

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DA PARAÍBA
CAMPUS SOUSA
BACHARELADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

Leonardo Vinícius Silva de Oliveira

**PREVALÊNCIA, ASPECTOS CLÍNICOS, HEMATOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS
DE CÃES INFECTADOS POR *HEPATOZOON CANIS* NA ZONA RURAL DO
MUNICÍPIO DE SOUSA-PB**

SOUSA, PB

2019

Leonardo Vinícius Silva de Oliveira

**PREVALÊNCIA, ASPECTOS CLÍNICOS, HEMATOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS
DE CÃES INFECTADOS POR *HEPATOZOON CANIS* NA ZONA RURAL DO
MUNICÍPIO DE SOUSA-PB**

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

Orientador: Prof. PhD. Vinícius Longo Ribeiro Vilela

SOUSA, PB

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

Leandro da Silva Carvalho – Bibliotecário CRB 15/875

Oliveira, Leonardo Vinícius Silva de
O48p Prevalência, aspectos clínicos, hematológicos e bioquímicos de
cães infectados por Hepatozoon Canis na zona rural do
município de Sousa-PB / Leonardo Vinícius Silva de Oliveira. --
Sousa, 2019.

32 p.

Orientador: Prof. Dr. Vinícius Longo Ribeiro Vilela.

TCC (Graduação - Medicina Veterinária) - IFPB, 2019.

1. Medicina Veterinária. 2. Hemoparasitas. 3. Hepatozoonose. 4.
Leucócitos. I. Vilela, Vinícius Longo Ribeiro. II. Título.

IFPB Sousa / BC

CDU – 619

Leonardo Vinícius Silva de Oliveira

Prevalência, aspectos clínicos, hematológicos e bioquímicos de cães infectados por
Hepatozoon canis na zona rural do município de Sousa-PB

Trabalho de Conclusão de Curso defendido e aprovado em _____
pela Comissão Examinadora:

Orientador (a):

Professor. PhD. Vinícius Longo Ribeiro Vilela
Instituição Federal de Educação, Ciência e Tecnologia da Paraíba, Campus Sousa

Avaliadores (a):

Professora. Dra. Thais Ferreira Feitosa
Instituição Federal de Educação, Ciência e Tecnologia da Paraíba, Campus Sousa

Professora. Dra. Amélia Lizziane Leite Duarte
Instituição Federal de Educação, Ciência e Tecnologia da Paraíba, Campus Sousa

SOUSA, PB

2019

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Liradalva Ferreira e Luciano Gomes de Oliveira, por sempre me apoiarem e me darem força durante minha formação como pessoa e profissional. Sem eles nada disso teria acontecido, os meus maiores exemplos de humildade e sabedoria.

Aos meus irmãos Lucas de Oliveira e Luan de Oliveira por sempre acreditarem junto comigo que esse sonho era possível, aos meus avós e também padrinhos Carlos e Ivanise por serem a base de toda a família e fonte de inspiração e humildade. As minhas tias Julia e Ivana por estarem sempre me apoiando em grandes momentos da minha vida acadêmica.

Aos grandes amigos que Sousa me trouxe, Radabley Rith, Bruno Henrique, Letícia Alves, José Guimarães, Clara Monniege e Maria Gabriela pelas forças dada nos momentos de correria e de felicidade.

Aos irmãos que a vida me deu Rafael Cavalcante e Clara Freitas por sempre me darem apoio e força nos momentos difíceis, mesmo distante, mas sempre presentes.

Aos demais amigos de turma, Émerson Timóteo, Hermano Manoel, Gilderlandio Pinheiro, Kaio Sá, Matheus Serafim, Roberto Alves e Jorge Domingos pelo companheirismo e auxílio durante a caminhada.

A todos os professores, técnicos administrativos e funcionários terceirizados do Instituto Federal de Educação ciência e tecnologia da Paraíba do curso bacharelado em Medicina Veterinária, por todos os conhecimentos passados e dedicação para com os alunos

E a todas as pessoas que passaram na minha vida durante este período que me proporcionaram momentos incríveis e me deram força nos momentos precisos.

RESUMO: A hepatozoonose canina é causada pelo protozoário *Hepatozoon* spp., sendo uma doença parasitária de caráter debilitante, imunossupressora e de difícil diagnóstico clínico, descrita em diversas espécies. A prevalência da doença em cães já foi descrita em alguns Estados brasileiros, todavia na região Nordeste os estudos ainda são escassos. Em virtude disso, o trabalho objetivou determinar a prevalência da infecção por *Hepatozoon canis* em cães da zona rural do município de Sousa, Paraíba, Brasil, como também determinar possíveis sinais clínicos e aspectos epidemiológicos relacionados à esta infecção. Foram avaliados 98 cães, independentemente da raça ou sexo, com idade superior a quatro meses, sendo realizados exames clínicos, colhidas amostras de sangue sistêmico para perfis bioquímicos e hematológicos e periférico (ponta de orelha) para a pesquisa do parasito em esfregaço sanguíneo. Além disso, foram preenchidos questionários epidemiológicos acerca do manejo sanitário e alimentar dos animais. Diagnosticados através da visualização dos leucócitos infectados pôde-se constatar existência deste agente na região. Das 98 amostras analisadas, 8,1% positivo para *Hepatozoon canis* e 91,9% dos cães foram negativos para o hemoparasita em questão. Quando comparados os resultados dos exames hematológicos, bioquímicos e os sinais clínicos apresentados pelos cães infectados, observou-se que houve uma associação entre o percentual de infectividade de neutrófilos ($PIN \geq 5,2$), a trombocitopenia apresentada e anemia microcítica normocrômica, que se correlacionaram com presença de secreções, linfadenomegalia, pelo opaco e mucosas hipocoradas. Em um animal, com PIN sangue periférico de 32,7, houve alterações nos níveis de ureia, creatinina e ALT. De acordo com os dados obtidos nas coletas o grau de prevalência, com intervalo de confiança de 95%, específico para esse hemoparasita é de 8.1% no qual observou-se maior prevalência em cães SRD fazendo-se necessário a realização de maiores exames para pesquisa de hemoparasitas tanto de sangue sistêmico como periférico.

Palavras-chave: Hemoparasitas. Hepatozoonose. Leucócitos.

ABSTRACT: Canine hepatozoonosis is caused by the protozoan *Hepatozoon* spp., being a debilitating, immunosuppressive and difficult to diagnose parasitic disease, described in several species. The prevalence of the disease in dogs has already been described in some Brazilian states, however, in the Northeast region, studies are still scarce. As a result, the study aimed to determine the prevalence of *Hepatozoon canis* infection in dogs in the rural area of Sousa, Paraíba, Brazil, as well as to determine possible clinical signs and epidemiological aspects related to this infection. 98 dogs were evaluated, regardless of race or sex, over the age of four months. Clinical examinations were performed, systemic blood samples were collected for biochemical and hematological profiles and peripheral (ear tip) for the investigation of the parasite in a blood smear. In addition, epidemiological questionnaires about animal health and food management were completed. Diagnosed through the visualization of infected leukocytes, it was possible to verify the existence of this agent in the region. Of the 98 samples analyzed, 8.1% positive for *Hepatozoon canis* and 91.9% of dogs were negative for the hemoparasite in question. When comparing the results of hematological and biochemical tests and the clinical signs presented by the infected dogs, it was observed that there was an association between the percentage of neutrophil infectivity (PIN ≥ 5.2), the thrombocytopenia presented and normochromic microcytic anemia, which correlated with the presence of secretions, lymphadenomegaly, opaque and pale mucous membranes. In one animal, with a peripheral blood PIN of 32.7, there were changes in the levels of urea, creatinine and ALT. According to the data obtained in the collections, the degree of prevalence, with a 95% confidence interval, specific for this hemoparasite is 8.1%, in which a higher prevalence was observed in SRD dogs, making it necessary to carry out further tests for research. of hemoparasites of both systemic and peripheral blood.

