

VANESSA CARLA LIMA DA SILVA

**AVALIAÇÃO CLÍNICA, EPIDEMIOLÓGICA E LABORATORIAL DE
CÃES (*Canis familiaris*, Linnaeus, 1758) COM CINOMOSE, ERLIQUIOSE
E BABESIOSE NO HOSPITAL VETERINÁRIO DA UFRPE**

RECIFE-PE

2014

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA VETERINÁRIA

VANESSA CARLA LIMA DA SILVA

AVALIAÇÃO CLÍNICA, EPIDEMIOLÓGICA E LABORATORIAL DE
CÃES (*Canis familiaris*, Linnaeus, 1758) COM CINOMOSE, ERLIQUIOSE
E BABESIOSE NO HOSPITAL VETERINÁRIO DA UFRPE

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Ciência Veterinária.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Evilda Rodrigues de Lima

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Mirian Nogueira Teixeira

RECIFE-PE

2014

Ficha catalográfica

S586a Silva, Vanessa Carla Lima da
Avaliação clínica, epidemiológica e laboratorial de cães
(*Canis familiaris*, Linnaeus, 1758) com cinomose, erliquiose
e babesiose no Hospital Veterinário da UFRPE / Vanessa
Carla Lima da Silva. – Recife, 2014.
160 f. : il.

Orientadora: Evilda Rodrigues de Lima.
Tese (Doutorado em Ciência Veterinária) – Universidade
Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Medicina
Veterinária, Recife, 2014.
Inclui referências, anexo(s) e apêndice(s).

1. Cães 2. Doenças infecciosas 3. *Ehrlichia canis*
4. *Babesia canis vogeli* 5. CDV 6. PCR 7. Clínica de
pequenos animais 8. Diagnóstico I. Lima, Evilda Rodrigues
de, orientadora II. Título

CDD 636.089

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA VETERINÁRIA

Tese elaborada por

VANESSA CARLA LIMA DA SILVA

Aprovada em 25/02/2014.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Evilda Rodrigues de Lima
Orientadora–Departamento de Medicina Veterinária da UFRPE.

Prof^a. Dr^a. Mirian Nogueira Teixeira
Co-orientadora–Departamento de Medicina Veterinária da UFRPE.

Prof. Dr. Lucas Alécio Gomes
Departamento de Clínicas Veterinárias da UEL.

Prof. Dr. Rinaldo Aparecido Mota
Departamento de Medicina Veterinária da UFRPE.

Prof. Dr. Leucio Câmara Alves
Departamento de Medicina Veterinária da UFRPE.

DEDICATÓRIA

Á Deus pelo dom da vida e pela força dada a mim em todos os momentos.

As minhas filhas queridas, Ana Beatriz Lima Lopes e Maria Isabela Lima Alves de Carvalho, sem vocês a vida não teria o significado que tem hoje.

A minha família que sempre estiveram presentes em todos os momentos da minha vida.

Obrigada a todos vocês pelo amor, carinho e compreensão. Dedico a vocês esta conquista.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por estar presente em minha vida, me dando forças e ânimo quando necessário. Obrigada por ter me ajudado a conseguir terminar mais esta etapa da minha vida. Sem tua presença não conseguiria chegar a lugar algum.

Agradeço aos meus pais, Alcidésio José da Silva (*in memoriam*) e a Djanita Correia Lima da Silva, pelo o amor e pela simplicidade. Graças a vocês minha vida se concretizou e estou aqui hoje.

Às minhas filhas, Ana Beatriz Lima Lopes e Maria Isabela Lima Alves de Carvalho, com vocês a vida se tornou mais especial e mais instigante. Filhas, mamãe agradece pelo amor e carinho que vocês me dão diariamente. Tudo o que faço na vida é para vocês. Amo as duas incondicionalmente, e obrigada por tudo queridas.

Tem uma pessoa que sem dúvida alguma tenho um carinho especial e muito a agradecê-la, a minha tia Elaine Maria Barbosa Lorenzato (tia Laine), que foi essencial para que eu chegasse até aqui hoje; sempre me ajudou, me incentivou e colaborou na minha educação. Obrigada por ter dedicado um pouco do seu tempo para a minha criação e educação. Tia, você é minha segunda mãe. Te amo!

Aos primos e tio Salvador, Elano, Edilberto, tia Sandra, tio Felipe, Laninho, Dozinho e Beto que sempre me ajudaram e estiveram presentes em minha vida. Obrigada primos e tios por tudo. Obrigada a minha irmã Sandra e a minhas sobrinhas, Andriely Lima e Marília Lessa por alegrarem nossas vidas.

