

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DA PARAÍBA

CAMPUS SOUSA

BACHARELADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

JOÃO SILVESTRE DA SILVA NETO

HEMOPARASITOSE CAUSADAS POR *Ehrlichia* spp. E *Babesia* spp. EM CÃES  
ATENDIDOS NO HOSPITAL VETERINÁRIO DO IFPB, CAMPUS SOUSA

SOUSA-PB

2017

JOÃO SILVESTRE DA SILVA NETO

HEMOPARASITOSE CAUSADAS POR *Ehrlichia* spp. E *Babesia* spp. EM CÃES  
ATENDIDOS NO HOSPITAL VETERINÁRIO DO IFPB, CAMPUS SOUSA

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado como parte das exigências  
para a conclusão do Curso de  
Graduação em Medicina Veterinária do  
Instituto Federal da Paraíba, Campus  
Sousa.

Professora Orientadora: Dra. Thais Ferreira Feitosa

SOUSA-PB

2017

JOÃO SILVESTRE DA SILVA NETO

HEMOPARASITOSEs CAUSADAS POR *Ehrlichia* spp. E *Babesia* spp. EM CÃES  
ATENDIDOS NO HOSPITAL VETERINÁRIO DO IFPB, CAMPUS SOUSA

Trabalho de Conclusão de Curso defendido  
e aprovado pela Comissão Examinadora em: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Orientadora:

---

Dra. Thais Ferreira Feitosa  
Instituto Federal da Paraíba – Campus Sousa

Avaliadores(a):

---

Dr. Vinícius Longo Ribeiro Vilela  
Instituto Federal da Paraíba – Campus Sousa

---

Dra. Sheila Nogueira Ribeiro Knupp  
Instituto Federal da Paraíba – Campus Sousa

SOUSA-PB  
2017

## AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a Deus pelo privilégio da vida, por promover o desenvolvimento de minha formação acadêmica com êxito e por ter me guiado e amparado em todos os momentos. Foi por Nosso Senhor Jesus Cristo que sempre está comigo, que consegui vencer todas as batalhas encontradas na caminhada. A Ele todo Louvor! Amém.

Aos meus pais, Fátima e Juciê, que foram meu alicerce por toda vida e meus maiores exemplos de inspiração, força, coragem e fé; pelo amor e colo materno que minha mãe sempre me deu.

Aos meus irmãos, Juciano, Jucially e Juciê, pela amizade e companheirismo de sempre.

Aos meus avós João Silvestre (*in memorian*), Iraci (*in memorian*), Francisco (*in memorian*) e Iracema. Aos meus tios e tias, primos, sobrinhos e cunhadas.

Aos meus padrinhos, Fátima e Galego, pelo apoio e orações de sempre.

À professora Dra. Thais Ferreira Feitosa por me orientar durante minha formação acadêmica e nesse trabalho de conclusão de curso, sempre de forma excepcional, sendo além de orientadora, uma amiga e conselheira.

À todos meus professores, em especial à Dr. Vinicius Vilela, Dra. Sheila Knupp, Dr. Adílio Santos, Dra. Ana Lucélia de Araújo pela ajuda especial que me concederam na reta final do curso.

Ao amigo Dr. Leonardo Knupp pela contribuição à mim prestada.

Aos funcionários do Hospital Veterinário do IFPB Campus Sousa, pelo apoio e amizade de sempre, nas pessoas de Eliane, Elizângela, Francimário, Rodrigo Formiga, Pedro, Freitas, Inácia e todos os demais que tive o prazer de conviver.

À todos os colegas que participaram comigo e que estão sempre presentes, e à todos os meus amigos que tenho grande estima.

RESUMO: *Ehrlichia canis* e *Babesia canis* são os principais agentes causadores de hemoparasitoses em cães no Brasil; são transmitidas pelo carrapato vermelho do cão (*Rhipicephalus sanguineus*) e a incidência destas, está intimamente relacionada com a presença deste vetor no ambiente. Os animais que desenvolvem a erliquiose e babesiose apresentam quadros clínicos de anemia, trombocitopenia, apatia, anorexia, êmese e hemorragia. A evolução dessa doença ocorre de forma rápida podendo levar o animal a morte, sendo necessário diagnóstico e tratamento efetivo. Portanto, este trabalho objetivou realizar o diagnóstico de hemoparasitoses causadas por *Ehrlichia* spp. e *Babesia* spp. em 40 animais atendidos no HV-IFPB, com suspeita clínica, no período de 10/06/2016 à 05/10/2016. Para isso, foi realizado o teste rápido imunocromatográfico para *Ehrlichia canis* e avaliação de esfregaços sanguíneos em lâmina, com o intuito de constatar presença de mórulas de *Ehrlichia* spp. no interior de monócitos/ linfócitos e *Babesia* spp. diretamente nos eritrócitos. Verificou-se que dos 40 animais testados, 19 (47,5%) foram positivos para hemoparasitoses em pelo menos um dos métodos de diagnóstico e apenas um animal (2,5%) foi positivo para *Babesia* spp. Não houve diferença estatística entre sexos, apesar de que numericamente serem observadas mais fêmeas positivas para *Ehrlichia* spp. Conclui-se que as hemoparasitoses são acometem um grande número de cães na região do sertão paraibano e que não há predileção por sexo ou idade. O teste rápido mostrou-se um método eficaz, que contribui significativamente para o auxílio no diagnóstico de erliquiose canina.

Palavras-chave: Animais. Hematozários. Rickettsiaceae.

**ABSTRACT:** *Ehrlichia canis* and *Babesia canis* are the main agents causing hemoparasitosis in dogs in Brazil; these diseases are transmitted by the red dog tick (*Rhipicephalus sanguineus*) and their incidence is closely related to the presence of this vector in the environment. The animals that develop ehrlichiosis and babesiosis present clinical manifestations such as anemia, thrombocytopenia, apathy, anorexia, emesis and hemorrhage. The evolution of these disease occurs quickly and can lead the animal to death, being necessary diagnosis and effective treatment. Therefore, this work aimed to perform the diagnosis of hemoparasitoses caused by *Ehrlichia* spp. and *Babesia* spp. in 40 animals treated in the HV-IFPB, with clinical suspect, in the period from 06/10/2016 to 05/10/2016. For this purpose, the immunochromatographic rapid test for *Ehrlichia canis* and blood smears on a slide were carried out, in order to verify the presence of *Ehrlichia* spp. within monocytes / lymphocytes and *Babesia* spp. directly into erythrocytes. Of the 40 animals tested, 19 (47.5%) were positive for hemoparasitoses in at least one of the diagnostic methods and only one animal (2.5%) was positive for *Babesia* spp. There was no statistical difference between the sexes, although more females were positively observed with *Ehrlichia* spp. It is concluded that hemoparasitoses are a large number of dogs in the region of the Paraíba hinterland and that there is no predilection for sex or age. The rapid test proved to be an effective method, which contributes significantly to the aid in the diagnosis of canine ehrlichiosis.

