doença infecciosa que vêm sido confundidas na clínica veterinária devido à semelhança e inespecificidade de seus sinais clínicos com outras hemoparasitoses, como hipertermia, esplenomegalia, mucosas hipocoradas, anorexia, presença de carrapatos, vômito entre outros sintomas que podem estar presentes também em infecções por *Rangelia vitalii*, *Ehrlichia canis*, *Anaplasma platys* e outras enfermidades (LORETTI; BARROS, 2004; LEMOS et al., 2012; GARCIA et al., 2018). Essa semelhança induz ao clínico a suspeitar da babesiose, tratando o paciente sem realizar um diagnóstico preciso. Isso evidencia a relevância do médico veterinário em fazer testes diferenciais para hemoparasitas dos cães que possuem sinais clínicos compatíveis com as enfermidades transmitidas por carrapatos, associados a exames laboratoriais específicos (BREDA et al., 2018; DOS SANTOS et al., 2018).

Icterícia e esplenomegalia são alguns sinais comumente encontrados na babesiose e foram encontrados nos animais do GCSC desse estudo, indicando que tais sinais possam ser característicos da enfermidade (GOTTLIEB, 2014). A esplenomegalia foi relatada em 77,14% de cães com babesiose na pesquisa de Benigno; Rodrigues; Serra-Freire (2011), enfatizando a presença deste sintoma em animais com infecção por *Babesia canis*.

A diarreia sanguinolenta apresentada nos animais do presente estudo não é um sinal específico da babesiose canina. Porém, de acordo com Soares (2014), esse sintoma pode ser justificado pelas lesões no endotélio vascular dos vasos que irrigam o sistema digestivo em animais com rangeliose e é comprovado por Figuera et al. (2010) que relataram a presença desse sinal em animais suspeitos por *R. vitalii*. Este fato nos leva a pensar sobre a presença de infecções simultâneas em cães. Essas co-infecções podem ser fatais e devem ser detectadas com a finalidade de instituir o tratamento adequando ao paciente (YBAÑEZ et al., 2018).

A alta incidência de carrapatos esteve presente não apenas no GCSC, mas também nos animais do GSSC desse trabalho, ressaltando a hipótese de que o clínico possa ter se baseado nesse fator de risco para suspeitar das enfermidades, não levando em conta a presença de sinais clínicos compatíveis com a babesiose canina. Os animais do GCSC apresentaram percentual (100%) semelhante ao descrito por Paiva e Barros (2015), o qual relataram presença de carrapatos em 87% dos animais suspeitos para hemoparasitoses. Rojas et al. (2014) também relatam a alta ocorrência desses vetores em outras hemoparasitoses, e identificaram presença do ixodídeo em cães infectados com *A. platys*, *H. canis* e *E. canis*. Devido ao fato do carrapato

ser transmissor de outras hemoparasitoses, é necessário a associação da presença desse vetor com sinais característicos para suspeita clínica da babesiose canina.

Segundo Rodrigues (2017), o acesso dos cães à rua ou o convívio com outros animais, são fatores que aumentam o risco desses animais se infestarem com carrapatos e contraírem doenças, como por exemplo, a babesiose canina. Scherer e Mergener (2014) ainda citaram pesquisas que comprovam que cães que habitam casas com quintais e que não necessariamente convivem com outros animais, mas que têm algum tipo de contato com eles, estão mais expostos às hemoparasitoses. Essas afirmações divergem do encontrado nesse estudo, uma vez que a maioria dos animais estudados não tinham acesso à rua e/ou convívio com outros cães.

Idade, sexo e raça são parâmetros que não afetam a predisposição da babesiose canina (SILVA et al., 2011). No presente trabalho, não houve diferença significativa entre esses parâmetros, confirmando que eles não são fatores de risco para as doenças. Por outro lado, Silva et. al (2016) observaram infecção por *Babesia canis vogeli* em animais com mais de 2 anos de idade e Eiras (2018) relatara prevalência da doença em animais jovens.

A anemia é um achado laboratorial comum nas hemoparasitoses, uma vez que os hematozoários parasitam as células sanguíneas (BREDA et al., 2018). Segundo Andrade (2007), essa alteração hematológica ocorre na babesiose pelo fato do patógeno desencadear um distúrbio hemolítico mediado pelo sistema imune, ocasionando uma anemia intra ou extravascular.

Na babesiose, estudos realizados no Brasil mostram grande diversidade de alterações hematológicas (VILELA et al., 2013; EICHENBERGER et al., 2016; GOTTLIEB et al., 2016). Inicialmente, cães infectados com *B. canis* apresentam uma anemia normocítica normocrômica não regenerativa que ocorre devido à hemorragia ou hemólise aguda, em que a medula não teve tempo de liberar hemácias jovens (FERNANDES; NAGAYOSHI; BARBOSA, 2017). Posteriormente, a anemia torna-se macrocítica, hipocrômica e regenerativa (ANDRADE, 2007). Pode-se notar um índice elevado de anemia normocítica normocrômica regenerativa nos animais do GCSC, o que corrobora com Almeida et al. (2016) que encontraram a mesma anemia em cães com babesiose. França et al. (2014) e Lemos et al. (2017) identificaram a anemia normocítica normocrômica em animais infectados por *R. vitalii*, salientando a semelhança dos achados hematológicos em diferentes hemoparasitoses. Já no GSSC, notou-se que a maioria dos animais apresentaram normalidade no eritrograma, enquanto que 28,57% apresentavam anemia normocítica normocrômica, sendo semelhante com o trabalho de De Carvalho et al. (2017) o qual pesquisaram presença de *Babesia* spp. em cães assintomáticos, e relataram

presença de anemia microcítica normocrômica em 5,9 % dos animais e, segundo esse autor, a maioria dos cães sem sinais não tinham alterações hematológicas.