Keywords: Hemoparasites. Hepatozoonosis. Leukocytes.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Mapa dos locais selecionados para o estudo em áreas rurais do município de Sousa-PB.....	15
Figura 2 - Coleta de amostra de sangue em veia jugular em cães com o perfil do projeto.....	16
Figura 3 - Análise das lâminas de sangue sistêmico e periférico realizado por microscopia óptica (objetiva de 100x)	17
Figura 4 - Visualização dos gamontes infectando células mononucleadas, visualizados em microscopia óptica (objetiva 100x)	18
Figura 5 - Sinais clínicos de mucosa hipocorada, escore corporal caquético e pelo ressecado.....	25

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Local de coleta e percentual de cães infectados por <i>Hepatozoon canis</i> na zona rural do município de Sousa, semiárido da Paraíba	18
Tabela 2 - Percentual de infecções por <i>Hepatozoon canis</i> de acordo com a faixa etária de cães da zona rural no município de Sousa, Semiárido da Paraíba	19
Tabela 3 - Análise univariável para a associação entre a infecção por <i>Hepatozoon canis</i> e o manejo de criação de cães da zona rural do município de Sousa, semiárido da Paraíba.....	19
Tabela 4 - Percentual de Infecção de Neutrófilos (PIN) e parâmetros hematológicos de cães de zona rural positivos para <i>Hepatozoon canis</i> no Semiárido da Paraíba	21
Tabela 5 - Valores de bioquímica sérica de cães positivos para <i>Hepatozoon canis</i> na zona rural do município de Sousa, Paraíba	22
Tabela 6 - Sinais clínicos observados nos cães positivos para <i>Hepatozoon canis</i> na zona rural do município de Sousa, Paraíba	23

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

%	Porcentagem
\geq	Maior que
\leq	Menor que
μ	mi
®	Marca registrada
™	Trade Mark
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e estatística
g	Grama
+	Mais
-	Menos
Kg	Quilograma
INMET	Instituto Nacional de Meteorologia
°C	Graus Celsius
ml	mililitro
ALT	Alanil tranferase
FA	Fosfatase alcalina
SRD	Sem raça definida
Nº	Número
<i>P</i>	Significância estatística
μ /ml	Microlitro por mililitro
mm ³	Milímetro cúbico
g/dl	Grama por decilitro
μ L	Microlitro
fl	Fentolitro
Mg/dl	Miligramma por decilitro
UI/L	Unidade internacional por litro
PIN	Percentual de infecção
LTDA	Companhia limitada
Km ²	Quilometro quadrado
°	Grau
Lat.	Latitude
Long.	Longitude

S	Sul
W	Oeste

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	13
2.1 Cães da zona rural	13
2.2 Ciclo evolutivo	13
2.3 Hepatozoonose canina	14
2.4 Epidemiologia	14
3. MATERIAIS E MÉTODOS	14
3.1 Caracterização da área de estudo	15
3.2 Amostras de animais	16
3.3 Coleta de material	16
3.4 Diagnóstico de Hepatozoon spp	17
3.5 Exames clínicos e aplicação de questionários epidemiológicos	18
3.6 Análises estatísticas	18
3.7 Comitê de ética no Uso de Animais – CEUA	19
4. RESULTADOS	19
5. DISCUSSÃO	24
6. CONCLUSÃO	27
REFERÊNCIA	28

1. INTRODUÇÃO

Os cães são animais que cada vez mais assumem um papel importante nas famílias, tanto na questão emocional, se tratando de animais de companhia, quanto na segurança que algumas raças passam para as residências (CARVALHO e PESSANHA, 2012). Estes animais, quando em zonas rurais, também são comumente utilizados para a caça, tendo livre acesso a toda a parte externa das propriedades (LABRUNA e PEREIRA, 2001). O contato existente entre os cães e animais de produção e silvestres predispõe à infestação por ectoparasitas, como os carrapatos, que podem ser vetores de inúmeros hemoparasitas (LABRUNA, 2001).

Os carrapatos mais habituais em zona rural são *Rhipicephalus microplus*, *Rhipicephalus sanguineus* e o *Amblyoma cajennense*, este último pode ser encontrado, também, em animais silvestres, como o Tatu-peba (*Euphractus sexcintus*) e a raposa (*Dusicyon thous*) (MUNDIN et al 2002). Estes ectoparasitas são responsáveis por alojar hemoparasitas como *Hepatozoon canis*, *Ehrlichia canis* e *Babesia* sp., que podem ser transmitidos aos cães no momento do seu repasto sanguíneo (GONDIM et al., 1998; O'DWYER et al., 2001).

Hepatozoon spp. é um protozoário que pertence ao filo *Protozoa*, subfilo *Apicomplexa*, família *Hepatozoidae*, subordem *Adeleorina*. Mais de 300 espécies de *Hepatozoon* spp. têm sido descritas em anfíbios, répteis, pássaros, marsupiais e mamíferos. Destas, aproximadamente 50 espécies foram reportadas em mamíferos (MATHEW et al., 2000). As espécies que infectam anfíbios, répteis e aves parasitam principalmente os eritrócitos, enquanto os gamontes de *Hepatozoon* spp. que infectam mamíferos são vistos em leucócitos (BANETH, 2006).

Hepatozoon canis é um hemoparasita que infecta neutrófilos e monócitos, sendo transmitido a cães e outros carnívoros, principalmente por *Rhipicephalus sanguineus*, cuja transmissão ocorre no momento em que o cão ingere o carrapato infectado (BANETH, 2003). Em altas infecções, os animais podem desenvolver a Hepatozoonose, doença que apresenta sinais clínicos inespecíficos. Porém, Ivanov et al. (2008) relataram em estudos experimentais e de infecções naturais que os animais podem apresentar edema, anemia e febre intermitente. Ainda afirmaram que a doença tem sido diagnosticada como subclínica associada a baixa parasitemia, entretanto em animais imunossuprimidos ou filhotes, tende a ocorrer de forma mais severa e muitas vezes associadas a outros agentes infecciosos.

A natureza inespecífica dos sinais clínicos em cães infectados associada à baixa sensibilidade e especificidade da técnica de diagnóstico podem comprometer uma boa elucidação sobre a infecção por este parasito. Devido a incipiência de estudos a respeito de *H. canis* e seus danos à saúde dos animais infectados na região semiárida, o trabalho teve como

35 objetivo determinar a prevalência da infecção por *H. canis* em cães da zona rural do município
36 de Sousa-PB, e estabelecer os principais aspectos clínicos e epidemiológicos desta infecção.

37

38 **2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA**

39

40 **2.1 Cães da zona rural**

41 No Brasil, estima-se que há uma população de cães em domicílio de 52,2 milhões, o que
42 se observa uma média de 1,8 cão por casa. (IBGE, 2010). Na área rural, a proporção de
43 propriedades com cães é de 65%, sendo superior a área urbana, de 41% (IBGE, 2010).

44 A criação de cães em zona rural se faz necessária principalmente para pequenos
45 produtores que dividem seu tempo com sua criação e seu lar, sendo o cão uma forma de integrar
46 a família e direcionar um papel nela. Sabendo que esses animais atendem as demandas
47 específicas quando lhes solicitado, sua posse se torna comum em todo o mundo
48 (MACPHERSON, 2000).

49

50 **2.2 Ciclo evolutivo**

51 A transmissão de *H. canis*, diferente dos outros hemoparasitas transmitidos por
52 carrapatos, ocorre no momento da ingestão do artrópode pelo hospedeiro e não no momento em
53 que o mesmo realiza o repasto sanguíneo. A infecção se inicia quando o animal ao ingerir o
54 carrapato infectado contendo oocistos esporulados na hemocele, e ele se rompe por ação da bile
55 e esses oocistos liberam esporozoítos. Os esporozoítos atravessam a parede intestinal e atingem
56 os tecidos, invadem células do sistema mononuclear e se disseminam por via sanguínea ou
57 linfática para diversos órgãos, onde irá ocorrer a merogonia. Forma-se dois tipos de merontes,
58 que são eles os macromerontes e os micromerontes. Os macromerontes é composto de dois a
59 quatro macromerozoítos, e os micromerontes contem aproximadamente 20 a 30
60 micromerozoítos (BENETH, 2011).

61 Os macromerozoítos invadem os tecidos e iniciam uma segunda merogonia, dando
62 origem a novas formas merogônicas (BENETH, 2011). Em compensação, os micromerozoítos
63 invadem monócitos e neutrófilos e sofrem gametogonia, dando origem aos gamontes
64 circulantes, e completando o ciclo no hospedeiro intermediário, que dura em média 28 dias.
65 (BANETH et al., 2007).

66 O carrapato se infecta ao ingerir, no repasto sanguíneo, células leucocitárias contendo
67 gamontes de *H. canis* no seu interior. Os gamontes vão para o intestino do carrapato, onde ocorre
68 a formação de gametas e por um processo denominado singamia ocorre a formação de zigoto.

69 Este atravessa a parede intestinal indo localizar-se na hemocele do carrapato onde ocorre a
70 formação de oocistos. Os oocistos, quando maduros, apresentam vários esporocistos [30-50]
71 contendo de sete a 14 esporozoítos, que quando ingeridos darão continuidade ao ciclo
72 (CRISTOPHERS SR, 1912; BANETH et al., 2007).

73

74 **2.3 Hepatozoonose canina**

75 A hepatozoonose é uma doença na qual o protozoário *hepatozoon* spp transmite ao
76 animal a enfermidade através do carrapato. Sua forma de transmissão ainda é uma incógnita
77 para muitos pesquisadores, porem muitos acreditam que no ato da lambadura ocorra a ingestão
78 desse carrapato (BENETH, 2011).

79 O gênero *hepatozoon* compreende protozoários do filo Apicomplexa, classe Sporozoa,
80 subclasse Coccidia, ordem Eucoccidiida, subordem Adeleorina e família Hepatozoidae
81 (WENYON, 1926; MATHEW et al., 2000).

82 Atualmente se tem uma estimativa de que existem em torno de 300 espécies de
83 hepatozoon em todos os grupos de vertebrados tetrápodes, sendo extraído deste total 90% onde
84 se foi fundamentado na presença de gamontes em células sanguíneas. Deste total e das
85 pesquisas realizadas até agora, 46 espécies de hepatozoon infecta mamíferos enquanto 120
86 espécies infectam répteis e outras parasitam anfíbios e pássaros (SMITH, 1994).