**Key Words:** Animals. Hematozoarys. Rickettsiaceae.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Esfregaço sanguíneo em lâmina e visualização de mórula de <i>Ehrlichia</i> spp. no interior de neutrófilo.....	20
Figura 2 – Comparação de teste rápido negativo e positivo, demonstrando a linha “T” conforme descrito pela fabricante.....	20
Figura 3: Neutrófilo de um cão, parasitado por <i>Ehrlichia</i> spp.; mórula visualizada em microscópico óptico com aumento de 100x.....	23
Gráfico 1 – Principais alterações hematológicas constatadas na avaliação de hemograma dos animais positivos para <i>Ehrlichia</i> spp. ou <i>Babesia</i> spp.....	25

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1– Comparação entre resultados obtidos através da avaliação do esfregaço sanguíneo e teste rápido da Alere™.....	24
Tabela 2 – Principais sinais clínicos apresentados pelos animais foram positivos à <i>Ehrlichia</i> spp. ou <i>Babesia</i> spp.....	25

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

°C - Graus Celsius

DNA - Deoxyribonucleic Acid (Ácido Desoxirribonucleico)

HV-IFPB – Hospital Veterinário do Instituto Federal da Paraíba

IgG - Imunoglobulina G

IgM - Imunoglobulina M

Kg - Quilograma

Mg - Miligrama

ml – Mililitro

PCR - Polymerase Chain Reaction (Reação em Cadeia da Polimerase)

µm – Micrômetro

µL – Microlitro

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	10
<b>2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b> .....	12
<b>2.1 Histórico de <i>Ehrlichia canis</i> e <i>Babesia canis</i></b> .....	12
<b>2.2 Etiologia</b> .....	12
<b>2.3 Transmissão</b> .....	13
<b>2.4 Sintomatologia</b> .....	14
<b>2.5 Diagnóstico</b> .....	15
<b>2.5.1 Esfregaço sanguíneo</b> .....	15
<b>2.5.2 Teste imunocromatográfico</b> .....	16
<b>2.5.3 Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)</b> .....	16
<b>2.6 Tratamento</b> .....	17
<b>2.7 Prognóstico</b> .....	17
<b>2.8 Controle e profilaxia</b> .....	18
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	19
<b>3.1 Amostragem</b> .....	19
<b>3.2 Exames, testes e diagnóstico</b> .....	19
<b>3.2.1 Esfregaço sanguíneo</b> .....	19
<b>3.2.2 Teste Rápido</b> .....	20
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	22
<b>5 CONCLUSÕES</b> .....	27
<b>6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	28

## 1 INTRODUÇÃO

Hemoparasitoses são aquelas doenças causadas por agentes que se hospedam no interior das células sanguíneas, sejam elas constituintes da série branca ou vermelha. Os agentes etiológicos mais comuns dessas enfermidades que parasitam o cão são a Ricketisia: *Ehrlichia* spp., a Mycoplasmatacea: *Mycoplasma haemocanis* e os protozoários: *Babesia* spp. e *Hepatozoon* spp. (MUNDIM et al., 2008). Essas doenças, quase sempre são transmitidas através da picada do vetor, que é o *Rhipicephalus sanguineus*, conhecido como “carrapato vermelho do cão”. Segundo Labruna & Pereira (2001), esse vetor é o mais comum nas áreas urbanas do Brasil e responsável pela transmissão das hemoparasitoses.

Na erliquiose, após o cão ser picado pelo carrapato infectado, o período de incubação varia entre sete a 21 dias. Na fase aguda da doença, a *E. canis* replica-se nas células sanguíneas mononucleares; apresentando os sinais clínicos: febre, perda de apetite, dispnéia, manchas avermelhadas na pele (petéquias e equimoses), sinais oftálmicos (uveíte), sinais neurológicos (convulsões, incoordenação) e poliartrite. Na fase crônica, o animal pode apresentar os mesmos sinais da fase aguda, porém atenuados, encontrando-se apático, caquético e com susceptibilidade aumentada a infecções secundárias (SILVA, 2015). Destaca-se ainda que segundo a erliquiose é uma doença muito frequente no Brasil. (LABARTHE et al. 2003)

Para *B. canis*, os parasitos se multiplicam no interior das hemácias por divisão binária, resultando dois indivíduos piriformes, ligados entre si pelas suas extremidades mais afiladas. Os elementos piriformes são libertados pela ruptura da hemácia ou se dividem novamente no interior da célula, produzindo infecção múltipla. Os glóbulos vermelhos parasitados mostram-se hipertrofiados, podendo englobar até 16 elementos piriformes (ANTONIO, 2009). Nelson & Couto (2015) relatam que a babesiose resulta em anemia e febre, levando a palidez das membranas mucosas, taquicardia, taquipnéia, depressão, anorexia e fraqueza.

Embora o carrapato esteja presente em todas as estações do ano, essas doenças podem adquirir caráter endêmico em um determinado período do ano, tendo em vista a sazonalidade favorável ao *Rhipicephalus sanguineus*, com maior umidade e temperatura ou ainda desfavoráveis, como frio e baixa umidade, sendo estes, fatores determinantes para observância maior ou menor de quadros de hemoparasitoses em cães. O verão brasileiro é a estação em que a frequência de aparecimentos da erliquiose aumenta, pelo fato de ser ideal à reprodução dos carrapatos (SOUZA et al., 2012).

O diagnóstico da erliquiose e babesiose normalmente é realizado através dos sinais clínicos, histórico da presença do carrapato nos animais e solicitação de exames como hemograma e pesquisa de hemoparasitas no esfregaço sanguíneo. Os exames mais sensíveis como o teste imunocromatográfico, reação de imunofluorescência indireta (RIFI), reação em cadeia da polimerase (PCR) ainda são pouco utilizados na rotina.

Apesar da severidade dessas doenças, o tratamento é relativamente simples com administração de fármacos da classe das tetraciclinas, sendo a doxiciclina o de eleição para erliquiose, e o dipropionato de imidocarb para babesiose. Atrelado a isso, aporte nutricional e vitamínico são vitais para fornecer condições favoráveis ao organismo animal, bem como a terapêutica de suporte para controlar quadros de hipertermia, êmese, e desidratação.

Os testes imunocromatográficos são métodos de diagnóstico com percentual de sucesso próximo a 100%. Conhecidos como “testes rápidos”, podem ser realizados no próprio ambulatório veterinário, conferindo rapidez no resultado e simplicidade quanto à execução, uma vez que, coletada a amostra, a mesma é depositada no local indicado pelo teste e um reagente específico é adicionado que seguindo as especificidades de cada teste; após o tempo determinado, o resultado é então obtido como positivo (reagente) ou negativo (não reagente).

As hemoparasitoses podem culminar em óbito nos casos de tratamento tardio ou mal realizado, além dos custos que geram aos proprietários e sofrimento para animais acometidos. De modo geral, a importância dessas enfermidades aliada à grande ocorrência constatada em outras regiões e o real potencial lesivo da mesma, faz-se necessários estudos que aprofundem o conhecimento sobre o assunto na região do alto sertão Paraibano. Portanto, o presente estudo objetivou realizar o diagnóstico de cães com suspeita clínica de hemoparasitoses, erliquiose e babesiose, atendidos no Hospital Veterinário do IFPB Campus Sousa (HV-IFPB) e ainda comparar o esfregaço sanguíneo com o teste de imunocromatografia para o diagnóstico de *Ehrlichia* spp.

## 2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### 2.1 Histórico de *Ehrlichia canis* e *Babesia canis*

O agente da erliquiose canina foi descrito pela primeira vez em cães por Donatien & Letosquard em 1935 na Argélia (VIEIRA et al., 2011). O primeiro relato da *E. canis* no Brasil foi descrito por Costa em 1973 em Belo Horizonte, no estado de Minas Gerais (COSTA et al., 1973). Desde então, estudos e aprofundamento na pesquisa, levaram a disseminação do conhecimento a respeito, o que facilitou o aprimoramento do diagnóstico e tratamento da erliquiose em cães.

O parasita da babesiose canina foi observado pela primeira vez, na Itália. Posteriormente, a doença foi diagnosticada em outros países da Europa, na América, na Ásia e na África (ANTONIO et al., 2009). No Brasil, Pestana (1918), descreveu uma nova espécie de agente etiológico à qual denominou *Piroplasma vitalii*, pela primeira vez em São Paulo.