As alterações leucocitárias encontradas no presente trabalho foram variadas, corroborando com Vasconcelos (2010) que afirma que não há um perfil específico na série branca na babesiose canina.

Os principais achados leucocitários do presente trabalho, tanto no GCSC quanto no GSSC, também foram relatados por Caeiros (2012) que identificou neutrofilia, linfocitose, eosinofilia e neutropenia em cães infectados por *B. canis* e por Fernandes; Nagayoshi; Barbosa (2013) que citaram presença de leucocitose ou leucopenia em cães com babesiose.

O desvio à esquerda regenerativo foi o único encontrado nos animais do presente estudo no GCSC e GSSC, podendo ser justificado segundo Silva et al. (2018), como decorrência da inflamação que acelera a produção e liberação de neutrófilos da medula óssea. As alterações leucocitárias encontradas nesse trabalho e por outros autores, demonstram a inconsistência do leucograma nas doenças estudadas.

A trombocitopenia é um achado hematológico relatado nas hemoparasitoses, bem como na rangeliose, anaplasiose e babesiose canina, sendo essa última de forma branda, não ocasionando problemas hemorrágicos (HARVEY et al., 2006; ANDRADE, 2007; GOTTLIEB et al., 2016). A diminuição de plaquetas foi frequentemente observada nos animais do GCSC. A causa da trombocitopenia na babesiose canina ainda não está completamente esclarecida, mas acredita-se que é atribuída à coagulação intravascular disseminada (CID), sequestro esplênico ou destruição mediada por anticorpos (FERNANDES; NAGAYOSHI; BARBOSA, 2017; OLIVEIRA, 2015). O trombograma dos animais do GCSC do presente estudo também foram semelhantes com o relatado nos estudos de babesiose canina feitos por Furlanello et al. (2005), Davitkov et al. (2015) e Čoralić et al. (2018). No GSSC, 38,57% não tiveram alteração na contagem de plaquetas, porém 55,71% dos cães nesse grupo apresentaram trombocitopenia. Essa alteração plaquetária é muito encontrada na erliquiose canina, sendo considerado também consequência de erros pré analíticos e erros analíticos (SCOOT; STOCKHAM, 2011; GARCIA et al., 2018). No trabalho feito por Bassi et al (2011), 80,9% dos cães infectados com *Ehrlichia canis*, apresentaram diminuição de plaquetas. Assim, os animais do GSSC podem ter apresentado essa alteração devido à infecção por outra hemoparasitose, ou até mesmo por erros na coleta ou laboratoriais.

Os achados epidemiológicos, sinais clínicos e alterações hematológicas encontradas nesse trabalho, são semelhantes às alterações vistas em cães com babesiose e outras

hemoparasitoses, dificultando assim, a identificação e diferenciação dessas infecções sem exames laboratoriais específicos.

O exame parasitológico realizado por avaliação de esfregaço sanguíneo constitui um método rápido, porém há uma dificuldade em visualizar o agente em casos de baixa parasitemia, sendo considerada assim um teste com baixa sensibilidade (SOARES, 2015; OROZCO, 2018). Esses fatores justificam a baixa prevalência observada nos resultados dos exames parasitológicos desse estudo, corroborando com Vilela (2012) que detectou apenas 0,96% de positividade no esfregaço sanguíneo para *B. canis* e Dos Santos et al. (2018) que relataram positividade no parasitológico de *B. canis* em 3,5% dos animais estudados. Além disso, o exame não possibilita distinguir alguns hemoparasitas, como relatado por Lemos et al. (2017) e Breda et al. (2018) que não conseguiram diferenciar as inclusões encontradas em *Babesia canis* ou *vitalii*. Esses dois parasitos foram filogeneticamente relacionados após sequenciamento genético e análises, onde pesquisadores detectaram homologia ao gene 18S rRNA desses parasitos (GOTTLIEB et al., 2016; LEMOS et al., 2017). Breda et al. (2018) ainda ressaltaram que além da semelhança estrutural, há o mesmo tropismo pelo tipo celular e sinais clínicos entre babesiose e rangeliase canina, mostrando assim a necessidade de se realizar outros métodos de diagnósticos para diferenciar as hemoparasitoses.

Os testes sorológicos são amplamente utilizados na fase crônica das hemoparasitoses e na identificação de animais portadores assintomáticos, através da detecção de anticorpos específicos contra os agentes infecciosos (GOTTLIEB, 2014; VALENTE, 2014). Os animais do GCSC e GSSC deste estudo apresentaram percentual positivo elevado no teste de ELISA para detecção de anticorpos anti-*Babesia*. O kit IMUNOTESTE® BABESIA (ELISA) – CANINO utilizado, possui sensibilidade de 92% e especificidade de 88% acordo com o descrito pelo fabricante, o que minimiza a possibilidade de reações cruzadas. Porém, o elevado valor encontrado no exame sorológico deve ser avaliado uma vez que nesse teste podem ocorrer co-infecções com outras hemoparasitoses como, por exemplo, rangeliase, erlichiose e leishmaniose canina (GOTTLIEB, 2014; GOTTLIEB, 2016; HERNANDEZ, 2010). Deve-se ainda lembrar que o exame sorológico não distingue uma infecção recente de uma antiga, o que dificulta o entendimento sobre o real estado de infecção do animal (KUTTLER, 1988; GOTTLIEB et al., 2016). A sorologia pode apresentar resultados falso – negativos em uma infecção recente na babesiose canina, visto que para detectar anticorpos anti- *Babesia* são necessários 5 a 10 dias após infecção, podendo assim justificar o percentual de resultado sorológico negativo nos animais do GCSC (BRAGA; SILVA, 2013).