87 **2.4 Epidemiologia**

88 A distribuição da hepatozoonose está estreitamente vinculada aos seus hospedeiros
89 definitivos como ocorre em todas as doenças que têm artrópodes como vetores. O principal
90 vetor do *H. canis* é o carrapato marrom do cão, *Rhipicephalus sanguineus*, encontrado em
91 regiões tropicais, subtropicais e temperadas do mundo todo, tornando potencial a distribuição
92 mundial deste protozoário (Baneth et al., 2003).

93 No Brasil a infecção já foi descrita nos estados do Rio de Janeiro (O'Dwyer et al.,
94 2001), São Paulo (O'Dwyer et al., 2004; Gondim et al., 1998), Minas Gerais (Mundim et al.,
95 1992; Mundim et al., 1994), Distrito Federal (Paludo et al., 2003) e Rio Grande do Sul (Souza
96 et al., 2001; Mello et al., 2006).

97 Não foi observada predileção por raça ou sexo (Baneth et al., 1997; Baneth & Weigler,
98 1997; Inokuma et al., 1999; O'Dwyer et al., 2001), embora Gavazza e colaboradores (2003)
99 tenham observado 81,25 % de machos e 18,75 % de fêmeas infectadas, após analisarem 11
100 casos de hepatozoonose canina. Kontos & Koutinas (1991) afirmam que a relação de fêmeas e
101 machos infectados foi de 1, 2 para 1, o que demonstra a grande variabilidade da doença nos
102 diferentes países.

103 Descreve-se a Hepatozoonose canina em grupos de todas as idades (Baneth et al., 1996;
 104 Baneth et al., 1997; Baneth & Weigler, 1997; O'Dwyer et al., 2001, Gavazza et al., 2003),
 105 segundo alguns estudos, parece haver maior prevalência em cães jovens (Baneth & Weigler,
 106 1997; Gavazza et al., 2003).

107 Após estudo epidemiológico utilizando avaliação microscópica do esfregaço sanguíneo
 108 como método diagnóstico, Massard (1979) concluiu que a infecção por *H. canis* ocorre mais
 109 frequentemente em cães de áreas rurais (31,6%, 36/114) que em cães urbanos (4,5%, 3/67),
 110 devido a maior exposição aos carrapatos.

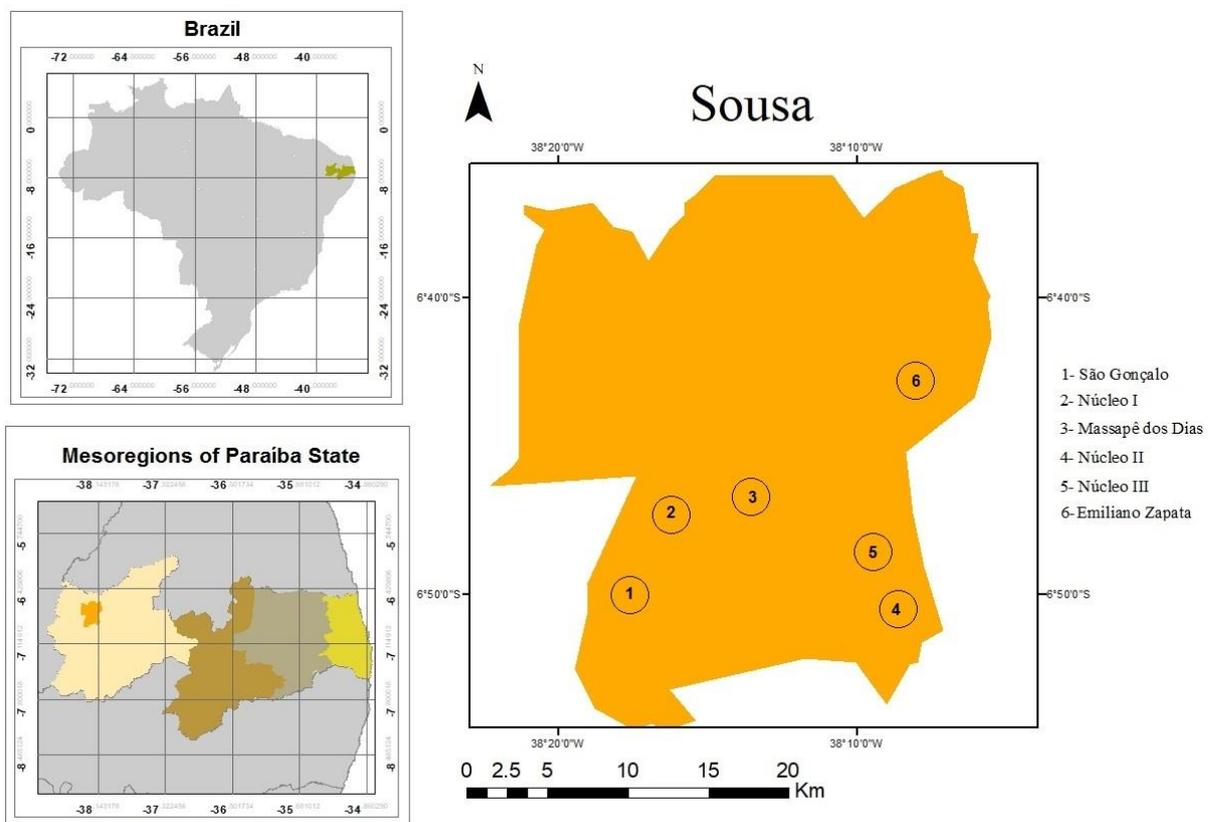
111

112 3. MATERIAL E MÉTODOS

113

114 3.1 Caracterização da área de estudo

115 A pesquisa foi realizada na área rural do município de Sousa, PB (Lat. 06 ° 45'33 "S;
 116 Long. 38 ° 13'41" W), que compreende os distritos de São Gonçalo, Núcleo I, Núcleo II, Núcleo
 117 III, Massapê dos Dias e Assentamento Emiliano Zapata (Figura 1). Este município possui uma
 118 área territorial de 738.547 km² e 73 69.161 habitantes (IBGE, 2018). A região possui clima
 119 semiárido, com temperatura média anual de 26,6 °C (INMET, 2010).



120

121 Figura 1. Mapa dos locais selecionados para o estudo em áreas rurais do município de Sousa-
122 PB.

123

124 **3.2 Amostras de animais**

125 Foram coletadas amostras de sangue de 98 cães que em sua maioria eram domiciliados
126 e possuíam livre acesso a rua, com pelo menos quatro meses de idade, independentemente de
127 raça e sexo, na área rural de Sousa, PB. O número de amostras coletadas foi calculado com base
128 na prevalência esperada de 50% de infecção por *H. canis*, uma vez que não existem estudos
129 prévios dessa doença em cães do semi-árido da Paraíba, Nordeste do Brasil. Foi considerada
130 uma confiança mínima de 95% (THRUSFIELD, 2007).

131

132 **3.3 Coleta de material**

133 Foram coletados, no período de abril a dezembro do ano vigente, 3,0 ml de sangue da
134 veia jugular externa de cada animal (Figura 2), acondicionados em tubos contendo EDTA a
135 10%, armazenados em isopor com gelo e submetidos aos Laboratórios de Parasitologia
136 Veterinária – LPV e de Patologia Clínica - LPC, do Hospital Veterinário Adílio Santos Azevedo
137 – HV/ASA, IFPB, campus Sousa.

138 Realizaram-se hemogramas de acordo com Thrall et al. (2006), e dosagens bioquímicas
139 séricas de ureia, creatinina, alanina aminotransferase (ALT) e fosfatase alcalina (FAL), pelo
140 método colorimétrico de Schalm (1986), em equipamento analisador bioquímico
141 semiautomático modelo BIO-2000 IL. Foram ainda realizadas no local das coletas, esfregaços
142 sanguíneos com sangue periférico, obtido com a utilização de uma lanceta na face interna da
143 ponta da orelha, após tricotomia e assepsia com álcool 70%.



144

145 Figura 2: Coleta de amostra de sangue em veia jugular em cães na zona rural.

146

147 **3.4 Diagnóstico de Hepatozoon spp.**

148 Realizaram-se esfregaços sanguíneos, para que a leucometria diferencial e avaliação
149 morfológica das células sanguíneas, como também a pesquisa de parasitas sanguíneos, fosse
150 categoricamente executada. Esses esfregaços foram corados com kit comercial Panótico Rápido
151 Laborclin (JAIN, 1993).

152 A pesquisa de hemoparasitas foi realizada por microscopia óptica (objetiva de 100x) em
153 extensões sanguíneas de sangue sistêmico e periférico (ponta de orelha), coradas com kit
154 Panótico Rápido® (Laborclin-produtos para laboratórios LTDA, Pinhais-PR) (Figura 3). Em
155 cada lâmina se contava um total de 200 leucócitos para se obter um padrão de leitura, e eram
156 quantificados quando houvesse a presença dos gamontes na célula para se determinar o grau de
157 parasitemia, segundo classificação descrita por Mundim et al. (2008).

158 Por ser uma doença endêmica na região estudada, os animais positivos para *H. canis*
159 foram submetidos a testes de triagem para Leishmaniose, através do Leishmaniose Ac Test Kit®
160 (Alere™ -Diagnóstico Veterinário, Belo Horizonte-MG).