### 2.2 Etiologia

*Ehrlichia* spp. são bactérias gram-negativas da família Rickettsiaceae, pleomórficas, intracelulares obrigatórias que infectam uma ampla variedade de mamíferos. O gênero incluiu 10 espécies classificadas com base na célula hospedeira infectada: monócitos (*E. canis*, *E. risticii*, *E. sennetsu*), granulócitos (*E. ewingii*, *E. equi*, *E. phagocytophila* agente da erliquiose granulocítica humana [HGE]) e trombócitos (*E. platys*) (VIEIRA et al., 2011). São parasitas intracelulares obrigatórios de células hematopoiéticas maduras ou imaturas, especialmente do sistema fagocitário mononuclear. Monócitos e macrófagos e, para algumas espécies, em células mielóides, como neutrófilos podem estar parasitadas (ANDEREG & PASSOS, 1999).

Os microrganismos que estão associados com a erliquiose monocitotrófica em cães naturalmente infectados incluem *E. canis*, *E. chaffeensis* e *Neorickettsia risticii* variante *atypicalis*. *E. canis* é o agente mais comum e que leva a um quadro clínico mais grave da doença (OLIVEIRA et al., 2000; DAGNONE et al., 2003; NELSON & COUTO, 2015).

*E. canis* mede 0,2 µm x 0,4 µm de diâmetro e tem um ciclo constituído de três fases principais: penetração dos corpos elementares nos monócitos, onde permanecem por dois dias, multiplicação do agente por um período de três à cinco dias com formação do corpo inicial e por fim, formação da mórula; o período de incubação desta doença se dá entre sete a 21 dias (SILVA, 2015).

A babesiose canina é causada por um protozoário intracelular do gênero *Babesia*. Em cães está mais comumente associada com *B. canis*, *B. rossi*, *B. vogeli*, *B. gibsoni* e *B.*

*conradae*. Esses protozoários parasitam os glóbulos vermelhos do sangue (hemácias) e estão frequentemente relacionados com o desenvolvimento da anemia e dos sinais associados (NELSON & COUTO, 2015). No Brasil, a *B. canis vogeli* é a principal Babesia de cães (VIDOTTO & TRAPP, 2004). *B. canis* por sua vez, é um parasito do grupo das grandes babesias, mede em torno de 2,4 µm x 5,0 µm e geralmente se apresenta aos pares no interior das hemácias (HOSKINS, 1991). A *B. canis* apresenta-se sob as formas arredondadas, irregulares e em pêra. Formas arredondadas ou amebóides podem ser encontradas extracelulares, no plasma sanguíneo (ANTONIO et al., 2009).

### 2.3 Transmissão

A erliquiose canina é transmitida pela picada do carrapato *Rhipicephalus sanguineus*, que inocula o microrganismo por meio de sangue infectado para um cão hígido no momento do repasto (MOYA-ARAUJO et al., 2012). Outra maneira de transmissão da enfermidade, esta bem menos comum, é por meio da transfusão sanguínea, pelo sangue infectado de um cão para outro sadio (SILVA, 2015) assim como na babesiose (TILLEY & SMITH, 2003).

Como não ocorre transmissão transovariana da *E. canis* no carrapato (NELSON & COUTO, 2015) é necessário que o mesmo tenha ingerido sangue de cães infectados na fase aguda contendo o agente que se multiplica no interior do mesmo, mantendo-se vivo por até cinco meses. O vetor passa a transmitir a *Ehrlichia* em três a cinco dias após a sua contaminação. Ao efetuar o repasto sanguíneo, o vetor faz a inoculação da *E. canis* no cão, no qual a doença poderá desencadear-se (SOUZA et al., 2012).

No vetor, pode ocorrer a transmissão transtadial de *B. canis* se o carrapato se infectar no estágio de larva ou ninfa e se alimentar como ninfa ou adulto em um outro hospedeiro; ou ainda a transmissão transovariana se a fêmea adulta se infectar e transmitir o parasita à futura geração via ovários. A babesiose canina pode manifestar-se sob as formas subclínica, aguda, hiperaguda ou crônica (VIDOTTO & TRAPP, 2004).

Todas as fases evolutivas do *R. sanguineus* podem transmitir a infecção de *B. canis* (ANTONIO, et al., 2009). Foi verificada a transmissão placentária de *B. canis*, com a sintomatologia de: apatia, anorexia e acentuada icterícia, em cães recém-nascidos que morreram 12 horas após o nascimento (CORRÊA, 1974). A babesiose pode também ser transmitida através de agulhas, por via transplacentária ou mesmo por via horizontal, através de mordeduras (SEIXAS et al., 2011).

Na transmissão da babesiose, durante a hematofagia, os ixodídeos infectados libertam na circulação sanguínea do hospedeiro, juntamente com a sua saliva, esporozoítos infectantes.

Estes penetram nos eritrócitos caninos onde sofrem um processo de multiplicação por divisão binária, provocando a ruptura dos eritrócitos infectados, o que permite a libertação de novos merozoítos prontos a invadir mais eritrócitos (SEIXAS, et al. 2011).

## 2.4 Sintomatologia

Letargia, no qual o cão se apresenta apático, ou seja, sem vontade de brincar ou correr; perda de apetite (anorexia) e de peso; febre; sangramentos nas gengivas e demais mucosas sem lesão mecânica aparente; palidez das mucosas (anemia); alterações respiratórias com aumento da frequência, como se estivesse permanentemente cansado; alterações na forma de caminhar, como se o paciente perdesse o equilíbrio e apresentasse dificuldade para deambular; e/ou inchaço nos membros são inerentes à erliquiose (SOUZA et al., 2012).

As células mononucleares infectadas marginadas em pequenos vasos ou as que migraram dos tecidos endoteliais induzem vasculite durante a fase aguda, que se inicia em uma a três semanas após a infecção e tem duração de duas a quatro semanas. A fase assintomática dura de meses a anos e em alguns cães, o microrganismo persiste intracelularmente, levando à fase crônica da infecção, que nesse último estágio, muitas das anormalidades clínicas e clinicopatológicas que são desenvolvidas, são reações imunes contra o microrganismo intracelular (NELSON & COUTO, 2015).

Na erliquiose, a destruição das plaquetas e a persistente trombocitopenia tende a provocar hemorragias em membranas, mucosas, ou em outros sistemas orgânicos. A anemia ocorre devido à leucopenia na fase aguda e à hipoplasia da medula óssea na fase crônica (CHIARI, 2010).

Segundo Nelson & Couto (2015), as anormalidades clínicas associadas à infecção por *E. canis* em cães na fase assintomática apresenta-se sem alterações clínicas e ausência de ixodidiose. Na fase aguda, febre, secreção oculonasal purulenta ou serosa, anorexia, perda de peso, dispneia, linfadenopatia, ixididiose podem ser constatadas. Já na fase crônica, ausência de ixididiose, depressão, perda de peso, palidez de mucosas, dor abdominal, hemorragias, linfadenopatia, esplenomegalia, dispneia, alterações oculares, convulsões, hepatomegalia, arritmias e déficit de pulso, poliúria e polidipsia, rigidez e edema em articulações costumam ocorrer. Nas anormalidades clinicopatológicas, pode-se constatar trombocitopenia em todas as fases e anemias nas fases aguda e crônica.

A babesiose canina pode manifestar-se sob as formas subclínica, aguda, hiperaguda ou crônica (VIDOTTO & TRAPP, 2004). Resulta em anemia e febre, levando a palidez das membranas mucosas, taquicardia, taquipnéia, depressão, anorexia e fraqueza. Icterícia,

petéquias e hepatoesplenomegalia estão presentes em alguns cães dependendo do estágio da infecção e da presença de coagulação intravascular disseminada. A anemia grave, a coagulação intravascular disseminada, acidose metabólica e a doença renal são mais comuns durante a infecção aguda (NELSON & COUTO, 2015).