Em relação aos subgrupos, a alta prevalência dos animais do GCSC (71,42%) e GSSC (72,85%) no S3 (P-S+) demonstrou que os cães tiveram contato com o parasito, uma vez que apresentaram anticorpos *anti-Babesia*, sendo semelhante com o trabalho de Diakou et al. (2019) que relataram positividade de 0,5% no exame sorológico, porém não detectaram presença de *B. canis* nos esfregaços sanguíneos dos cães avaliados. Em seguida, tanto os animais do GCSC quanto GSSC, apresentaram percentual no S1 (P-S-), evidenciando que os animais acometidos por hemoparasitoses exibem sinais inespecíficos, podendo ser confundidos com outras enfermidades, necessitando assim de um diagnóstico mais preciso (BRAGA; SILVA, 2013; BREDA et al., 2018). No S2 (P+S+), o baixo percentual pode ser justificado pela baixa sensibilidade do teste parasitológico, que se mostra eficaz apenas na fase da doença com alta parasitemia, assim como mostra o trabalho de Araújo et al. (2015).

A pesquisa parasitológica e os exames sorológicos podem resultar em falsos resultados, além de não permitirem a diferenciação entre as subespécies, sendo de suma importância realizar testes de diagnóstico mais precisos, como exames moleculares e testes diferenciais para identificar a presença/ausência de uma hemoparasitose, instituindo uma terapia adequada para tratamento do paciente. Além disso, deve-se ressaltar que a *B. canis* e *R. vitalii* são morfologicamente semelhantes, porém geneticamente distintas em filogenia molecular, reforçando a necessidade de se realizar testes moleculares para detecção desses parasitos (SILVA et al., 2018).

Quanto aos sinais clínicos presentes nos animais do GCSC em cada subgrupo, notou-se que todos os animais do GCSC no S1 (P-S-) apresentaram hipertermia. A hipertermia pode ser consequência da liberação de substâncias pirógenas consequentes do rompimento do eritrócito (FIGUEIREDO, 2011). No S3 (P-S+), os cães apresentaram esplenomegalia que pode ocorrer devido à uma congestão esplênica ocasionada pela bilirrubinemia acarretada pelo rompimento das células parasitadas (NELSON; COUTO, 2001).

Os animais do GSSC no S1(P-S-), S2 (P+S+) e S3 (P-S+) apresentaram mucosas hipocoradas, desidratação, vômito, anorexia, hipertermia podendo estas serem causas de outras enfermidades, uma vez que não são sinais clínicos específicos da doença estudada no presente trabalho.

A presença de carrapato foi relatada em todos os subgrupos, evidenciando a importância desse vetor, uma vez que o risco de transmissão das hemoparasitoses é determinado pela prevalência desses ectoparasitas e pela probabilidade de um contato entre um carrapato infectado e um hospedeiro susceptível (RODRIGUES, 2017).

Nas alterações hematológicas notou-se que os animais do GCSC no S1(P-S-) e S3 (P-S+) apresentaram achados característicos de infecção com *Babesia canis vogeli*, uma vez que na babesiose canina, as alterações hematológicas consistem inicialmente em uma anemia não regenerativa, tornando-se regenerativa no decorrer da doença, além de um leucograma inconsistente que pode apresentar leucocitose, leucopenia neutrofilia, neutropenia, linfocitose e esinofilia, e ainda uma trombocitopenia sem causa elucidada (BRAGA; SILVA,2013; PEREIRA et al., 2018).

A maioria dos animais do GSSC no S1 (P-S-) não tiveram alterações no eritrograma, enquanto que no S2 (P+S+) e S3 (P-S+) as alterações encontradas como anemia e policitemia podem ser decorrentes de outros fatores. Grande parte dos animais do GSSC no S2 e S3 não tiveram alterações no leucograma, enquanto que a leucocitose presente no S1(P-S-) pode ocorrer por infecções bacterianas, desordens mieloproliferativas, efeito de esteroides, entre outras causas distintas (GONZÁLEZ; SILVA,2008). A trombocitopenia acontece por diversas causas, podendo assim ser associadas com outras enfermidades, como por exemplo, aplasia medular, parvovírus, doenças imunomediadas, neoplasias, entre outros (LATIMER, 2011; SCOOT; STOCKHAM,2011), o que poderia justificar a presença dessa alteração na maioria dos animais do GSSC no S1, S2 e S3.

7. CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos, pode-se concluir que:

-A presença de carrapatos é um fator de risco importante a ser avaliado na babesiose canina;

- Idade, sexo e raça são parâmetros que não predispõe uma infecção por *Babesia canis*;

-Somente as alterações clínicas, hematológicas e laboratoriais não confirmam a hemoparasitose. É necessária uma associação entre essas alterações em conjunto com exames laboratoriais mais específicos para um resultado mais apurado, e assim instituir um tratamento adequado ao animal.