161

162 Figura 3: Pesquisa de lâmina de *H.canis* de sangue sistêmico e periférico realizado por
 163 microscopia óptica (objetiva de 100x).

164

165 **3.5 Exames clínicos e aplicação de questionários epidemiológicos**

166 Em todos os animais, para traçar um perfil clínico de animais infectados, foram
 167 realizados exames cínicos gerais que eram constituídos em avaliações de escore corporal,
 168 avaliação de mucosa, alteração em linfonodos, presença de carrapato no animal, frequência
 169 cardíaca e respiratória e temperatura retal. Todas essas informações eram anotadas juntas ao
 170 questionário epidemiológico no qual apresentava indagações com relação ao manejo dos
 171 animais, se eles eram vacinados ou vermifugados, o tipo de alimentação e se tinha acesso à rua.

172

173 **3.6 Análises estatísticas**

174 Os dados obtidos nos questionários epidemiológicos foram analisados em duas etapas
 175 para os fatores de risco: análises univariadas e multivariadas. Inicialmente, a análise univariada
 176 foi realizada com dois grupos de animais, soropositivos e soronegativos, que foram comparados
 177 com as variáveis analisadas. As variáveis que apresentaram valor de $P \leq 0,2$ pelo teste do qui-
 178 quadrado ou teste exato de Fisher (ZAR, 1999) foram selecionadas para análise multivariada
 179 por regressão logística múltipla (HOSMER & LEMESHOW, 2000). O nível de significância

180 adotado na análise multivariada foi de 5%, e todas as análises foram realizadas com o software
181 SPSS 20.0 para Windows.

182

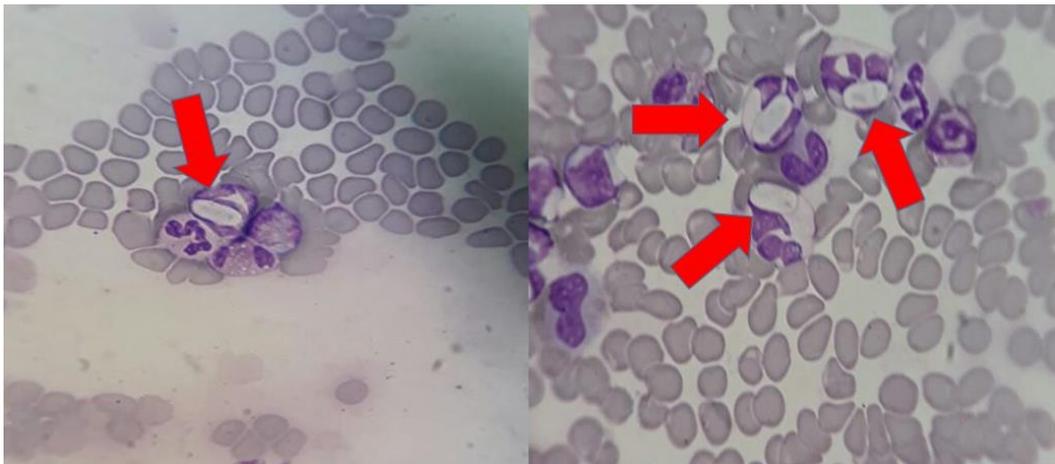
183 3.7 Comitê de ética no Uso de Animais - CEUA

184 O trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais pelo Instituto Federal
185 da Paraíba – IFPB, campus Sousa (número de aprovação, 84 01250.012779/2017-83).

186

187 4. RESULTADOS

188 Obteve-se um percentual de 8,1% (8/98) de cães positivos para *H. canis*, a partir do
189 diagnóstico através da visualização dos gamontes em microscopia óptica (Figura 4). Todos os
190 animais positivos para *H.canis* foram negativos para anticorpos anti-*Leishmania infantum*.
191 Observou-se que 6,1%(6/98) apresentaram-se positivos para *Ehrlichia* spp., não havendo
192 comorbidade com *H. canis*. Não foram encontrados outros hemoparasitos nos esfregaços
193 sanguíneos.



194

195 Figura 4: Visualização dos gamontes infectando leucócitos, visualizados em microscopia óptica
196 (objetiva 100x), corados com Panótico Rápido®.

197 De acordo com a distribuição geográfica dos animais infectados no município,
198 observou-se uma maior prevalência no Assentamento Emiliano Zapata 19,4% (7/36) (Tabela
199 1).

200

201

202

203

204

205

206 Tabela 1: Local de coleta e percentual de cães infectados por *Hepatozoon canis* na zona rural
 207 do município de Sousa.

Localidades	Coletados	Positivos	Percentual
São Gonçalo	11	1	5,2
Núcleo I	13	0	0
Núcleo II	10	0	0
Núcleo III	9	0	0
Massapê dos Dias	19	0	0
Assentamento Emilizano Zapata	36	7	19,4

208

209 Do total de cães avaliados, 57,1% (56/98) eram machos e 44,8% (44/98) eram fêmeas,
 210 sendo 7,1% (4/56) machos e 9,09% (4/44) fêmeas positivas para o parasita em questão. A
 211 distribuição dos cães quanto à idade está disposta na Tabela 2. Não se observou diferença
 212 estatística significativa ($p > 0,05$) para positividade de acordo com a faixa etária dos animais.

213

214 Tabela 2: Percentual de infecções por *Hepatozoon canis* de acordo com a faixa etária de cães
 215 da zona rural no município de Sousa.

Idade do animal	Nº de animais	Positivos (%)
≤1 ano	19	2 (10,5%)
>1 a ≤ 3 anos	30	1 (3.3%)
> 3 anos	49	5 (10,2%)

216

217 Foram observadas variações de raças entre os cães coletados, dentre elas, Fila Brasileiro,
 218 Boxer, Poodle, Pinscher e Pittbull. Apenas um animal da raça Shitzu foi positivo (12,5%; 1/8),
 219 os demais acometidos pela infecção foram cães sem raça definida (SRD), num total de 87,5%
 220 (7/8).

221 A análise univariável para a avaliação dos fatores predisponentes à infecção por *H. canis*
 222 está descrita na Tabela 3. Em relação aos fatores predisponentes mais relevantes, dentre os
 223 animais positivos, 87,5% (7/8) eram criados soltos, e 75% (6/8) apresentaram infestações por
 224 *R. sanguineus* no momento do exame clínico. A maioria nunca havia recebido vacinação
 225 (87,5%; 7/8).

226

227

228

229

230 Tabela 3: Análise univariável para a associação entre a infecção por *Hepatozoon canis* e o
 231 manejo de criação de cães da zona rural do município de Sousa, semiárido da Paraíba.

Variável	Categoria	Nº total	Nº positivos (%)	P
Contato com suínos	Não	79	2 (25)	0.001
	Sim	19	6 (75)	
Contato com ovinos	Não	79	5(62.5)	0.182
	Sim	19	3(37.5)	
Tipo de criação	Casa	6	0 (0)	0.138
	Casa/Solto	39	1 (12.5)	
	Solto	53	7 (87.5)	
Presença de carrapatos	Não	63	2 (25)	0.023
	Sim	35	6 (75)	
Vacinação	Não	52	7 (87.5)	0.063
	Sim	46	1 (12.5)	

232

233 As variáveis presentes na tabela 3 foram selecionadas ($p \leq 0,20$) (HOSMER,
 234 LEMESHOW, 2000) para a análise multivariada, entretanto, não houve identificação de fatores
 235 de risco pela regressão logística múltipla.

236 As alterações hematológicas observadas nos cães portadores de *H. canis* foram
 237 diferentes entre os animais, apresentando padrão de resposta à infecção para animais com PIN
 238 $\geq 5,2$ (Tabela 4). O PIN de sangue sistêmico variou de 1,13 a 36,2, e o de sangue periférico de
 239 zero a 32,7. Observou-se ainda que cinco animais (62,5%) apresentaram trombocitopenia, sete
 240 (87,5%) apresentaram anemia microcítica e quatro (50%) apresentaram número de hemácias
 241 abaixo dos valores de referência. Em todos eles observou-se que os valores de leucócitos
 242 diferenciais apresentavam-se normais de acordo com os valores de referência.

Tabela 4. Percentual de Infecção de Neutrófilos (PIN) e parâmetros hematológicos de cães de zona rural positivos para *Hepatozoon canis* no Semiárido da Paraíba.

Nº animal	PIN sangue sistêmico (%)	PIN sangue periférico (%)	Leucócitos totais (μ /ml)	Plaquetas (10^3 mm ³)	VG (%)	CHCM (g/dl)	PPT (g/dl)	Hb (g/dl)	Hemácia ($10^6/\mu$ L)	VCM (fl)
34	1,13	0	17.000	374	33	42	7,0	15	6,5	71,5
55	13,7	25	20.100	100	24	59,08	9,5	14,18	4,8	50
56	20	25	9.850	444	31	55,3	7,8	17,14	5,75	53,9
59	36,2	32,7	15.650	44	21	64,8	9,8	13,62	3,6	58,3
60	18,9	27	11.450	174	12	40,3	6,4	4,84	0,25	480
61	8,3	5,2	16.100	90	20	64,5	8,9	18,97	3,1	64,5
63	2,3	0	12.500	520	25	36,6	9,9	9,16	4,6	54,3
74	1,2	2,2	14.200	183	41	32	8,9	13	5,8	74,3
Valores de referência*	-	-	6,000-17,000	200-500	37-55	31-36	5,5-8	12-18	5,5-8,5	65-78

VG - Volume globular; CHCM - concentração de hemoglobina corpuscular média); PPT – proteínas plasmáticas totais; Hb - hemoglobina; VCM - volume corpuscular médio (VCM).