Para Vidotto & Trapp (2004), os achados clínicos de acordo com a forma de apresentação da babesiose em cães se dá a depender da forma clínica da babesiose; sendo que na hiperaguda, acidose metabólica, choque, coagulação intravascular disseminada, estase vascular, hipóxia, síndrome da resposta inflamatória sistêmica, síndrome da disfunção de órgãos múltiplos; na fase aguda, anemia hemolítica, anorexia, esplenomegalia, febre, hematúria, icterícia, letargia, linfadenomegalia; por fim, na fase crônica, diminuição do apetite, febre intermitente e diminuição da *performance* em cães de corrida.

## 2.5 Diagnóstico

O diagnóstico da erliquiose é feito tanto através dos sinais clínicos, como pelas alterações laboratoriais provocadas pela doença no hemograma, sendo a anemia e a trombocitopenia as mais evidentes e a visualização de mórulas de *Ehrlichia* spp. em neutrófilos (SILVA, 2015) além da visualização de mórulas em monócitos, imunocromatografia e PCR. Na babesiose canina, os métodos para diagnóstico baseiam-se na observação direta do agente ou de seus componentes ou na detecção de anticorpos (VIDOTTO & TRAPP, 2004).

### 2.5.1 Esmregaço sanguíneo

A detecção de mórulas de *E. canis* no esfregaço sanguíneo é incomum, exceto na fase aguda da doença (HIBBLER et al., 1986). Porém, o diagnóstico pode ser concluído, com a observação de mórulas e/ou granulações (corpúsculos iniciais de *E. canis*) intracitoplasmáticas (monócitos/ linfócitos), observados em lâminas coradas (MYLONAKIS et al., 2003). Muitas vezes, visualiza-se o agente (mórulas) no interior dos neutrófilos; achado destas estruturas fecha o diagnóstico de maneira clara e definitiva, mas a não observância delas não descarta a enfermidade (SILVA, 2015). Nelson & Couto (2015), citam que amostras coletadas de vasos periféricos do pavilhão auricular podem aumentar as chances de encontrar mórulas, porém Mundim et al., (2008), não constataram tal eficácia, uma vez que em seu trabalho, verificaram um maior número de diagnóstico de hemoparasitoses em amostras provenientes de sangue circulante.

Na babesiose, o agente pode ser visualizado diretamente nos eritrócitos em esfregaços sanguíneos (TABOADA, 1998) o que confirma o diagnóstico, porém, como a parasitemia é variável, é dificultada a visualização de eritrócitos circulantes parasitados (VERCAMMEN et al., 1995). A não detecção do parasita em esfregaço sanguíneo não implica na ausência de infecção (VIDOTTO & TRAPP, 2004).

### 2.5.2 Teste imunocromatográfico

Segundo a fabricante ALERE™ (2013), trata-se de uma técnica de imunoensaio que visa detectar qualitativamente a presença de anticorpos IgG e IgM anti *E. canis* em amostras de sangue, plasma ou soro. É adicionado 10µL de amostra no local indicado no cacete do teste, seguido de duas gotas do tampão fornecido no kit. Após 20 minutos faz-se a avaliação do teste, no qual irá apresentar-se positivo ou negativo. Possui taxa de 99,0% para especificidade e 97,6% para sensibilidade, sendo um método de diagnóstico seguro e acessível para a rotina de médicos veterinários.

Pela dificuldade em obter teste imunocromatográfico para *B. canis* ou outros tipos de *Ehrlichia*, é disponível no mercado o teste para o tipo que mais acomete os cães atualmente, que é a *E. canis*.

### 2.5.3 Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)

A reação da polimerase em cadeia possibilita a amplificação de pequenas amostras de DNA até um nível grande o suficiente para permitir a identificação. Para o PCR, um par de iniciadores ou primers (uma única fita curta de DNA, específica para o gene que se quer estudar) que complementam a fita oposta da seqüência de DNA a ser amplificada (uma amostra de DNA a ser identificada) são empregados. (CURY, et al., 2005).

A amplificação de DNA através da técnica de PCR tem promovido maior sensibilidade, especificidade e confiabilidade no diagnóstico direto de *E. canis* (IQBAL et al., 1994). Pela técnica Nested PCR, é possível identificar positivos para *E. canis* pela a presença do segmento do gene de ARNr 16S (BULLA et al., 2004) e fragmento do gene 18S rRNA para *Babesia* spp. (SPOLIDORIO et al., 2011).

Segundo Nelson & Couto (2015), o cão infectado por *E. canis*, apresenta-se PCR positivo em todas as fases da doença e exames sorológicos e essa técnica também é normalmente utilizada para o diagnóstico da babesiose.

Para Silva (2015), o PCR já é uma realidade para os clínicos, principalmente nos casos de recidiva dos sinais clínicos e laboratoriais, quando então se torna importante confirmar a presença do parasito para descartar outras causas de anemia e trombocitopenia.

## 2.6 Tratamento

O tratamento de suporte deve ser instituído, de modo a combater a sintomatologia da doença, como êmese, diarreia e desidratação, bem como fornecer aporte nutricional para resposta do animal em quadros anêmicos, com uso de vitaminas e minerais (polivitamínicos) e melhoria na qualidade da alimentação ofertada ao cão. A depender do grau da anemia, transfusões sanguíneas, correção da acidose e fluidoterapia podem ser adotadas. O uso da doxiciclina na dose de 10mg/kg via oral, a cada 24 horas durante pelo menos 28 dias é o indicado; o emprego da mesma na dose de 5 mg/kg via oral, a cada 12 horas pelo mesmo período também pode ser eficaz. O uso de anabolizantes esteróides e outros estimulantes da medula óssea podem ser administrados. A prednisona 2,2 mg/kg via oral a cada 12 horas durante os primeiros 3 ou 4 dias após o diagnóstico, pode ser benéfica em certos casos. (NELSON & COUTO, 2015).

Para babesiose, aceturato de diminazeno, na dose de 3,5 mg/kg administrada uma única vez por via intramuscular, é o fármaco mais comumente utilizado no tratamento da babesiose canina. Dipropionato de imidocarb é eficaz no tratamento de *B. canis* com poucos efeitos adversos como, salivação, diarreia e depressão (VIDOTTO & TRAPP, 2004).

O dipropionato de imidocarb, administrado em dosagem de 5 mg/kg, via subcutânea, e repetido em quinze dias, é altamente efetivo em cães com erliquiose refratária e em cães com infecções mistas por *E. canis* e a *B. canis* (COUTO, 1998).

Apesar de o dipropionato de imidocarb ser efetivo tanto para a *E. canis* quanto para *B. canis*, os seus efeitos colaterais como: salivação intensa, secreção ocular serosa, diarreia, dispnéia ou depressão, apresentam-se como entraves a sua utilização, sendo indicado um pré-tratamento com sulfato de atropina (0,02 a 0,04 mg/kg via endovenosa) para evitar o surgimento de tais efeitos anticolinérgicos (BRANDÃO & HAGIWARA, 2004).

## 2.7 Prognóstico

O prognóstico em caninos depende da fase na qual a doença foi diagnosticada e, do início, eficiência e eficácia da terapia. A precocidade no diagnóstico e tratamento melhoram sobremaneira as chances de cura. Em cães nas fases iniciais da doença, observa-se melhora do quadro clínico após 24 a 48 horas do início do tratamento. O prognóstico geralmente é

favorável na maioria dos casos (fase aguda), mas em cães com erliquiose crônica e comprometimento de medula óssea, é reservado (SOUZA et al., 2012). Para babesiose, o prognóstico é bom, porém muitos animais tratados permanecem como portadores da doença, podendo dessa forma ocorrer recidivas (JONES, 2000).

## **2.8 Controle e profilaxia**

O combate ao vetor é o principal método de prevenção das hemoparasitoses. O uso de fármacos carrapaticidas ambientais e de uso tópico nos cães são métodos que devem ser adotados naquelas localidades onde não há controle do *Rhipicephalus sanguineus*, como em locais de grandes concentrações de animais. A desinfecção do ambiente deve ser realizada, de modo a combater as larvas do carrapato (SILVA, 2009).