REFERÊNCIAS

- AGUIAR, Cíntia Lidiane Guidotti et al. Parameters of free-living phase of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806)(Acari: Ixodidae): adapted to the subtropical climate. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 80, n. 4, p. 375-380, 2013.
- ALMEIDA, Raquel Sangalli De. et al. Babesiose canina. Trabalho apresentado na XVII Jornada de Extensão, Rio Grande do Sul, 2016.
- ANDRADE, Elusa Santos de. **Infecções causadas por hematozoários em cães e gatos de ocorrência no Brasil: semelhanças e particularidades**. 2007. Monografia (Especialista em análises clínicas veterinárias) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2007.
- ANDRADE, Maria Júlia Gomes et al. BABESIOSE E AS PARTICULARIDADES DA INFECÇÃO HUMANA. In: **Anais Colóquio Estadual de Pesquisa Multidisciplinar (ISSN-2527-2500) & Congresso Nacional de Pesquisa Multidisciplinar**. 2019.
- ANTÔNIO, Nayara Silva; OLIVEIRA, Amanda Claudia de; ZAPPA, Vanessa. Babesia canis: relato de caso. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, ano VII, n. 12, 2009.
- ARAÚJO, Andreina C. et al. Babesia canis vogeli infection in dogs and ticks in the semiarid region of Pernambuco, Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 35, n. 5, p. 456-461, 2015.
- ASSIS, Eber Rogério et al. Aspectos epidemiológicos da babesiose canina e bovina na região de Garça. **Revista científica eletrônica de Medicina Veterinária**, Garça, n.4, p. 1-3, 2005.
- AYOOB, Ashley L.; HACKNER, Susan G.; PRITTIE, Jennifer. Clinical management of canine babesiosis. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, v. 20, n. 1, p. 77-89, 2010.
- BANETH, Gad. Antiprotozoal treatment of canine babesiosis. **Veterinary Parasitology**, v. 254, p. 58-63, 2018.
- BENIGNO, Raimundo Nonato Moraes; RODRIGUES, Bárbara Renata Fontes; DA SERRA FREIRE, Nicolau Maués. Avaliação das infecções por Babesia e Ehrlichia em cães e das infecções humanas por carrapatos oriundos desses cães no município de Campinas, Estado de São Paulo. **Brazilian Journal of Veterinary Medicine**, v. 33, n. 4, p. 238-245, 2011.
- BILWAL, Avinash K.; MANDALI, Ghanshyam C.; TANDEL, Falguni B. Clinicopathological alterations in naturally occurring Babesia gibsoni infection in dogs of Middle-South Gujarat, India. **Veterinary World**, v. 10, n. 10, p. 1227, 2017.
- BIRKENHEUER, A. J et al. Detection and molecular characterization of a novel large *Babesia* species in a dog. **Veterinary Parasitology**, v.124, p.151- 160, 2004.
- BIRKENHEUER, A. J. Babesiosis - In C.E. Greene (Ed.), *Infectious diseases in dog and cat*. 4 ed. Philadelphia: Saunders, Elsevier, 2012.
- BOLLELA, Valdes R.; SATO, Daisy N.; FONSECA, Benedito AL. Problemas na padronização da reação em cadeia da polimerase para diagnóstico da tuberculose pulmonar. **Revista de Saúde Pública**, v. 33, p. 281-286, 1999.
- BORIN-CRIVELLENTI, Sofia; CRIVELLENTI, Leandro Z.:. **Bulário Médico-Veterinário Cães e Gatos**. 1 ed. São Paulo: MedVet, 2013.

- BRAGA, Juliana Fortes Vilarinho; SILVA, Silvana Maria Medeiros de Sousa. Babesiose canina: uma visão geral da doença. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 12, n. 2, p. 204-213, 2013.
- BRANDÃO, Leonardo Pinto; HAGIWARA, Mitika Kuribayashi. Babesiose canina: revisão. **Clínica Veterinária**, v. 7, n. 41, p. 50-59, 2002.
- BREDA, Jéssica Colombo et al. Hemoparasitoses em cães: análise de dados laboratoriais. **Revista Acadêmica: Ciência Animal**, v. 16, p. 1-8, 2018.
- CAEIROS, Ana Patrícia da Silva et al. **Detecção de Babesia spp. e de outros hemoparasitas em cães, por técnicas morfológicas, serológicas e moleculares, no distrito de Lisboa, Portugal**. 2012. Tese (Doutorado) - Universidade Técnica de Lisboa, Portugal, 2012.
- CANUTO, Francisco J. C.; MATIAS, Ana Lúcia Melo; AQUINO-CORTEZ, Annice. Achados hematológicos de cães positivos para babesiose em Fortaleza, Ceará. In: IV Congresso Estudantil de Medicina Veterinária da UECE., 26, 2016, Fortaleza. **Ciência Animal**, Fortaleza:Universidade Estadual do Ceará, 2016. p. 10-12.
- CARDINOT, Cinthya B. et al. Detection of Ehrlichia canis, Babesia vogeli, and Toxoplasma gondii DNA in the brain of dogs naturally infected with Leishmania infantum. **The Journal of parasitology**, v. 102, n. 2, p. 275-279, 2016.
- CARDOSO, Luís et al. Molecular investigation of tick-borne pathogens in dogs from Luanda, Angola. **Parasites & vectors**, v. 9, n. 1, p. 252, 2016.
- CARDOSO, Luís; MENDÃO, Cláudio; DE CARVALHO, Luís Madeira. Prevalence of Dirofilaria immitis, Ehrlichia canis, Borrelia burgdorferi sensu lato, Anaplasma spp. and Leishmania infantum in apparently healthy and CVBD-suspect dogs in Portugal-a national serological study. **Parasites & vectors**, v. 5, n. 1, p. 62, 2012.
- CHECA, Rocío et al. The role of healthy dog carriers of Babesia microti-like piroplasms. **Parasites & vectors**, v. 12, n. 1, p. 127, 2019.
- ĆORALIĆ, Agnesa et al. First molecular detection of Babesia canis in dogs from Bosnia and Herzegovina. **Ticks and tick-borne diseases**, v. 9, n. 2, p. 363-368, 2018.
- CORDERO del C.; ROJO. Babesiosis, Hepatozoonosis, Citauxzoonosis felina. In: ____ **Parasitología Veterinaria**. Madrid: McGraw Hill-Interamericana, 2004. p. 672-678.
- CORRÊA, Ana et al. Babesiose Canina: relato de caso. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária, FAEF-Garça/SP**, v. 3, p. 167-171, 2005.
- COSTA, Andréa Pereira da et al. A serological and molecular survey of Babesia vogeli, Ehrlichia canis and Rickettsia spp. among dogs in the state of Maranhão, northeastern Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 24, n. 1, p. 28-35, 2015.
- COSTA, Hérica Xavier da. **Interação de hemoparasitos e hemoparasitoses em casos clínicos de trombocitopenia em cães no município de Goiânia**. 2011. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2011.
- COSTA, M. P. **Avaliação Hematológica de Sangue e Medula Óssea e Bioquímica Sérica de Cães Infectados Naturalmente por Hemoparasitos**. 2014. 83f. Tese de Doutorado. Dissertação–Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2014.