*Jain (1993).

243 Os cães parasitados apresentaram pouca variabilidade no quadro bioquímico, no qual se
 244 pode observar que dois animais (25%) apresentaram os níveis de uréia (Mg/dl) e creatinina
 245 (Mg/dl) abaixo dos valores de referência sendo um deles apresentando, também, o nível de ALT
 246 (UI/L) abaixo do normal. O animal número 60 apresentou níveis de FA acima dos padrões
 247 considerados normais.

248

249 Tabela 5: Valores de bioquímica sérica de cães positivos para *Hepatozoon canis* na zona rural
 250 do município de Sousa, Paraíba.

Nº dos animais	Ureia (Mg/dl)	Creatinina (Mg/dl)	FA (UI/L)	ALT (UI/L)
34	31	0,8	52	38
55	36	0,6	49	21
56	33	0,5	156	26
59	20	0,4	82	15
60	30	0,5	240	26
61	18	0,4	149	21
63	63	1,1	149	52
74	34	1,0	91	45
Valores de referência*	21-60	0,5-1,5	20-156	21-102

251 FA – Fosfatase Alcalina; ALT – Alanina Aminotransferase.

252 *Kaneko; Harvey; Bruss (2008).

253

254 Dos oito animais infectados, três (37,5%) apresentaram todos os sinais clínicos descritos
 255 na Tabela 6. A presença de pelo menos dois sinais clínicos foi obtida em 75% (6/8) dos animais,
 256 os principais sinais associados foram pelos ressecados, mucosas hipocoradas e escore corporal
 257 magro ou caquético (figura 5).

258

259

260

261

262

263

264

265

266



267 Figura 5: Mucosa hipocorada e caquexia observado nos cães positivos para *H.canis*.

268 Tabela 6: Principais sinais clínicos observados nos cães positivos para *Hepatozoon canis* na
 269 zona rural do município de Sousa, Paraíba.

Animal	Secreção ocular e nasal	Linfonodos aumentados	Pelos ressecados	Mucosas hipocoradas	Magro ou caquético
34	-	-	-	-	-
55	-	+	+	+	-
56	+	-	-	+	+
59	+	+	+	+	+
60	+	+	+	+	+
61	+	+	+	+	+
63	-	-	+	+	-
74	-	-	+	-	-

270

271 Quando comparados os resultados dos exames hematológicos, bioquímicos e os sinais
 272 clínicos apresentados pelos cães infectados, observou-se que houve uma associação entre a
 273 infectividade de neutrófilos ($PIN \geq 5,2$), a trombocitopenia apresentada, VG e hematócrito, que
 274 se correlacionaram com presença de secreções, linfadenomegalia, pelo opaco e mucosas
 275 hipocoradas. Em um animal, quando o PIN sangue periférico foi 32,7, houve alterações nos
 276 níveis de ureia, creatinina e ALT.

277

278 5. DISCUSSÃO

279 A prevalência de infecção por *H. canis* encontrada no presente estudo (8,1%) foi
 280 considerada alta quando comparada com a prevalência de apenas 0,49% relatada por Ramos et
 281 al. (2010), em cães da área metropolitana de Recife-PE, e ausência de positividade relatada por
 282 Rotondano et al. (2015), em cães no município de Patos-PB. Provavelmente, por serem criados
 283 em zona rural, tendo livre acesso a outras fazendas e animais errantes, houve uma maior
 284 facilidade para a transmissão do parasito entre cães contactantes, fato observado por ter havido
 285 alta prevalência em uma localidade, o Assentamento Emiliano Zapata (19,4%; 9/36).

286 Não foi observada diferença estatística significativa com relação à idade dos animais
 287 ($p > 0,05$). Mundim et al. (2008) afirmaram que animais com idade até um ano são mais
 288 susceptíveis à infecção por *H. canis*, mesmo relatando que a infecção pode ocorrer em cães de
 289 todas as idades. Acredita-se que a infecção pelo parasito está mais associada à infestação por
 290 carrapatos, em que também não há predileção por faixa etária. De acordo com Spolidorio et al.

291 (2009), a Hepatozoonose canina causada por *H. canis* é uma infecção que ocorre
292 frequentemente em áreas onde *R. sanguineus* é endêmico. O ciclo biológico do carrapato
293 quando em zona rural é favorecido por conta das condições ambientais tornando esse processo
294 de endemia mais significativo.

295 No total, foram observados três tipos de alterações no quadro hematológico, sendo nos
296 valores plaquetários, no número de hemácias e no VG. Essas alterações estiveram relacionadas
297 à infectividade de neutrófilos ($\text{PIN} \geq 5,2$) e também à presença de sinais clínicos, como
298 secreções, linfonodos aumentados, pelos ressecados, mucosas hipocoradas e escore corporal
299 magro ou caquético. De acordo com Assarasakorn et al. (2006) os sinais clínicos e achados
300 laboratoriais da hepatozoonose canina não são claramente definidos, pois possuem sinais
301 similares a outras infecções. A doença geralmente é intercorrente a outras enfermidades
302 imunossupressoras (BANETH et al., 1996; GONDIM et al., 1998; O'DWYER et al., 2001;
303 BANETH et al., 2003; GAVAZZA et al., 2003).

304 Segundo Gondim et al. (1998) e Kiral et al. (2005), foram observados que a maioria dos
305 cães infectados apresentavam parasitemia leve, sendo que alguns cursavam com alguma outra
306 co-infecção, quadros clínicos inespecíficos de anorexia, mucosa pálida, perda de peso, febre,
307 poliúria e polidipsia, dor, vômito, descarga ocular e diarreia. No presente estudo, houve
308 similaridade na presença de sinais, como mucosa pálida, perda de peso e anorexia, porém alta
309 parasitemia ($\text{PIN} \geq 25$) foi encontrada em 50% (4/8) dos animais, ainda, estes possuíam
310 infecção apenas para *H. canis*.

311 Anormalidades laboratoriais classicamente observadas na hepatozoonose incluem
312 anemia normocítica normocrômica (INOKUMA et al., 2002; PALUDO et al., 2003) e
313 leucocitose neutrofílica (GONDIM et al., 1998; GAVAZZA et al., 2003; AGUIAR et al., 2004;
314 VOYVODA et al., 2004). Diferente do que foi observado na pesquisa no qual haviam cinco
315 animais (62,5%) que apresentaram trombocitopenia, sete (87,5%) apresentaram anemia
316 microcítica e quatro (50%) apresentando número de hemácias abaixo dos valores de referência.

317 Segundo Gaunt (2000), infecção por *H. canis* pode induzir leucocitose severa, com até
318 200.000 leucócitos/ μL , com desvio a esquerda e ausência de neutrófilos tóxicos. De acordo
319 com Eiras et al. (2007), a infecção por *H. canis* não causa importantes mudanças hematológicas
320 ou bioquímicas nos cães infectados. O'Dwyer et al. (2006), ao observarem 13 cães naturalmente
321 infectados, apenas três destes apresentaram anemia e apenas 1 apresentou leucocitose,
322 classificando-os como achados comuns em casos de hepatozoonose. No presente estudo,
323 observou-se que os valores de leucócitos, hemoglobina, CHCM, PPT e VCM foram dentro dos
324 valores de referência, enquanto as plaquetas, VG e volume de hemácias foram inferiores. As

325 alterações hematológicas consistiram principalmente de anemia 50% (4/8) e trombocitopenia
326 62,5% (5/8), observando-se 87,5% (7/8) de redução no volume globular, corroborando com os
327 achados clínicos de mucosa hipocorada, linfonodo alterado, secreção ocular e nasal e pelos
328 ressecados. Não foram observadas alterações leucocitárias em nenhum dos 8 animais infectados
329 para *H. canis*.

330 Diferentemente do que se observa na literatura, no qual é descrita que a patogenia da
331 doença ocorre através de fatores relacionados ao estado imune do animal, condições debilitantes
332 e coinfeções, foi observado que animais que possuem somente infecção por *H. canis* podem
333 demonstrar sintomatologia crônica da doença e apresentarem sinais clínicos inespecíficos
334 (HARMELIN et al., 1992; GONDIM et al., 1998; MEGID et al., 2016).

335 Quando $PIN \geq 32,7$, houve alterações nos níveis de ureia, creatinina e ALT,
336 apresentando-se em menores concentrações. Essa alteração pode ser atribuída ao tipo de
337 alimentação destes animais, que, se comparado aos animais de zona urbana, geralmente
338 possuem níveis mais elevados de proteína e creatinina, ocasionando, respectivamente,
339 concentrações maiores de ureia e creatinina (THRALL et al., 2006). O valor alterado de ALT
340 é sugestivo de lesão hepática decorrente de merogonia de *H. canis*, fase presente no ciclo do
341 carrapato, decorrente da ingestão de esporozoítos que alcançam o sistema porta e chegam ao
342 fígado, onde ocorre a multiplicação do parasita (BANETH, SHKAP, 2003; MEGID et al.,
343 2016).