Também pode ser realizado dedetização do ambiente com produtos à base de piretróides com carrapaticidas de aplicação direta no animal hospedeiro (Fipronil, Selamectina, Flumethrin, Permethrin, Amitraz e Organofosforados) (Labruna & Pereira, 2001).

### **3 MATERIAL E MÉTODOS**

O presente trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Imunologia e Doenças Infectocontagiosas (LIDIC) em conjunto com o Laboratório de Parasitologia Veterinária (LPV) no Hospital Veterinário (HV) do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia da Paraíba – IFPB, Campus Sousa, Unidade São Gonçalo, onde foram efetuados estudo, identificação e diagnóstico das hemoparasitoses em cães.

#### **3.1 Amostragem**

As amostras recebidas para o desenvolvimento deste projeto foram oriundas de cães atendidos no setor de Clínica Médica de Pequenos Animais do HV-IFPB, mediante avaliação clínica de um médico veterinário da Instituição que constatasse a junção de sinais clínicos condizentes com hemoparasitoses que acometem cães, no período letivo enquadrado entre o dia 10/06/2016 à 05/10/2016. O material recebido foi sangue venoso de cães, sendo estes acondicionados em tubos próprios acompanhados de ficha de solicitação de exames contendo dados do animal, histórico clínico e anamnese. Tornou-se então, no âmbito da pesquisa, preferíveis e reconhecidas como “padrão”, aquelas amostras coletadas que foram acondicionadas em tubos próprios contendo EDTA, mantidos em refrigeração de 2° à 7°C por até 24 horas. Não foram aceitos, tampouco contabilizadas como amostras, sangue coagulado, com quantidade inferior a 0,5 ml (meio mililitro) ou de animais não consultados por médico veterinário do HV-IFPB.

#### **3.2 Exames, testes e diagnóstico**

Foram adquiridos testes imunocromatográficos de detecção qualitativa de anticorpos (IgG e IgM) anti *E. canis* (teste rápido para Erliquiose Canina), seringas, agulhas, anticoagulantes, de modo a atender à demanda de testes no decorrer de um período letivo.

Devido à impossibilidade de aquisição de testes imunocromatográficos para as demais hemoparasitoses, como *B. canis*, o método de diagnóstico desta baseou-se através de esfregaço sanguíneo, técnica essa a ser descrita no tópico a seguir.

##### **3.2.1 Esfregaço sanguíneo**

O primeiro exame realizado foi o esfregaço sanguíneo em lâmina, que recebeu a coloração do tipo panótico rápido, onde posteriormente, foi efetuada a pesquisa em microscópio óptico, visando encontrar hemoparasitas nas células sanguíneas, atentando para a

predileção de cada um daqueles para com estas. A técnica de coloração ocorreu segundo o proposto pela fabricante Laborciclin LTDA (2003).

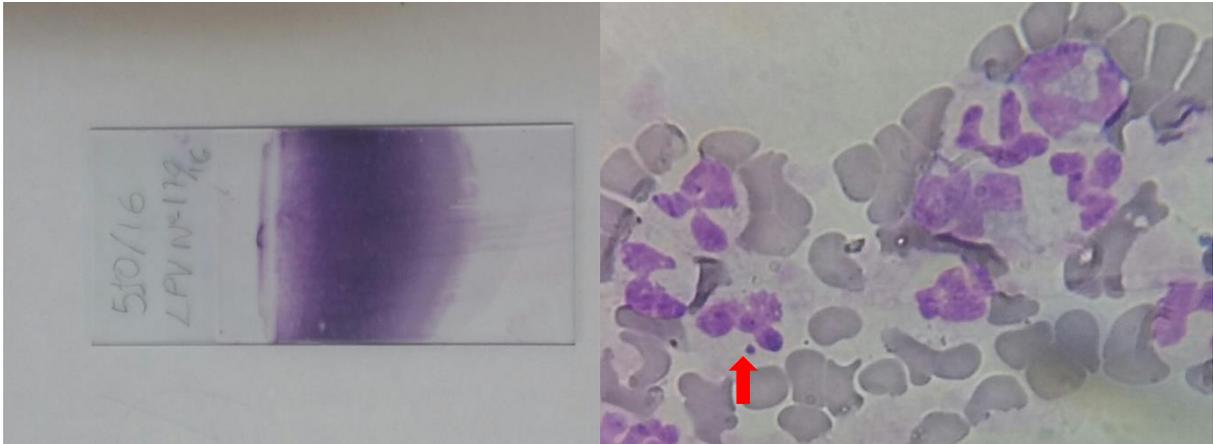


Figura 1 – Esfregaço sanguíneo e lâmina (esquerda) e visualização de mórula de *Ehrlichia* spp. no interior de neutrófilo (seta).

Fonte: Silva Neto (2017).

### 3.2.2 Teste Rápido

Os testes rápidos utilizados, foram o Alere Erliquiose Ac Test Kit, que é um imunoenensaio imunocromatográfico para detecção qualitativa de anticorpos (IgG e IgM) anti *E. canis*. Para se efetuar o teste e a interpretação do seu resultado, foi procedido como descrito pelo fabricante Alere™ (2013).



Figura 2 – Comparação de teste rápido negativo (seta azul) e positivo (seta vermelha), demonstrando a linha “T” conforme descrito pela fabricante.

Fonte: Silva Neto (2017).

Ainda segundo o fabricante, os testes rápidos utilizados, possuem 97,6% para sensibilidade e 99,0% para especificidade, tendo assim, uma margem altíssima de diagnóstico confirmatório. Foram efetuados concomitantemente no Laboratório de Patologia Clínica do

HV-IFPB, hemogramas dos animais como um adjuvante nos diagnósticos, já que tiveram seus dados analisados, de modo que o diagnóstico baseou-se em um conjunto de avaliações.

### **3.3 Análise dos dados**

Foi realizada análise estatística descritiva e para as variáveis: sexo e idade, realizada através do teste Fischer, com significância de 5%.

#### 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante a realização deste trabalho foram atendidos no setor de clínica de pequenos animais do HV-IFPB 114 cães, dos quais 35% (40 animais) receberam o diagnóstico clínico presuntivo de hemoparasitose, demonstrando a importância dessa enfermidade na região estudada. Mundim et al., (2008) também verificaram em sua pesquisa, que os hemoparasitos continuam sendo altamente prevalentes, com grande importância para a clínica veterinária; Labarthe et al., (2003) cita que a erliquiose trata-se de uma doença muito frequente no Brasil.

Verificou-se que dos 40 animais testados, 19 (47,5%) foram positivos para hemoparasitoses em pelo menos um dos testes de diagnóstico utilizados no estudo (esfregaço sanguíneo e teste rápido imunocromatográfico), sendo que dentre os positivos, todos apresentaram infecção por *Ehrlichia* spp. e apenas um animal foi positivo para *Babesia* spp., corroborando com os estudos realizados por Borin et al. (2009) e Pires et al., (2011), quando constataram que a grande maioria dos cães positivos à pesquisa de hemoparasitas em esfregaço sanguíneo, apresentaram *Ehrlichia* spp. como mais prevalente. Em contrapartida, Silva et al., (2014) observaram que o *Hepatozoon* spp. ocorreu em maior frequência em comparação com *Ehrlichia* spp. e *Babesia* spp. em estudo realizado no município de Abadia dos Dourados - MG.