- COTA, J. M. et al. Babesia spp. no líquido peritoneal em cão com ascite-relato de caso. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia (Online)**, v. 70, n. 4, p. 1109-1114, 2018.
- CRIVELLENTI, Leandro Z.; BORIN-CRIVELLENTI, Sofia. **Casos de rotina em Medicina Veterinária de Pequenos Animais**. 2 ed. São Paulo: MedVet, 2015.
- DANTAS-TORRES, Filipe. Biology and ecology of the brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus*. **Parasites & vectors**, v. 3, n. 1, p. 26, 2010.
- DANTAS-TORRES, Filipe. Canine vector-borne diseases in Brazil. **Parasites & Vectors**, v. 1, n. 1, p. 25, 2008.
- DANTAS-TORRES, Filipe. Ticks on domestic animals in Pernambuco, Northeastern Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 18, n. 3, p. 22-28, 2009.
- DAVITKOV, Darko et al. Clinical babesiosis and molecular identification of *Babesia canis* and *Babesia gibsoni* infections in dogs from Serbia. **Acta Veterinaria Hungarica**, v. 63, n. 2, p. 199-208, 2015.
- DE CARVALHO, Sávio Matheus Reis et al. Pesquisa de Babesia spp. e Ehrlichia spp. em cães assintomáticos, atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Federal do Piauí. **PUBVET**, v. 12, p. 139, 2017.
- DE TOMMASI, A. S. et al. Evaluation of blood and bone 43 marrow in selected canine vector-borne diseases. **Parasit Vectors**, v. 7, n. 1, p. 534, 2014.
- DIAKOU, Anastasia et al. Endoparasites and vector-borne pathogens in dogs from Greek islands: pathogen distribution and zoonotic implications. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 13, n. 5, p. e0007003, 2019.
- DOS SANTOS, Camila Maria et al. Ocorrência de hemoparasitose em cães atendidos em hospital veterinário de Campo Grande, estado do Mato Grosso do Sul, Brasil. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, v. 1, n. 1, p. 236-243, 2018.
- DUARTE, Maria Dias Alberto Marquez. **Infeção por agentes de doenças caninas transmitidos por vetores em cães de caça no concelho de Loures**. 2016. Tese de Doutorado. Universidade de Lisboa. Faculdade de Medicina Veterinária.
- DUARTE, Sabrina Castilho et al. Diagnóstico parasitológico e molecular da Babesiose canina na cidade de Goiânia-GO. **Revista de Patologia Tropical/Journal of Tropical Pathology**, v. 37, n. 3, p. 229-236, 2008.
- DUH, Darja et al. Canine babesiosis in Slovenia: molecular evidence of *Babesia canis canis* and *Babesia canis vogeli*. **Veterinary research**, v. 35, n. 3, p. 363-368, 2004.
- DWI, Priyowidodo et al. Babesiosis in a Local Dog in Yogyakarta, Indonesia, a Case Report. **Parasitology**, v. 13, n. 1, p. 14-18, 2018.
- DZIEGIEL, B. et al. Specificity of mass spectrometry (MALDI-TOF) in the diagnosis of *Babesia canis* regarding to other canine vector-borne diseases. **Annals of parasitology**, v. 62, n. 2, 2016.
- EICHENBERGER, R. M. et al. Prognostic markers in acute *Babesia canis* infections. **Journal of veterinary internal medicine**, v. 30, n. 1, p. 174-182, 2016.

- EIRAS, Diego Fernando. **Aspectos diagnósticos y epidemiológicos de la piroplasmosis canina en áreas urbanas del sur del Gran Buenos Aires**. 2018. Tese (Doutorado) - Facultad de Ciencias Veterinarias, Buenos Aires, 2018.
- ETTINGER, S.; FELDMAN, E. **Tratado de medicina interna veterinária: doenças do cão e do gato**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.
- FERNANDES, Laís Lucas; NAGAYOSHI, Bianca Akemi; SOUZA, Tatiana Barbosa de. Hematologia dos cães com babesiose atendidos no Hospital Veterinário da Universidade de Marília–UNIMAR. **Revista Unimar Ciências**, v. 22, n. 1-2, 2017.
- FERREIRA, Caroline Gracielle Torres. **Distribuição de ecto e hemoparasitas em cães no estado do Rio Grande do Norte, Brasil**. 2018. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2018.
- FIGHERA, Rafael A. et al. Patogênese e achados clínicos, hematológicos e anatomopatológicos da infecção por *Rangelia vitalii* em 35 cães (1985-2009). **Pesq Vet Bras**, v. 30, n. 11, p. 974-987, 2010.
- FIGUEIREDO, MONICA RAMOS. **Babesiose e Erliquiose caninas**. Monografia (Pós-graduação) - Instituto Qualittas, Rio de Janeiro, 2011.
- FLORES, Mariana M. et al. Aspectos epidemiológicos, clínicos e anatomopatológicos da intoxicação por aceturato de diminazeno em cães. **Pesq Vet Bras**, v. 34, n. 7, p. 667-674, 2014.
- FRANÇA, Raqueli Teresinha et al. Canine rangellosis due to *Rangelia vitalii*: From first report in Brazil in 1910 to current day—A review. **Ticks and tick-borne diseases**, v. 5, n. 5, p. 466-474, 2014.
- FURLANELLO, T. et al. Clinicopathological findings in naturally occurring cases of babesiosis caused by large form *Babesia* from dogs of northeastern Italy. **Veterinary Parasitology**, v. 134, n. 1-2, p. 77-85, 2005.
- FURUTA, Patrícia Iriê et al. Comparison between a soluble antigen-based ELISA and IFAT in detecting antibodies against *Babesia canis* in dogs. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 18, n. 3, p. 41-45, 2009.
- GALVÁN, Carmen et al. *Babesia* spp. in Dogs from Córdoba, Colombia. **Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi**, v. 24, n. 6, 2018.
- GARCIA, Danitiele Almas et al. ERLIQUIOSE E ANAPLASMOSE CANINA-REVISÃO DE LITERATURA. **Revista Científica**, v. 1, n. 1, 2018.
- GONZÁLEZ, Félix H. Dias; SILVA, Sérgio Ceroni da. **Patologia Clínica: Texto Introdutório**. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2008. 342 p.
- GOTTLIEB, Juliana et al. *Rangelia vitalii*, *Babesia* spp. and *Ehrlichia* spp. in dogs in Passo Fundo, state of Rio Grande do Sul, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 25, n. 2, p. 172-178, 2016.
- GOTTLIEB, Juliana. ***Babesia canis*, *Ehrlichia canis* e *Rangelia vitalii*: aspectos clínicos, parasitológicos, hemato-sorológicos e moleculares de cães infectados da região de Passo Fundo-RS-Brasil**. 2014. Tese (Mestrado) – Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2014.
- GUIMARÃES, Antônio Marcos et al. Fatores associados à soropositividade para *Babesia*, *Toxoplasma*, *Neospora* e *Leishmania* em cães atendidos em nove clínicas veterinárias do