344 Os resultados mostraram que 37,5% (3/8) dos animais infectados apresentaram
345 hemograma sem alterações significativas, no qual se observam $PIN < 2,5$. Alguns
346 pesquisadores sugerem que existe relação entre a severidade dos sinais clínicos e o nível de
347 parasitemia de *H. canis* (BANETH, WEIGLER, 1997; KARAGENC et al., 2006). Desta forma,
348 baixos níveis de parasitemia (1-5% de leucócitos infectados) têm sido associados à infecção
349 assintomática ou doença leve (BANETH & WEIGLER, 1997), enquanto cães com alta
350 parasitemia apresentam-se com sinais de doença debilitante crônica (GONDIM et al., 1998;
351 BANETH, 2003). Em comparação aos resultados citados, obteve-se 50% (4/8) apresentando
352 sintomatologia clínica de animal em estado crônico de infecção, com $PIN > 25\%$ para sangue
353 periférico.

354 Segundo Karagenc et al., (2006), cães com parasitemia até 3% desenvolveram doença
355 leve, até 18% de leucócitos parasitados apresentaram doença moderada e aqueles com
356 parasitemia até 39% desenvolveram doença severa. Os resultados mostram que em comparação
357 ao percentual de infecção pesquisado por ramos, obtivemos resultados que implicam dizer que

358 os animais estudados apresentaram infecção considerada crônica, pois apresentavam-se
359 clinicamente bem, porém ainda apresentavam elevados níveis de infecção.

360 A pesquisa direta em extensões sanguíneas tem sido descrita como de alta
361 especificidade, porém baixa sensibilidade (RAMOS et al., 2010; ROTONDANO et al., 2015).
362 Em geral, quando a parasitemia é alta, o esfregaço sanguíneo é extremamente eficiente,
363 entretanto, em baixos níveis de infecção a detecção se torna difícil. Vale ressaltar que baixos
364 níveis de parasitemia não indicam ausência de infecção, sendo o diagnóstico falso positivo
365 comum nesses casos (EIRAS et al., 2007). Por outro lado, no presente estudo, notou-se que a
366 técnica foi eficaz não apenas para o diagnóstico da infecção, como também para a determinação
367 dos percentuais de infecção. Acredita-se que a observação de 200 leucócitos por lâmina e de
368 duas lâminas, uma de sangue periférico e outra de sangue sistêmico influenciaram em uma
369 maior eficácia da técnica.

370 Os animais positivos eram, em sua maioria, pertencentes a famílias que viviam em
371 precárias condições sócio-econômicas, carentes de conhecimentos sobre o correto manejo dos
372 animais, onde eram negligenciados os cuidados básicos sanitários e alimentares. Ainda, por
373 serem oriundos de zona rural, muitos animais eram criados presos durante o dia soltos a noite
374 para realizarem a proteção das residências. Estes fatores, atrelados às condições ambientais que
375 favoreciam o ciclo do carrapato, fizeram com que os animais ficassem mais predispostos à
376 infecção, favorecendo a alta prevalência observada e a ocorrência de animais com o *status*
377 crônico da infecção.

378 Para o controle das infecções, deve-se evitar a infestação dos animais por *R. sanguineus*,
379 uma vez que a ingestão de carrapatos infectados leva ao desenvolvimento das infecções. Em
380 virtude da alta prevalência encontrada, aconselha-se que os médicos veterinários realizem a
381 pesquisa por hemoparasitos, com lâminas de sangue periférico e sistêmico, observando no
382 mínimo 200 leucócitos por lâmina, principalmente quando se deparar com cães apresentando
383 alterações hematológicas e sinais clínicos inespecíficos.

384

385 **6. CONCLUSÃO**

386 Concluiu-se que é alta a positividade para *H. canis* em cães da zona rural do município
387 de Sousa-PB associado aos erros de manejo sanitário nos animais contribuíram para a alta
388 prevalência encontrada e a para a presença de animais com infecções crônicas.

389 Os resultados dos exames hematológicos, bioquímicos e os sinais clínicos apresentados
390 pelos cães infectados, mostrou que houve uma associação entre a infectividade de neutrófilos
391 ($PIN \geq 5,2$), a trombocitopenia apresentada, volume globular e hematócrito, que se

392 correlacionaram com presença de secreções, linfadenomegalia, pelo opaco e mucosas
 393 hipocoradas. Em um animal, quando o PIN sangue periférico foi 32,7, houve alterações nos
 394 níveis de ureia, creatinina e ALT. Este estudo demonstrou a necessidade de estudos
 395 epidemiológicos contínuos para a detecção de áreas endêmicas para infecções por *H. canis*,
 396 uma vez que se trata de uma doença de difícil diagnóstico clínico, como também maior ênfase
 397 nos diagnósticos de hemoparasitas.

398

399

REFERÊNCIA

400

401

402

403

404

405

406

407

408

409

410

411

412

413

414

415

416

417

418

419

420

421

422

423

424

425

426

427

428

429

430

431

432

433

434

435

436

437

438

AGUIAR, D.M.; RIBEIRO, M.G.; SILVA, W.B.; DIAS, JR J.G.; MEGID, J.; PAES A.C.

Hepatozoonose canina: achados clínico-epidemiológicos em três casos. **Arquivo Brasileiro**

de Medicina Veterinária e Zootecnia. v.56, n.3, p.411-413, 2004. Disponível em:<

[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0102-](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0102-09352004000300021&script=sci_abstract&tlng=pt)

[09352004000300021&script=sci_abstract&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0102-09352004000300021&script=sci_abstract&tlng=pt)>. Acesso em: 11 de dez, 2019.

ASSARASAKORN, S.; NIWETPATHOMWAT, A.; TECHANGAMSUWAN, S.;

SUVARNAVIBHAJA, S. A retrospective study of clinical hematology and biochemistry of

canine hepatozoonosis on hospital populations in Bangkok, Thailand. **Comparative Clinical**

Pathology. V.15, p 107-109.2006. Disponível

em<<https://link.springer.com/article/10.1007/s00580-006-0606-6>>. Acesso em: 11 de dez,

2019.

BANETH, G.; MATHEW, J.S.; SHKAP, V.; MACINTIRE, D.K.; BARTA, J.R.; EWING,

S.A. Canine hepatozoonosis: two disease syndromes caused by separate *Hepatozoon* spp.

Trends Parasitol. v.19, n.1, p.27-31. 2003. Disponível

em:<[https://www.cell.com/trends/parasitology/fulltext/S1471-4922\(02\)00016-](https://www.cell.com/trends/parasitology/fulltext/S1471-4922(02)00016-8?returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS1471492202000168%3Fshowall%3Dtrue)

[8?returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS1471492](https://www.cell.com/trends/parasitology/fulltext/S1471-4922(02)00016-8?returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS1471492202000168%3Fshowall%3Dtrue)

[202000168%3Fshowall%3Dtrue](https://www.cell.com/trends/parasitology/fulltext/S1471-4922(02)00016-8?returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS1471492202000168%3Fshowall%3Dtrue)>. Acesso em 04 de dez, 2019.

BANETH, G.; SHKAP, V.; PRESENTEY, B.Z.; PIPANO, E. Hepatozoon canis: the

prevalence of antibodies and gametocytes in dogs in Israel. **Veterinary Research**

Communications. v.20, p.41-46. 1996. Disponível em:<

<https://link.springer.com/article/10.1007/BF00346576>>. Acesso em: 10 de dez, 2019.

BANETH, G. Perspective on canine and feline hepatozoonosis. **Veterinary Parasitology**.

v.181, n. 1, p. 3-11, 2011. Disponível em: <

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0304401711002767>>. Acesso em 29

nov. 2019.

BANETH, G.; SAMISH, M.; SHKAP, V. Life cycle of hepatozoon canis (apicomplexa:

adeleorina: hepatozoidae) in the tick rhipicephalus sanguineus and domestic dog (canis

familiaris). **Journal of Parasitology**. v. 93, n. 2, p. 283-299, 2007. Disponível em: <

<https://www.journalofparasitology.org/doi/abs/10.1645/GE-494R.1> >. Acesso em 29 nov.

2019.

BANETH, G.; WEIGLER, B. Retrospective case-control study of hepatozoonosis in dogs in

Israel. **Journal of Veterinary Internal Medicine**. v. 11, n. 6, p. 365-370, 1997. Disponível

em:< <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9470163>>. Acesso em: 11 de dez, 2019.

439

440 CARVALHO, R.L.S.; PESSANHA, L.D.R. Relação entre famílias, animais de estimação,
 441 afetividade e consumo: estudo realizado em bairros do rio de janeiro. **Revista Sociais e**
 442 **Humanas**, v. 26, n. 3, p. 622-637, 2013. Disponível em:
 443 <<https://periodicos.ufsm.br/sociaisehumanas/article/view/6562>>. Acesso em: 29 nov. 2019.