Dentre amostras recebidas no laboratório com suspeita clínica de hemoparasitose, 55% (22/40) foram provenientes de fêmeas, enquanto que 45% (18/40) foram de cães machos. Observou-se que das amostras positivas, 57,9% (11/19) foram provenientes de cadelas, ao passo que 42,1% (8/19) de cães machos resultado este, semelhante ao encontrado por Borges et al., (2016) no município de Araxá – MG que constatou 57,5% para fêmeas e 42,5% para machos positivos à *E. canis*. Porém, no presente trabalho, não foi observada diferença estatística ( $p > 0,05$ ). Assim como no presente estudo, Silva et al., (2010) e Sousa et al., (2010), não encontraram predisposição quanto ao sexo dos animais, enquanto que Borin et al. (2009) constatou maior prevalência de mórulas de *Ehrlichia* spp em fêmeas.

Quanto à idade, apenas 36,9% (7/19) foram animais jovens, com idade inferior a um ano, enquanto 63,1% (12/19) se tratavam de animais adultos, acima de um ano de idade. Apesar da grande maioria de animais positivos pertencerem à faixa etária maior que um ano, estatisticamente não foi observado diferença ( $p > 0,05$ ). Sousa et. al (2010) também não encontraram relação significativa entre as faixas etárias.

Apenas um cão (2,5%) foi positivo para *Babesia* spp. através da visualização do parasita no esfregaço sanguíneo. A grande quantidade de animais negativos pode ser explicado por haverem positivos que não foram constatados na avaliação do esfregaço

sanguíneo, visto que Vercammen et al. (1995), constatou que visualização de eritrócitos circulantes parasitados por *Babesia* spp. é dificultada pelo fato de a parasitemia ser variável assim como Vidotto & Trapp (2004), afirmarem que a não detecção do parasita em esfregaço sanguíneo, não implica na ausência de infecção.

Das amostras recebidas, 45% dos cães (18/40) foram reagentes positivos para *E. canis* no teste rápido. Dos 19 animais positivos, apenas um diagnóstico (5,3%) foi concluído como positivo apenas pela visualização da mórula de *Ehrlichia* spp., discordando do resultado negativo obtido através do teste rápido realizado com amostra do mesmo animal, o que pode ser explicado pelas informações da fabricante Alere™ (2013) presentes na descrição do produto Alere™ Erliquiose Ac Teste Kit, no qual relata que embora o teste seja muito preciso na detecção do anticorpo anti *E.canis*, o mesmo está sujeito a limitações, já que, uma baixa incidência de resultados falsos podem ocorrer devido à fase da doença em que o animal se encontra e que um diagnóstico clínico definitivo, não deve ser baseado no resultado de apenas um único teste, mas deve ser feito pelo médico veterinário depois de todos os achados clínicos e laboratoriais terem sido avaliados. Ainda pode ser acrescentado, o fato da fase em que o animal se encontrava na doença, de modo a não haver período hábil para produção de anticorpos eficientes, ou ainda devido a idade jovem, por receber a interferência da imunidade materna recebida.

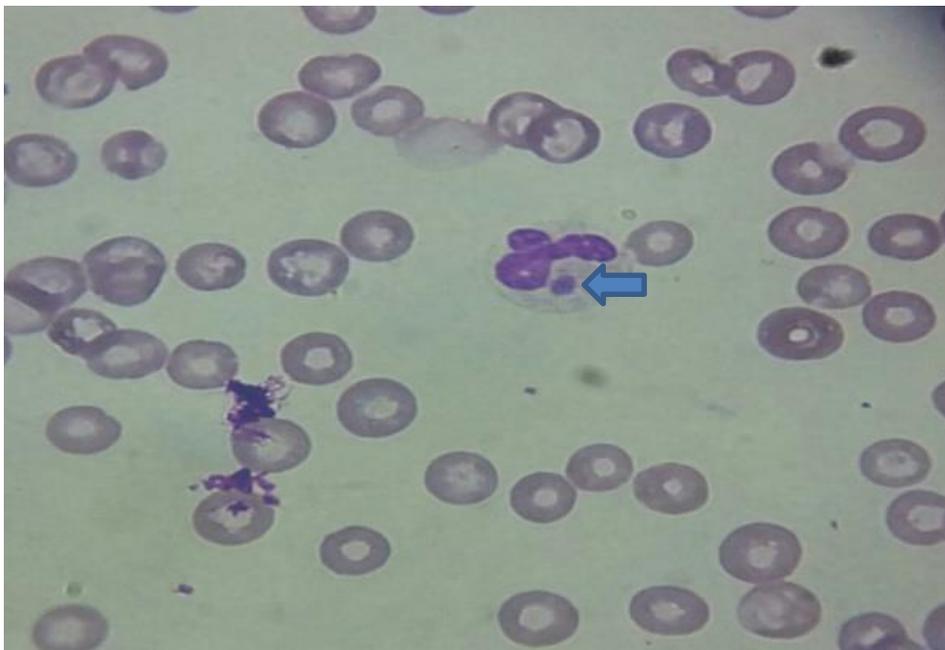


Figura 3: Neutrófilo de um cão parasitado por mórula de *Ehrlichia* spp. (seta) visualizado em microscópio óptico com aumento de 100x.

O animal em questão era uma fêmea, com três meses de idade, sem raça definida, errante, que foi encontrada e conduzida ao HV-IFPB para avaliação clínica, na qual, dentre outras alterações, foi levantada a suspeita clínica para hemoparasitose, pois apresentava

presença de carrapatos, linfadenopatia de linfonodos palpáveis, palidez de membranas mucosas, hiporexia, desidratação e letargia; sinais clínicos esses que estão incluídos nos citados por Souza et al., (2012) e Nelson & Couto (2015) para erliquiose canina. Com a amostra da paciente em questão, foi realizado o teste rápido para erliquiose, o qual concluiu como não reagente (negativo), e realizado o esfregaço sanguíneo, que após observado em microscópico óptico, encontrou-se a mórula de *Ehrlichia* spp. no interior de um neutrófilo, achado esse que segundo Silva (2015), fecha o diagnóstico de maneira clara e definitiva. O teste rápido foi repetido após sete dias do início do tratamento, o qual também foi negativo.

Em apenas oito dos 19 (42,1%) cães positivos foi possível visualizar mórulas de *Ehrlichia* spp. no interior de monócitos/linfócitos. O baixo número de positivos no esfregaço sanguíneo em relação aos confirmados pelo teste rápido (8/18), pode ser atribuída à fase da doença que o animal se encontra, pois segundo Hibbler et al. (1986), a detecção de mórulas de *E. canis* no esfregaço sanguíneo é incomum, exceto na fase aguda da doença. Nelson & Couto (2015) cita ainda que há maiores chances de encontrar mórulas em amostras provenientes de sangue periférico. Dos animais positivos para *Ehrlichia* spp., 94,7% (18/19) reagiram positivamente no teste rápido e 42,1% (8/19) na visualização de mórulas de *Ehrlichia* spp. em monócitos/linfócitos no esfregaço sanguíneo. Os cães que receberam diagnóstico positivo mútuo tanto no teste rápido, quanto na avaliação do esfregaço sanguíneo totalizaram 36,8% (7/19); os que receberam diagnóstico somente pelo teste rápido representaram 57,9% (11/19), apenas 5,3% (1/19) foi positivo somente pelo esfregaço sanguíneo (Tabela 1).

Tabela 1– Comparação entre resultados obtidos através da avaliação do esfregaço sanguíneo e teste rápido da Alere™.