município de Lavras, MG. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 18, n. 1, p. 49-53, 2009.

GUTIÉRREZ, María del Mar Blanco et al. **Imunologia e enfermidade infecciosas do cão e do gato**. 1 ed. São Paulo: MedVet, 2013.

HARVEY J. Thrombocytotropic Anaplasmosis (*A. platys* [*E. platys*] Infection). 229-231 p. IN: GREENE, CE Infectious Diseases of the dog and cat Saunders Elsevier, 3 Ed, St Louis, Elsevier, 1387 p, 2006.

HOMER, M.; AGUILAR, I.; TELFORD, S.; KRAUSE, P.; PERSING, D. Babesiosis. **Clinical Microbiology Reviews**, Washington, v.13, n.3, p.451-469, 2000.

HORNOK, Sándor et al. Molecular identification of badger-associated *Babesia* sp. DNA in dogs: updated phylogeny of piroplasms infecting Caniformia. **Parasites & Vectors**, v. 11, n. 1, p. 235, 2018.

in California. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v.138, p.103-111, 2006.

JIKUYA, M.; TATENO, M.; TAKAHASHI, M.; ENDO, Y. The presence of tick-borne diseases in domestic dogs and cats living on Iriomote-jima and Tsushima islands. **The Journal of Veterinary Medical Science**, v.79, n.6, p.1086–1090, 2017.

JONGEJAN, Frans et al. Molecular evidence for the transovarial passage of *Babesia gibsoni* in *Haemaphysalis hystricis* (Acari: Ixodidae) ticks from Taiwan: a novel vector for canine babesiosis. **Parasites & Vectors**, v. 11, n. 1, p. 134, 2018.

KJEMTRUP, A.M. et al. *Babesia conradae*, sp. nov., a small canine *Babesia* identified KUTTLER, K. L. World-wide impact of babesiosis. In: RISTIC, M. **Babesiosis of domestic animals and man**. Boca Raton: CRC Press, 1988, p. 1-22.

LATIMER, K.S. **Duncan and Prasse's Veterinary Laboratory Medicine: Clinical Pathology**, 5 ed. [S.I]: Willey-Blackwell, 2011.

LEAL, P. D. S. et al. Infecção por hematozoários nos cães domésticos atendidos em serviço de saúde animal, Rio de Janeiro, Brasil. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária, Rio de Janeiro**, v. 37, p. 55-62, 2015.

LEMOS, Tatiana Didonet et al. Clinical and hematological evaluation of *Rangelia vitalii*-naturally infected dogs in southeastern Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 26, n. 3, p. 307-313, 2017.

LEMOS, Tatiana Didonet et al. Detection and molecular characterization of piroplasms species from naturally infected dogs in southeast Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 21, n. 2, p. 137-142, 2012.

LORETTI, Alexandre Paulino; BARROS, Severo Sales. Infecção por *Rangelia vitalli* (“Nambiuvú, “Peste de Sangue”) em caninos: revisão. **Medvep**, v. 2, p. 128-144, 2004.

MACHADO, Marcos Adriano Barbosa et al. Hemoparasitos em caninos do município de Araguaína, Tocantins. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal: RBHSA**, v. 12, n. 4, p. 487-494, 2018.

MAGGI, Ricardo G.; KRÄMER, Friederike. A review on the occurrence of companion vector-borne diseases in pet animals in Latin America. **Parasites & Vectors**, v. 12, n. 1, p. 145, 2019.

MALHEIROS, J. et al. Identification of vector-borne pathogens in dogs and cats from Southern Brazil. **Ticks and tick-borne diseases**, v. 7, n. 5, p. 893-900, 2016.