À professora Evilda Rodrigues de Lima, pois ela foi uma pessoal essencial para que fosse possível fazer o meu doutorado. Por acreditar sempre em mim e ter me dado à oportunidade, junto com professor Marcos Antônio Lemos de Oliveira, de realizar esse sonho. Tenho admiração e um carinho especial por vocês dois. Professora saiba que serei grata eternamente a você. Você ganhou uma amiga para a vida inteira.

A professora Mirian Nogueira Teixeira, pela colaboração em meu trabalho em todas as fases de execução, pela amizade e pelos conselhos pertinentes.

Aos professores Rinaldo Aparecido Mota, Rita de Cássia Maia, Lêucio Câmara, Eneida Rêgo, Frederico Celso pelo carinho, amizade, confiança, disponibilidade e pelos incentivos e colaboração na realização do doutorado.

A equipe do Laboratório de Patologia Clínica Veterinária por toda a colaboração nos meus exames. Em especial a Simone Gutman, Liliane Batista, Gisele Barbosa e Ayodhya Ramalho.

Aos professores Amauri, Alice Alfieri da UEL e às Pós-graduandas, Lívia Bodnar e Sarah pela colaboração e disponibilidade na realização de exames laboratoriais desta tese, vocês foram essenciais para que parte do meu trabalho fosse realizado.

Ao professor Lucas Alécio Gomes da UEL pela disponibilidade de participar da avaliação do meu trabalho de Doutorado. Obrigada professor!

A equipe do Laboratório de Doenças infecciosas dos Animais domésticos da UFRPE, André Santos, André Moura, Adriano, Elise, Ana Elisa e Givanildo, em especial a Pomy Kim, pelos ensinamentos e pela paciência de me introduzir na biologia molecular.

Aos meus amigos da Pós-Graduação e da Graduação, Francine França, Camila Pereira, Marcello Abreu, Maria Betânia, Flávia Maia, Ana Luisa, Fernanda Fukahori, Michelle Suassuna, Mirella Colaço, Renata Serpa, Fernando Lyra, Rosanny, Natália e Cleyton Charles. Obrigada gente!

A Ana Katarina, do Comut da UFRPE, pela pesquisa dos trabalhos, essenciais para que eu pudesse escrever a minha tese.

Agradeço ao FACEPE pela concessão da bolsa de doutorado e pelo financiamento da pesquisa, essenciais para a execução deste projeto.

A Universidade Federal Rural de Pernambuco, ao Departamento de Medicina Veterinária e os amigos da Clínica Médica, Diana Lúcia, Virgínia Barbosa e os enfermeiros Acácio Teófilo, Fausto, Eugênio e aos Residentes da Clínica Médica de Pequenos Animais, Bárbara Nogueira, Vítor e Danielle.

Aos animais e a seus tutores por terem autorizado a participação deles em minha pesquisa. Sem vocês não seria possível realizar este sonho. Agradeço a todos que participaram e confiaram em nosso trabalho. Sinto-me realizada em trabalhar e poder estar perto dos animais, pois sempre sonhei em me especializar em Clínica Médica de Cães e Gatos, desde o primeiro dia em que entrei na graduação, e graças a Deus consegui trabalhar e aprender com estes seres maravilhosos.

Enfim, agradeço a todos que indireta ou diretamente colaboraram para que eu realizasse esse sonho. Tenho gratidão e respeito por todos vocês. Obrigada!

É melhor tentar e falhar, que preocupar-se e ver a vida passar; é melhor tentar ainda que em vão, que sentar-se fazendo nada até o final; eu prefiro nas chuvas caminhar, do que em dias tristes em casa me esconder; prefiro ser feliz embora louco, do que em conformidade viver (Martin Luther King).

Só engrandecemos o nosso direito à vida cumprindo o nosso dever de cidadãos do mundo (Mahatma Gandhi).