Avaliação de esfregaço	Alere™	
	Positivos	Negativos
Positivos	7 (36,8%)	1 (5,3%)
Negativos	11 (57,9%)	21 (52,5%)

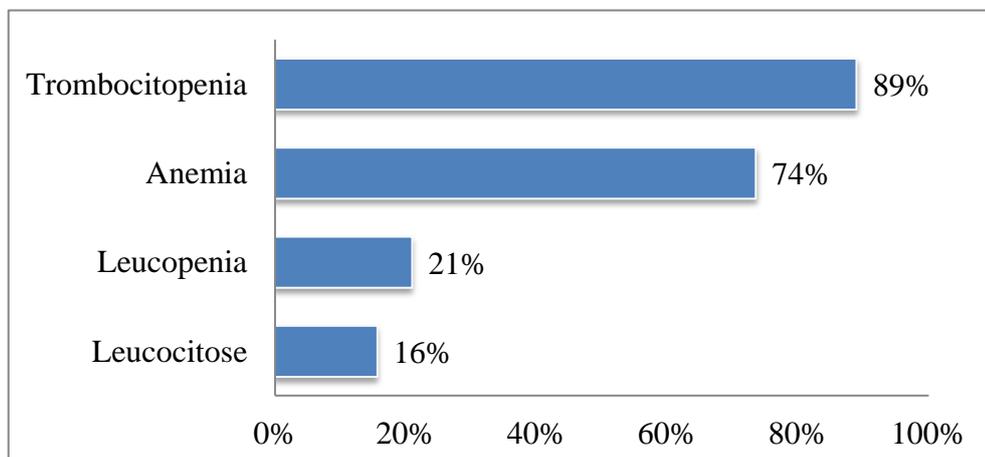
Os principais sinais clínicos encontrados nos animais positivos, também foram citados por Vidotto & Trapp (2004), Nakaghi et al. (2008), Chiari (2010), Souza et al. (2012) e Nelson & Couto (2015), sendo que os três principais constatados foram presença de carrapatos (ixodidiose), apatia e anorexia/hiporexia (Tabela 2).

Tabela 2 – Principais sinais clínicos apresentados pelos animais que foram positivos para *Ehrlichia* spp. ou *Babesia* spp.

Sinal clínico	Quantidade de animais	Porcentagem
Hipertermia	9	47,4%
Apatia	17	89,5%
Anorexia/Hiporexia	15	78,9%
Presença de carrapatos	18	94,7%
Palidez de mucosas	14	73,7%
Hemorragias	7	36,8%
Êmese	11	57,9%
Linfoadenopatia	9	47,4%

Na avaliação dos hemogramas dos animais positivos para *Ehrlichia* spp., 17 (89%) animais apresentaram trombocitopenia, 14 (74%) cães apresentaram anemia e 7 (36%) cães com alterações em leucócitos (4 com leucopenia e 3 com leucocitose) (Gráfico 1). O alto índice de trombocitopenia já era esperado, pois Troy & Forrester (1990) e Nelson & Couto (2015), citam que se trata da maior alteração hematológica encontrada em todas as fases da erliquiose. Os valores obtidos no presente estudo, ficaram próximos ao trabalho realizado por Mendonça et al. (2005) quando constatou trombocitopenia em 87,15 % dos animais, anemia em 77,98% e leucopenia em 24,77% dos animais estudados. Para Bulla et al. (2004), a contagem de plaquetas pode ser utilizado como um método de triagem para cães infectados por *E. canis* para outros procedimentos de diagnóstico.

Gráfico 1 – Principais alterações hematológicas constatadas na avaliação de hemograma dos animais positivos para *Ehrlichia* spp. ou *Babesia* spp.



A anemia encontrada nos animais do presente estudo positivos para *Ehrlichia* spp.,

corroboram com Chiari (2010) quando cita que a anemia ocorre devido à leucopenia na fase aguda e à hipoplasia da medula óssea na fase crônica. Para Vidotto e Trapp (2004), na *Babesia* spp., pode ser constada anemia hemolítica, sendo achado esse, a principal alteração no animal positivo para *Babesia* spp.

## **5 CONCLUSÕES**

Conclui-se que as hemoparasitoses na região em que está inserido o HV-IFPB são doenças muito prevalentes, principalmente a erliquiose que apresentou-se como sendo a principal hemoparasitose encontrada nos animais, atingindo animais de todas faixas etárias e sexo. O teste imunocromatográfico foi eficaz, contribuindo significativamente para o diagnóstico de erliquiose canina. Devido a importância das hemoparasitoses na região estudada, ainda são necessários estudos específicos com o intuito de verificar a distribuição dessas doenças para que sejam traçadas medidas de controle e profilaxia adequadas.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALERE. **Alere™**. Bula de Produto. Alere Erliquiose Ac Test Kit. 2013.

ANDEREG, P.; PASSOS, L. Erliquiose canina: revisão. **Revista Clínica Veterinária**, n.19, p.31-38, 1999.

ANTONIO, N.S.; OLIVEIRA, A.C.; ZAPPA, V. *B. canis*: Relato de Caso. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, v. 7, n.12, 2009.

ARAUJO, A.C.; SILVEIRA, J.A.G.; AZEVEDO, S.S.; NIERI-BASTOS, F.A.; RIBEIRO, M. F.B.; LABRUNA, M.B.; HORTA, M.C. *B. canis vogeli* infection in dogs and ticks in the semiarid region of Pernambuco, Brazil. **Revista Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 35, n. 5 p. 456-461, 2015.

BORGES, F.V.; SANTOS, J.P.; JÚNIOR, A.F. Imunocromatografia indireta auxilia na triagem de cães para realização de tratamento contra *Ehrlichia canis*: relato de caso. **Revista Ciência & Tecnologia**: v. 8, n.1, 2016.

BORIN, S.; CRIVELENTI, L.Z.; FERREIRA, F.A. Aspectos epidemiológicos, clínicos e hematológicos de 251 cães portadores de mórula de *Ehrlichia* spp. naturalmente infectados. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.61, n.3, p.566-571, 2009.

BRANDÃO, L.P.; HAGIWARA, M.K. Babesiose canina - revisão. **Revista Clínica Veterinária**, v. 7, n. 41, p. 50-68, 2004.

BULLA, C.; TAKAHIRA, R.K.; ARAÚJO, J.P.J.; TRINCA, L.A., LOPES, R.S.; WIEDMEYER, C.E. The Relationship Between the Degree of Thrombocytopenia and Infection with *E. canis* in an Endemic Area. **Veterinary Research**, v. 35, p. 141–146, 2004.

CHIARI, M.F. **Nova metodologia de diagnóstico para *E. canis*: PCR X LAMP**. (Dissertação) Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal de São Carlos. 2010.

CORRÊA, W.M. Babesiose canina: transmissão transplacentária. **Instituto Biológico de São Paulo**, v. 40. p.321-322. 1974.

COSTA, J.O.; BATISTA JÚNIOR, J.A.; SILVA, M. et al. *E. canis* infection in dogs in Belo Horizonte-Brazil. **Arquivos da Escola Veterinária da UFMG**, v. 25, p. 199-200, 1973.

COUTO, C.G. **Doenças Rickettsiais**. In: BIRCHARD, S. Manual Saunders: Clínica de pequenos animais. São Paulo: Ed. Roca, p. 139-42, 1998.

CURY, P.R.; FURUSE, C.; ARAÚJO, N.S. Técnica e aplicação da reação da polimerase em cadeia na área odontológica. **Revista Odontológica de Araçatuba**, v. 26, n. 2, p. 34-39, 2005.

DAGNONE, A.S.; MORAIS H.S.; VIDOTTO, M.C.; JOJIMA, F.S.; VIDOTTO, O. Ehrlichiosis in anemic, thrombocytopenic, or tick-infested dogs from a hospital population in South Brazil. **Veterinary Parasitology Journal**, v. 117, p. 285-290, 2003.

HIBBLER, C.E. et al. Rickettsial infections in dogs part II: Ehrlichiosis and infectious cyclic thrombocytopenia. **Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, v.8, p.106-113, 1986.

HOSKINS, J.D. **Veterinary clinics of North America**. Ed Saunders Company, p. 201, Philadelphia, 1991.

IQBAL, Z.; CHAICHANASIRIWITHAYA, W.;RIKIHISA Y. Comparison of PCR with other tests for early diagnosis of canine ehrlichiosis. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 32, n.7, p. 1658-1662, 1994.