- MEGID, Jane; RIBEIRO, Marcio Garcia; PAES, Antonio Carlos. **Doenças infecciosas em animais de produção e de companhia**. 1 ed. Rio de Janeiro: Roca, 2018.
- MELO, A. L. T. et al. A survey of tick-borne pathogens in dogs and their ticks in the Pantanal biome, Brazil. **Medical and veterinary entomology**, v. 30, n. 1, p. 112-116, 2016.
- MILKEN, Vanessa Martins Fayad et al. Ocorrência de babesiose canina no Município de Uberlândia, Minas Gerais. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, v. 7, n. 1, 2008.
- MORAES, P. H. G. et al. Molecular characterization of *Babesia vogeli* in dogs from Belém, northern Brazil. **Genetics and Molecular Research**, v. 14, n. 4, p. 16364-16371, 2015.
- MORENO, Verónica Raquel Matado. **Clínica médica e cirúrgica em animais de companhia: alterações não específicas num esfregaço sanguíneo sugestivas de hemoparasitoses**. 2015. Dissertação (Mestrado) - Universidade de Évora, Évora, 2015.
- NALUBAMBA, King Shimumbo et al. A study of naturally acquired canine babesiosis caused by single and mixed *Babesia* species in Zambia: Clinicopathological findings and case management. **Journal of parasitology research**, v. 2015, 2015.
- NELSON RW, COUTO CG. **Medicina interna de pequenos animais**. 5.ed. - Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015.
- NELSON, R.W.; COUTO, C.G. **Fundamentos de medicina interna de pequenos animais**. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.
- NODEN, Bruce H.; SONI, Minty. Vector-borne diseases of small companion animals in Namibia: Literature review, knowledge gaps and opportunity for a One Health approach. **Journal of the South African Veterinary Association**, v. 86, n. 1, p. 01-07, 2015.
- OLIVEIRA, Aécio Carlos de. **Diagnóstico das hemoparasitoses caninas por biologia molecular, alterações hematológicas e centrifugação por gradiente**. 2015. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2015.
- OROZCO, Andrés Mauricio Ortega. **Detecção molecular de hemoparasitos em cães atendidos no hospital veterinário da universidade federal de Viçosa-Viçosa/MG**. 2018. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2018.
- PACHECO, Alessandro Mendes et al. Erliquiose e Babesiose – Relato de Caso. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, ano VII, n. 13, 2009.
- PAIVA, Bruna Cristina; BARROS, Rodrigo Alves. PREVALÊNCIA DE HEMOPARASITOS EM CÃES NO MUNICÍPIO DE TRÊS CORAÇÕES, MG. **Revista de Iniciação Científica da Universidade Vale do Rio Verde**, v. 4, n. 2, 2015.
- PANTCHEV, Nikola et al. Tick-borne diseases (borreliosis, anaplasmosis, babesiosis) in German and Austrian dogs: Status quo and review of distribution, transmission, clinical findings, diagnostics and prophylaxis. **Parasitology Research**, v. 114, n. 1, p. 19-54, 2015.
- PARPINELLI, Natália; SOUZA, Ítalo Morelli Miacri; DI GREGORIO, Mayra Carraro. Ocorrência de *Ehrlichia* spp. e *Babesia* spp. em cães no estado do Paraná–revisão de literatura. **Revista de Ciência Veterinária e Saúde Pública**, v. 4, p. 86-93, 2017.
- PENZHORN, Barend L. et al. Confirmation of occurrence of *Babesia vogeli* in a dog in Windhoek, central Namibia. **Journal of the South African Veterinary Association**, v. 87, n. 1, p. 1-3, 2016.

- PEREIRA, Mariana R. et al. Aplicação das técnicas de Reação em Cadeia da Polimerase Convencional (cPCR) e em Tempo Real (qPCR) para detecção do genoma *Leishmania sp* em amostras biológicas. **GeraiS: Revista de Saúde Pública do SUS/MG**, v. 1, n. 1, p. 33-34, 2017.
- PEREIRA, Mariele Alves et al. Babesiose canina: relato de caso. **Caderno de Ciências Agrárias**, Belo Horizonte, v.10, n.3, p. 43-47,2018.
- PETRA, Bilić et al. Canine babesiosis: where do we stand? **Acta Veterinaria**, v. 68, n. 2, p. 127-160, 2018.
- PINTO, R.L. **Babesiose canina – relato de caso**. Monografia de Especialização em Clínica Médica de Pequenos Animais, Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFERSA, Departamento de Ciências Animais, Porto alegre, 2009. 26p.
- RISTIC, M. **Babesiosis of domestic animals as man**. Boca Raton: CRC Press, 1988, p.119–130.
- RODRIGUES,Rodrigo Gonzales. **Inquérito epidemiológico molecular de hemoparasitos em cães de dois municípios com diferentes condições climáticas no estado de Santa Catarina, Brasil**.2017. Tese (Doutorado) - Universidade do Estado de Santa Catarina, Santa Catarina,2017.
- ROJAS, Alicia et al. Vector-borne pathogens in dogs from Costa Rica: first molecular description of *Babesia vogeli* and *Hepatozoon canis* infections with a high prevalence of monocytic ehrlichiosis and the manifestations of co-infection. **Veterinary Parasitology**, v. 199, n. 3-4, p. 121-128, 2014.
- SALEM, N. Y.; FARAG, H. S. Clinical, hematologic, and molecular findings in naturally occurring *Babesia canis vogeli* in Egyptian dogs. **Veterinary medicine international**, v. 2014, 2014.
- SCHERER, Mariane; MERGENER, Michelle. Prevalência de hemocitozoários em caninos de municípios do Vale do Taquari com foco em Lajeado–RS. **Revista Destaques Acadêmicos**, v. 6, n. 3, p. 206-212, 2014.
- SCHNITTGER, Leonhard et al. Babesia: a world emerging. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 12, n. 8, p. 1788-1809, 2012.
- SCOOT, M.A; STOCKHAM, S.L. **Fundamentos da Patologia Clínica Veterinária**.2 ed, Guanabara Koogan,2011.
- SEIXAS, Rui et al. Doenças caninas de transmissão vectorial: uma picada com muitas consequências. **Vet Med**, v. 77, p. 23-46, 2011.
- SILVA, Arannadia Barbosa et al. Detecção molecular de *Babesia canis vogeli* em cães e em *Rhipicephalus sanguineus* na mesorregião do oeste maranhense, nordeste brasileiro. **Ciência Animal Brasileira**, v. 13, n. 3, p. 388-395, 2012.
- SILVA, Bianca Ressetti da et al. Detection molecular of *Rangelia vitalii* in dogs from Parana State, Southern Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, 2018.
- SILVA, Bianca Ressetti da. **Agentes transmitidos por carrapatos e fauna ixodídica em cães no estado do Paraná**. 2017. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2017.