444

445 CHRISTOPHERS, S.R. The development of *Leucocytozoon canis* in the tick with a reference
 446 to the development of *Piroplasma*. **Parasitology Veterinary**. v.5, n.1, p. 37-48, 1912.
 447 Disponível em:< [https://www.cambridge.org/core/journals/parasitology/article/development-](https://www.cambridge.org/core/journals/parasitology/article/development-of-leucocytozoon-canis-in-the-tick-with-a-reference-to-the-development-of-piroplasma/5408E4E2EBFA94F949E143ACA557B3C9)
 448 [of-leucocytozoon-canis-in-the-tick-with-a-reference-to-the-development-of-](https://www.cambridge.org/core/journals/parasitology/article/development-of-leucocytozoon-canis-in-the-tick-with-a-reference-to-the-development-of-piroplasma/5408E4E2EBFA94F949E143ACA557B3C9)
 449 [piroplasma/5408E4E2EBFA94F949E143ACA557B3C9](https://www.cambridge.org/core/journals/parasitology/article/development-of-leucocytozoon-canis-in-the-tick-with-a-reference-to-the-development-of-piroplasma/5408E4E2EBFA94F949E143ACA557B3C9)>. Acesso em 29 nov. 2019.

450

451 CRAIG, T.M.; SMALLWOOD, J.E.; KNAUER, K.W.; MCGROTH, J.P. Hepatozoon canis
 452 infection in dogs: clinical, radiographic and hematologic findings. **Journal of American**
 453 **Veterinary Medical Assosication**. V.173, n.8, p.967–972. 1978. Disponível em:<
 454 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/721677>> acesso em: 10 de dez, 2019.

455

456 EIRAS, D.F.; BASABE J.; SCODELLARO, C.F.; BANACH, D.B.; MATOS, M.L.;
 457 KRIMER A.; BANETH, G. First molecular characterization of canine hepatozoonosis in
 458 Argentina: evaluation of asymptomatic *Hepatozoon canis* infection in dogs from Buenos
 459 Aires. **Veterinary Parasitology**. v.149, n. 3-4, p.275–279. 2007. Disponível em :<
 460 <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0304401707003627>>. Acesso em: 11
 461 de dez, 2019.

462

463 FERREIRA NETO, J.M; VIANA, E.S; MAGALHAES, L.M. **Patologia clínica veterinária**.
 464 Rabelo, Belo Horizonte, 1981.

465

466 GAUNT, S.D. IN: FELDMAN, B.F.; ZINKE, J.G.; JAIN, N.C. **Veterinary hematology**. 5.
 467 ed., Philadelphia: Lippincot Willians & Wilkins, 2000. Cap. 52, p.347.

468

469 GAVAZZA, A.; BIZZETI, M.; PAPINI, R. Observations on dogs found naturally infected
 470 with *Hepatozoon canis* in Italy. **Revue de Medecine Veterinaire**. v.8-9, n.154, p. 565-
 471 571.2003. Disponível em:<<https://www.revmedvet.com/artdes-us.php?id=1164>>. Acesso em:
 472 10 de dez,2019.

473

474 GONDIM, L.F.P., KOHAYAGAWA, A., ALENCAR, N.X., BIONDO, A.W., TAKAHIRA,
 475 R.F., FRANCO, S.R.V. Canine hepatozoonosis in Brazil: description of eight naturally
 476 occurring cases. **Veterinary Parasitology**. v.74, n.2–4, p.319–323. 1998. Disponível em:<
 477 <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S030440179601120X?via%3Dihub>>.
 478 Acesso em 05 de dez. 2019.

479

480 HARMELIN, A.; DUBEY, J.P.; YAKOBSON, B.; NYSCA, A.; ORGAD, U. Concurrent
 481 *Hepatozoon canis* and *Toxoplasma gondii* infections in a dog. **Veterinary Parasitology**. v.43,
 482 n.1-2, p.131-136. 1992. Disponível
 483 em:<<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/030440179290055E>>. Acesso em:
 484 13 de dez, 2019.

485

486 HOSMER, D.W.; LEMESHOW, S. **Applied logistic regression**. New York, John Wiley e
 487 Son, p.375. Disponível em:< http://resource.heartonline.cn/20150528/1_3kOQSTg.pdf>
 488 ISBN: 0-471-35632-8. Acesso em: 05 de dez, 2019.

- 489
 490 INOKUMA, H.; OKUDA, M.; OHNO, K.; SHIMODA, K.; ONISHI, T. Analysis of the 18S
 491 rRNA gene sequence of a Hepatozoon detected in two Japanese dogs. **Veterinary**
 492 **Parasitology**. v.106, n.3, p. 265-271. 2002. Disponível em:<
 493 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12062514>>. Acesso em: 11 de dez, 2019.
 494
- 495 INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Resultados censo
 496 2010. Disponível em: < [https://censo2010.ibge.gov.br/noticias-](https://censo2010.ibge.gov.br/noticias-censo.html?id=1&idnoticia=2902&view=noticia)
 497 [censo.html?id=1&idnoticia=2902&view=noticia](https://censo2010.ibge.gov.br/noticias-censo.html?id=1&idnoticia=2902&view=noticia)>. Acesso em 29 nov.2019.
 498
- 499 INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA. Disponível em
 500 :<<http://www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=estacoes/estacoesAutomaticas>>. Acesso em 29
 501 de nov,2019.
 502
- 503 IVANOV, A.; TSACHEV, I. *Hepatozoon canis* and hepatozoonosis in the dog. **Trakia**
 504 **Journal of Sciences**. v.6, n.2, p.27-35. 2008. Disponível em:< [http://tru.uni-](http://tru.uni-sz.bg/tsj/Vol.6,%20N2,%202008/A.ivanov_et_al1.pdf)
 505 [sz.bg/tsj/Vol.6,%20N2,%202008/A.ivanov_et_al1.pdf](http://tru.uni-sz.bg/tsj/Vol.6,%20N2,%202008/A.ivanov_et_al1.pdf)>. Acesso em 04 de dez, 2019.
 506
- 507 JAIN, N.C. **Essential of Veterinary Hematology**. 9.ed.Pennsylvania: Lea and Febiger, 1993.
 508 p. 417.
 509
- 510 KANEKO, J.J., HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. **Clinical Biochemistry of Domestic**
 511 **Animals**. 6.ed. California: Elsevier, p. 916. 2008.
 512
- 513 KARAGENC, T.I.; PASA, S.; KIRLI, G.; HOSGOR, M.; BILGIC, H.B.; OZON, Y.H.;
 514 ATASOY A.; EREN H. A parasitological, molecular and serological survey of *Hepatozoon*
 515 *canis* infection in dogs around the Aegean coast of Turkey **Veterinary Parasitology**. v.135,
 516 n.2, p.113–119. 2006. Disponível em:< <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16229952>>.
 517 Acesso em: 11 de dez, 2019.
 518
- 519 KIRAL, F.; KARAGENC, T.; PASA, S.; YENISEY, C.; SEYREK, K. Dogs with *Hepatozoon*
 520 *canis* respond to the oxidative stress by increased production of glutathione and nitric oxide.
 521 **Veterinary Parasitology**. v.131, n.1, p. 15–21. 2005. Disponível em:<
 522 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15936891>>. Acesso em: 11 de dez, 2019.
 523
- 524 LABRUNA, M. B; PEREIRA, M. C. Carrapato em cães no Brasil. **Clínica Veterinária**, v. 6,
 525 n. 30, p. 24-32, 2001. Disponível em: <<https://bdpi.usp.br/item/001180057>>. Acesso em: 29
 526 nov. 2019.
 527
- 528 LABRUNA, M.B.; SOUZA, S.L.P. GUIMARÃES JR, J.S.; PACHECO, R.C.; PINTER, A.;
 529 GENNAR, S.M. Prevalência de carrapatos em cães de áreas rurais da região norte do Estado
 530 do Paraná. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**.v.53, n.5, p.553-556,
 531 2001. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0102-09352001000500007>>. Acesso em:
 532 29.nov.2019.
 533
- 534 MACPHERSON, C.N.L.; MESLIN, F.X.; ANDELER, A.I. **Dogs, zoonoses and public**
 535 **health**. New York: CABI Publishing, 2000. 382p. E-book. Disponível em:
 536 <[https://books.google.com.br/books?hl=pt-](https://books.google.com.br/books?hl=pt-BR&lr=&id=LBPat8Nzre4C&oi=fnd&pg=PR5&ots=jLlBd22b_a&sig=tSyXVqpJLzRdseT3Z44Y2Lbonbk&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false)
 537 [BR&lr=&id=LBPat8Nzre4C&oi=fnd&pg=PR5&ots=jLlBd22b_a&sig=tSyXVqpJLzRdseT3](https://books.google.com.br/books?hl=pt-BR&lr=&id=LBPat8Nzre4C&oi=fnd&pg=PR5&ots=jLlBd22b_a&sig=tSyXVqpJLzRdseT3Z44Y2Lbonbk&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false)
 538 [Z44Y2Lbonbk&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false](https://books.google.com.br/books?hl=pt-BR&lr=&id=LBPat8Nzre4C&oi=fnd&pg=PR5&ots=jLlBd22b_a&sig=tSyXVqpJLzRdseT3Z44Y2Lbonbk&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false)>. Acesso em 29 nov. 2019