ISOLA, J.G. M.P.; CADIOLI, F.A.; NAKAGE, A.P. Erliquiose Canina – Revisão de Literatura. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, v.4, n. 18, 2012.

JONES, T.C.; HUNT, R.D.; KING, N.W. **Patologia Veterinária**. 6ª ed. São Paulo: Editora Manole, p. 605-607, 2000.

LABARTHE, N.; CAMPOS PEREIRA, M.; BARRARINI, O.; MACKEE, N.; COIMBRA, C.; HOSKINS, J. Serologic prevalence of *Dirofilaria immitis*, *Ehrlichia canis*, and *Borrelia burgdorferi* infections in Brazil. **Veterinary Therapeutics**, v. 4, p.67-75, 2003.

LABORCICLIN. **Laborciclin Produtos para Laboratório LTDA**. Bula de Produto, Panótico Rápido, 2003.

LABRUNA, M.B.; PEREIRA, C.M. Carrapato em cães no Brasil. **Clínica Veterinária**, v. 30, p. 24-32, 2001.

MENDONÇA, C.S.; MUNDIM, A.V.; COSTA, A.S.; MORO, T.V. Erliquiose Canina: Alterações Hematológicas em Cães Domésticos Naturalmente Infectados. **Bioscience Journal**, v. 21, n.1, p. 167-174, 2005.

MOYA-ARAÚJO, C.F.; BATISTA, G.D.H.; RIBEIRO, M.G.; STURION, T.T.; ARAÚJO, D.C.; ARAÚJO, J.P.J. Correlação dos achados clínicos e hematológicos com diagnóstico definitivo de erliquiose canina por meio de PCR. **Revista Ciências Agrárias**, v. 33, n. 6, p. 2301-2306, 2012.

MYLONAKIS, M.E.; KOUTINAS, A.F.; BILINIS, C. Evaluation of cytology in the diagnosis of acute monocytic ehrlichiosis (*E. canis*): a comparison between five methods. **Veterinary Microbiology**, v. 19, p. 197-204, 2003.

MUNDIM, E.C.S.; FRANCISCO, M.M.S.; SOUZA, J.N.; ALENCAR, M.A.G.; RAMALHO, P.C.D. Incidência de hemoparasitoses em cães (*Canis familiaris*) de rua capturados pelo centro de controle de zoonoses (CCZ) da cidade de Anápolis – GO. **Revista Ensaios e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde**, v. 7, n. 2, p. 108-115, 2008.

NAKAGHI, A.C.H.; MACHADO, R.Z.; COSTA, M.T.; ANDRÉ, M.R.; BALDANI, C.D. Canine ehrlichiosis: clinical, hematological, serological and molecular aspects. **Revista Ciência Rural**, v.38, n.3, p.766-770, 2008.

NELSON, R.W.; COUTO, C.G. Doenças Riquetsiais Polissistêmicas. In: GONSALES, F. F.(Trad.). **Medicina Interna de Pequenos Animais**. 5ª ed. p. 1326-1340, Rio de Janeiro: Elsevier, 2015.

NELSON, R.W.; COUTO, C.G. Infecções Protozoárias Polissistêmicas. In: MATTOS. D. P. B. G. (Trad.). **Medicina Interna de Pequenos Animais**. 5ª ed. p. 1367-1383, Rio de Janeiro: Elsevier, 2015.

OLIVEIRA, D.; NISHIMORI, T.C.; COSTA, M.T.; MACHADO, R.Z.; CASTRO, M.B. *E. canis* antibodies detection by “Dot- ELISA” in naturally infected dogs. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.9, n.1, p.1-5, 2000.

PESTANA, B.R., **O nambiuvu**. In: Coletânea de Trabalhos (1901-1917) do Instituto de Butantã. p. 231-240. 1918.

PIRES, D.R.; PEREIRA, B.B.N.; AZEVEDO, L.A.; FRECHETTE, M.F., COELHO, P.S.J.; ABOUD, L.C.S. Ocorrência de hemoparasitoses em cães e gatos atendidos na unidade de diagnóstico, vigilância, fiscalização sanitária e medicina veterinária “Jorge Vaitsman”. In: CONBRAVET – Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária, **Anais...** 38, Florianópolis, p. 1-3, 2011.

SEIXAS, R.; ALHO, A. M.; GUERRA, D.; CARVALHO, L.M. Doenças caninas de transmissão vectorial: uma picada com muitas consequências! **Revista Veterinary Medicine**, p. 18-36, 2011.

SILVA, A.C.S. (2009) (Mestrado) **Zoonoses transmitidas por carrapatos: aspectos regionais e vigilância no Vale do Paraíba, Estado de São Paulo**. (Dissertação). Programa de Mestrado da Universidade de São Paulo. Faculdade de Saúde Pública. 2009.

SILVA, N.S.; ALMEIDA, A.B.P.F; SORTE, E.C.B; FEITAS, A.G.; SANTOS, L.G.F.; AGUIAR, D.M.; SOUSA, V.R.F. Soroprevalência de anticorpos anti-Ehrlichia canis em cães de Cuiabá, Mato Grosso. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 19, n. 2, p. 108-111, 2010.

SILVA, M.C.A.; MUNDIM, A.V.; MENDONÇA, G.A.; MUNDIM, M.J.S.; GUIMARÃES, E.C. Hemoparasitos em cães domésticos naturalmente infectados, provenientes das zonas urbana e rural do município de Abadia dos Dourados, Minas Gerais, Brasil. **Revista Bioscience Journal**, v. 30, s. 2, p. 892-900, 2014.

SILVA, I.P.M. Erliquiose Canina – Revisão de Literatura. **Revista Científica de Medicina Veterinária**, v. 8, n. 24, 2015.

SOUSA, V.R.F.; ALMEIDA, A.B.P.F.; BARROS, L.A.; SALES, K.G.; JUSTINO, C.H.S.; DALCIN, L.; BOMFIM, T.C.B. Avaliação Clínica e Molecular de Cães com Erliquiose. **Revista Ciência Rural**, v. 40, n. 6, p. 1309-1313, 2010.

SOUZA, D.M.B.; COLETO, Z.F.; SOUZA, A.F.; SILVA, S.V.; ANDRADE, J.K.; GIMENEZ, G.C. Erliquiose Transmitida aos Cães Pelo Carrapato Marrom (*Rhipicephalus sanguineus*). **Revista Ciência Veterinária nos Trópicos**, v. 15, n 1/2/3, p. 21-31, 2012.

SPOLIDORIO, M.G.; TORRES, M.M.; CAMPOS, W.N.S.; MELO, A.L.M; IGARASHI, M.; AMUDE, A.M.; LABRUNA, M.B.; AGUIAR, D. M. Molecular detection of *Hepatozoon canis* and *Babesia canis vogeli* in domestic dogs from Cuiabá, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 20, n. 3, p. 253-255, 2011.

TABOADA. Babesiosis, p. 473-481. In C. E. Greene (ed.), **Infectious disease of the dog and cat**, 2 ed. WB Saunders, Philadelphia, 1998.

TILLEY, L.P.; SMITH Jr, F.W.K. **Consulta Veterinária em 5 minutos: Espécies Canina e Felina**. 2ª ed. Editora Manole, p. 480; 2003.

TROY, G.C., FORRESTER, S.D., **Canine Ehrlichiosis**, in: Greene C.E. (Ed.), **Infectious Diseases of the Dog and Cat**, WB Saunders Co, Philadelphia, p. 404–414, 1990.

VERCAMMEN, F., R. DE DEKEN, AND L. MAES. Clinical and serological observations on experimental infections with *Babesia canis* and its diagnosis using the IFAT. **Parasite**. v. 2, n. 4, 1995.

VIDOTTO, O.; TRAPP, S.M. Babesiose Canina. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.13, supl. 1, p.58-62, 2004.

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