SILVA, Maria Regina Lucas da et al. Rangelia vitalii and Hepatozoon canis coinfection in pampas fox Lycalopex gymnocercus from Santa Catarina State, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 27, n. 3, p. 377-383, 2018.

SILVA, Marina Cruvinel Assunção et al. Hemoparasitos em cães domésticos naturalmente infectados, provenientes das zonas urbana e rural do município de Abadia dos Dourados, Minas Gerais, Brasil. **Bioscience Journal**, v. 30, n. 5, 2014.

SILVA, Vanessa Carla Lima et al. Parasitological and molecular detection of Babesia canis vogeli in dogs of Recife, Pernambuco and evaluation of risk factors associated. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 37, n. 1, p. 163-171, 2016.

SOARES, J. M. Piroplasmoses. In: JERICÓ, M. M. Tratado de medicina interna de cães e gatos. 1ª. ed. São Paulo: Roca, v. 1, 2015. Cap. 82, p. 741-756.

SOARES, João Fabio. **História natural da rangelirose**. 2014. Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.

SOLANO-GALLEGO, L. et al. Babesia canis canis and Babesia canis vogeli clinicopathological findings and DNA detection by means of PCR-RFLP in blood from Italian dogs suspected of tick-borne disease. **Veterinary parasitology**, v. 157, n. 3-4, p. 211-221, 2008.

SOLANO-GALLEGO, Laia; BANETH, Gad. Babesiosis in dogs and cats—expanding parasitological and clinical spectra. **Veterinary parasitology**, v. 181, n. 1, p. 48-60, 2011.

SOUSA, Keyla Carstens Marques de et al. Molecular and serological detection of tick-borne pathogens in dogs from an area endemic for Leishmania infantum in Mato Grosso do Sul, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 22, n. 4, p. 525-531, 2013.

SOUSA, Keyla Carstens Marques de. **Co-infecção por Ehrlichia canis, Leishmania chagasi e Babesia canis em cães naturalmente infectados em Campo Grande, Mato Grosso do Sul**. 2012. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2012.

SOUZA, Rafael Rocha de et al. Ocorrência de infecção concomitante natural por Ehrlichia sp., Anaplasma sp. e Babesia sp. em cão assistido no hospital veterinário da Universidade Federal de Uberlândia. **Revista científica de Medicina Veterinária**, Uberlândia, n.27, p. 1-7, 2016.

TABOADA, J. Babesiosis. In: Greene, C.E. Infectious diseases of the dog and cat. 2. ed. Philadelphia: WB Saunders, 1998. p. 473-481.

TROSKIE, Milana et al. Development and validation of a multiplex, real-time PCR assay for Babesia rossi and Babesia vogeli. **Ticks and tick-borne diseases**, v. 10, n. 2, p. 421-432, 2019.

VALENTE, Pâmela Cristina Lopes Gurgel. **Avaliação dos métodos diagnósticos e dos parâmetros hematológicos nas hemoparasitoses caninas no estado de Minas Gerais**. 2014. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2014.

VASCONCELOS, Marta Freitas. **Estudo da infecção por Babesia spp. em cães da região periurbana de Brasília, Distrito Federal**. 2010. Dissertação (Mestrado) - Universidade de Brasília, Brasília, 2010.

VENEZIANO, Vincenzo et al. Distribution and risk factors associated with Babesia spp. infection in hunting dogs from Southern Italy. **Ticks and tick-borne diseases**, v. 9, n. 6, p. 1459-1463, 2018.

VILELA, Joice Aparecida Rezende et al. Alterações clínico-hematológicas da infecção por *Babesia canis vogeli* em cães do município de Seropédica, Rio de Janeiro, Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Medicine**, v. 35, n. 1, p. 63-68, 2013.

VILELA, Joice Aparecida Rezende et al. **Aspectos epidemiológicos da *Babesia canis vogeli* em cães da Baixada Fluminense, RJ**. 2012. Tese (Doutorado) – Universidade Federal Rural Ddo Rio de Janeiro, Seropédica, 2012.

WITTER, Rute et al. Prevalence of canine monocytic ehrlichiosis and canine thrombocytic anaplasmosis in dogs suspected of hemoparasitosis in Cuiabá Mato Grosso. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 6Supl2, p. 3811-3822, 2013.

YBAÑEZ, Rochelle Haidee D. et al. Detection of Ehrlichia, Anaplasma, and Babesia spp. in dogs of Cebu, Philippines. **Veterinary world**, v. 11, n. 1, p. 14, 2018.

ZANETTE, Maurício Franco et al. Serological cross-reactivity of *Trypanosoma cruzi*, Ehrlichia canis, Toxoplasma gondii, Neospora caninum and Babesia canis to Leishmania infantum chagasi tests in dogs. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 47, n. 1, p. 105-107, 2014.

ZHANG, Jianwei et al. Epidemiological survey of ticks and tick-borne pathogens in pet dogs in south-eastern China. **Parasite**, v. 24, 2017.

ANEXO A - OFÍCIO DE APROVAÇÃO COMITÊ DE ÉTICA E EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (UNIUBE)



Comitê de Ética em Experimentação Animal

Ofício CEEA-037/2017

Uberaba, 4 de junho de 2019

Ilma. Prof.

Eustáquio Resende Bittar

Assunto: Encaminha processo nº 014/2017, sobre o protocolo de pesquisa "*Criação de banco de soro e sangue para o desenvolvimento e padronização de teste imunológico ELISA para Babesia canis, Anaplasma platys, Ragelia vitalli, Ehrlichia canis e Leishmania infantum*".

Prezado(a) Professor(a),

Em resposta a sua solicitação, informo que o protocolo acima referido foi submetido avaliação do CEEA-UNIUBE, na reunião do dia 22/06/2017, sendo considerado **aprovado**.

Atenciosamente,

Prof. Joely F. Figueiredo Bittar

Coordenadora do CEEA-UNIUBE