- 539
 540 MANCITIRE, D.K., VINCENT-JOHNSON, N.A., DILLON, A.R., BLAGBURN, B.,
 541 LINDSAY, D.S., WHITLEY, E.M., BANFIELD, C. Hepatozoonosis in dogs: 22 cases
 542 (1989–1994). **Journal of American Veterinary Medical Association**. v.210, n.7, p. 916–
 543 922. 1997. Disponível em:< <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9096720>>. Acesso em 10
 544 dez, 2019.
- 545
 546 MATHEW, R.A.; BUSSCHE, V.D.; EWING, S.A.; MALAYER, J.R.; LATHA, B.R.;
 547 PANCIERA, R.J.. Phylogenetic Relationships of *Hepatozoon* (Apicomplexa: Adeleorina)
 548 Based on Molecular, Morphologic, and Life-cycle Characters. **Journal of Parasitology**. v.86,
 549 n2, p.366-372. Abril. 2000. Disponível em:
 550 <[https://journalofparasitology.org/doi/10.1645/0022-](https://journalofparasitology.org/doi/10.1645/0022-3395%282000%29086%5B0366%3APROHAA%5D2.0.CO%3B2)
 551 [3395%282000%29086%5B0366%3APROHAA%5D2.0.CO%3B2](https://journalofparasitology.org/doi/10.1645/0022-3395%282000%29086%5B0366%3APROHAA%5D2.0.CO%3B2)>. Acesso em: 29 nov.
 552 2019.
- 553
 554 MEGID, J.; RIBEIRO, M.G.; PAES, A.C. **Doenças infecciosas em animais de produção de**
 555 **companhia**. 1. ed. Rio de Janeiro: Roca, 2016
- 556
 557 MUNDIM, A. V.; MORAIS, I. A.; TAVARES, M.; CURY, M. C.; MUNDIM, M. J. S.
 558 Clinical and hematological signs associated with dogs naturally infected by *Hepatozoon* sp.
 559 and with other hematozoa: A retrospective study in Uberlândia, Minas Gerais, Brazil.
 560 **Veterinary Parasitology**. v.153, n.1-2, p.3–8. 2008. Disponível em:<
 561 <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0304401708000393>>. Acesso em 29
 562 nov. 2019.
- 563
 564 MUNDIM, A.V., JACOMINI, J.O., MUNDIM, M.J.S., ARAÚJO, S.F. **Hepatozoon canis**
 565 **(James, 1905) in dogs from Uberlândia, Minas Gerais. Reports of two cases**. v.29.1992.
 566 Disponível em:< <http://www.revistas.usp.br/bjvras/article/view/52001>>. Acesso em: 10 de
 567 dez, 2019.
- 568
 569 MUNDIM, A.V., MUNDIM, M.J.S., BARBOSA, F.C. Hepatozoonosis canina. **Veterinária**
 570 **Notícias**, v.8, p.141–151, 2002. Disponível em:<
 571 <http://www.seer.ufu.br/index.php/vetnot/issue/archive>>. Acesso em 05 de dez, 2019.
 572
- 573 O'DWYER, L.H., MASSARD, C.L., PEREIRA DE SOUZA, J.C. Hepatozoon canis infection
 574 associated with dog ticks of rural areas of Rio de Janeiro state. **Brazilian Veterinary**
 575 **Parasitology**. v.94, n.3, p.143–150. 2001. Disponível em:
 576 <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0304401700003782?via%3Dihub>>.
 577 Acesso em 05 de dez, 2019. Doi: [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(00\)00378-2](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(00)00378-2)
 578
- 579 O'DWYER, L.H.; MASSARD, C.L. Aspectos gerais da Hepatozoonose canina. **Clínica**
 580 **Veterinária**, v.31, p.34-40, 2001. Disponível em:<
 581 <https://www.revistaclinicaveterinaria.com.br/blog/produto/revista-clinica-veterinaria-n-31/>>.
 582 Acesso em: 10 de dez,2019.
- 583
 584 PALUDO, G.R.; FRIEDMANN, H.; DELL'PORTO, A.; MACINTIRE, D.K.; WHITLEY,
 585 E.M.; BOUDREAUX, K.; BANETH, G.; BLAGBURN, B.L.; DYKSTRA, C.C. Hepatozoon
 586 spp. pathological and partial 18S rRNA sequence analysis from three Brazilian dogs.
 587 **Parasitology Research**. v.97, n. 2, p.167-170, 2005. Disponível

- 588 em:<<https://link.springer.com/article/10.1007/s00436-005-1419-2>>. Acesso em: 10 de dez,
589 2019.
- 590
- 591 RAMOS, R.; RAMOS, C.; ARAÚJO, F.; OLIVEIRA, R.; SOUZA, I.; PIMENTEL, D.;
592 GALINDO, M.; SANTANA, M.; ROSAS, E.; FAUSTINO, M.; ALVES, L. Molecular survey
593 and genetic characterization of tick-borne pathogens in dogs in metropolitan Recife (north-
594 eastern Brazil). **Parasitology Research**, Heidelberg, v. 107, p. 1115-1120, 2010. Disponível
595 em:< <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00436-010-1979-7>>. Acesso em: 09 de
596 dez, 2019.
- 597
- 598 ROTONDANO, T. E. F.; ALMEIDA, H. K. A.; KRAWCZAK, F. S.; SANTANA, V. L.;
599 VIDAL, I. F.; LABRUNA, M. B.; AZEVEDO, S. S.; ALMEIDA, A. M. P.; MELO, M. A.
600 Survey of *Ehrlichia canis*, *Babesia* spp. and *Hepatozoon* spp. in dogs from a semiarid region
601 of Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, Jaboticabal, v. 24, n. 1, p. 52-58,
602 2015. Disponível em:< <https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/23308>>. Acesso em: 09 de
603 dez, 2019.
- 604
- 605 SCHALM, O. M.; JAIN, N. C. **Veterinary Hematology**. 4ªed. Philadelphia: Lea & Fabiger,
606 1986.
- 607
- 608 SMITH, T. G.; DESSER, S. S.; MARTIN, D. S. The development of *Hepatozoon sipedon* sp.
609 nov. (Apicomplexa: Adeleina: Hepatozoidae) in its natural host, the Northern water snake
610 (*Nerodia sipedon sipedon*), in the culicine vectors *Culex pipiens* and *C. territans*, and in an
611 intermediate host, the Northern leopard frog (*Rana pipiens*). **Parasitology Research**, v.80,
612 n.7, p.559–568. 1994. Disponível em:<
613 <https://link.springer.com/article/10.1007%2FBF00933003>>. Acesso em 29 nov. 2019
614
- 615 SPOLIDORIO, M.G.; LABRUNA, M.B.; Zago, A.M.; DONATELE, D.M.; CALIARI, K.M.;
616 YOSHINARI, N.H. **Hepatozoon canis infecting dogs in the State of Espírito Santo,
617 Southeastern Brazil**. *Veterinary Parasitology*, v.163, n.4, p.357-361, 2009. Disponível em:<
618 <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0304401709002787?via%3Dihub>>.
619 Acesso em: 10 de dez, 2019.
- 620
- 621 THRALL, M.A.; BAKER, D.C.; CAMPEBELL, T.W.; DENICOLA, D.; FETTMAN, M.J.;
622 LASSEN, E.D.; REBAR, A.; WEISER, G. **Hematologia e bioquímica Clínica Veterinária**.
623 1. ed. São Paulo: Rocca, 2006. p.592.
- 624
- 625 THRUSFIELD, M. **Veterinary Epidemiology**. Blackwell Science, Cambridge. v.2, p.479,
626 1995. E-book. Disponível em:<
627 [http://dvmbooks.weebly.com/uploads/2/2/3/6/22365786/1._veterinary_epidemiology_thrush
628 filled.pdf](http://dvmbooks.weebly.com/uploads/2/2/3/6/22365786/1._veterinary_epidemiology_thrush_filled.pdf)>. Acesso em: 05 de dez, 2019.
- 629
- 630 VOYVODA, H.; PASA, S.; UNER, A. Clinical *Hepatozoon canis* infection in a dog in
631 Turkey. **Journal of Small Animal Practice**. v.45, n.12, p.613–617. 2004. Disponível em:<
632 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15600273>>. Acesso em: 11 de dez, 2019.
633
- 634 WENYON, C. M. **Protozoology: a manual for medical men, veterinarians and
635 zoologists**. New York: W. Wood, 1926. E-book. Disponível em:
636 <[https://www.worldcat.org/title/protozoology-a-manual-for-medical-men-veterinarians-and-
637 zoologists/oclc/3691850](https://www.worldcat.org/title/protozoology-a-manual-for-medical-men-veterinarians-and-zoologists/oclc/3691850)>. Acesso em 30 nov. 2019.

638
639 O'DWYER L.H.; SAITO M.E.; HASEGAWA M.Y.; KOHAYAGAWA A. **Tissue stages of**
640 ***Hepatozoon canis* in naturally infected dogs from São Paulo State, Brazil.** Parasitology
641 Research. v. 94, n 3, p. 240–242. 2004. Disponível em:
642 <<https://link.springer.com/article/10.1007/s00436-004-1190-9>>. Acesso em 04 jan, 2020.