RESUMO

Objetivou-se caracterizar as alterações clínicas, epidemiológicas, hematológicas e diagnóstico molecular pela técnica de PCR convencional e RT-PCR de cães naturalmente infectados pela *Ehrlichia canis*, *Babesia canis vogeli* e pelo CDV. Foram avaliados 146 cães de ambos os sexos e idades variadas apresentando pelo menos três sinais clínicos sugestivos para estas infecções. Foi coletado sangue para a realização de hemograma, exame parasitológico sanguíneo, pesquisa de inclusão viral, PCR para detecção da *E. canis*, *B. canis vogeli* e RT-PCR para o CDV. Os resultados obtidos para as infecções por *Ehrlichia canis*, *Babesia canis vogeli* e para o CDV, foram 17,1%, 4,8% e 27,4%. As co-infecções pela *E. canis* com a *B. canis vogeli* foram observadas em 0,7%, *Ehrlichia canis* com o CDV em 7,5% e 2,1% dos animais foram co-infectados pelos três agentes infecciosos. As fêmeas apresentaram maior porcentual de positividade com 26,4% para erliquiose, 34,7% para cinomose e 8,1% dos machos para babesiose. Os animais com até 12 meses tiveram os maiores percentuais para erliquiose e cinomose, enquanto que os acima de 84 meses para babesiose. Os cães atendidos no Hospital Veterinário com erliquiose, babesiose e cinomose, domiciliados, vacinados com raça definida foram mais acometidos e o acesso à rua pode ser responsabilizado como um importante fator de risco para a infecção em cães com o CDV. As alterações clínicas hiporexia, alopecia periocular, linfadenopatia e tosse improdutiva devem ser consideradas na caracterização da erliquiose; mucosas pálidas para babesiose; linfadenopatia, mucosas congestas, ataxia e secreção nasal para cinomose. Anemia, trombocitopenia, eosinofilia e linfocitopenia devem ser consideradas como fonte de variação na caracterização da erliquiose; trombocitopenia e neutropenia para babesiose e eosinofilia para a cinomose. Na co-infecção pela *Ehrlichia canis* com o CDV destacam-se os distúrbios oftálmicos, gastrointestinais, anemia, trombocitopenia, leucopenia, eosinopenia e linfocitopenia. O número de animais co-infectados pela *Ehrlichia canis* e *Babesia canis vogeli*; *E. canis*, *B. canis vogeli* e CDV foram insuficientes para caracterização das alterações clínicas e laboratoriais, sugerindo-se que novos estudos sejam realizados neste sentido. Não há concordância entre a PCR quando comparada com os exames parasitológicos sanguíneos e de pesquisa de inclusão viral, devendo o clínico solicitar a PCR, por ser mais específica e sensível. A possibilidade de co-infecções é alta nas regiões endêmicas e sugere-se que mais estudos sejam realizados a fim de elucidar outras possibilidades de infecções simultâneas na clínica médica de pequenos animais, uma vez que este tema é pouco estudado no Brasil.

ABSTRACT

The present objective was to characterize the clinical, epidemiological, and hematological changes, and the molecular diagnosis using conventional PCR and RT-PCR in dogs naturally infected with *Ehrlichia canis*, *Babesia canis vogeli* and by CDV. One hundred and forty-six dogs were selected, regardless of gender and of varying ages, that had at least three clinical signs suggestive of these infections. Blood was collected for hemogram, blood parasitology, investigation of viral inclusion, PCR for detection of *E. canis*, *B. canis vogeli* and RT-PCR for CDV. The results obtained regarding infections by *Ehrlichia canis*, *Babesia canis vogeli* and CDV were 17.1%, 4.8%, and 27.4%, respectively. Co-infections by *E. canis* and *B. canis vogeli* were observed in 0.7%, *Ehrlichia canis* and CDV in 7.5%, and 2.1% of the animals were co-infected by all three infectious agents. Females presented a higher percentage of positive results for ehrlichiosis (26.4%) and distemper (34.7%), while males had a higher percentage for babesiosis with 8.1%. Animals up to 12 months and with specific breeds had the highest percentage for ehrlichiosis and distemper, while those above 84 months had more positives for babesiosis. Dogs examined at the Veterinary Hospital with ehrlichiosis, babesiosis and canine distemper, domiciled, vaccinated breed were most affected and street access may be liable as an important risk factor for infection in dogs with CDV. The clinical changes hyporexia, periocular alopecia, lymphadenopathy and unproductive cough should be considered in the characterization of ehrlichiosis; pale mucous for babesiosis; lymphadenopathy, congested mucous, ataxia and nasal discharge for distemper. Anemia, thrombocytopenia, eosinophilia, and lymphocytopenia should be considered as a source of variation in the characterization of ehrlichiosis; thrombocytopenia and neutropenia for babesiosis and eosinophilia for distemper. In co-infection for *Ehrlichia canis* with the CDV is destaracam ophthalmic disorders, gastrointestinal, anemia, thrombocytopenia, leukopenia, eosinopenia and lymphocytopenia. The number of animals co-infected by *Ehrlichia canis* and *Babesia canis vogeli*; *E. canis*, *B. canis vogeli* and CDV were insufficient to characterize the findings clinical and laboratory, suggesting that further studies be made in this direction. There was poor agreement between the PCR compared to blood parasite examination and no agreement for RT-PCR and viral inclusion research, should the clinician requesting the PCR, to be more specific and sensitive. Therefore, attention must be given to the possibility of co-infections, especially in endemic areas, and further studies are suggested so that other possibilities of simultaneous infections in small animal medicine can be clarified since this subject is not sufficiently studied in Brazil.

LISTA DE FIGURAS

	Página
FIGURA 1 Carrapatos vetores da erliquiose e anaplasmose. A- <i>Rhipicephalus sanguineus</i> , B- <i>Amblyomma americanum</i> .	21
FIGURA 2 Ocorrência de infecção pela <i>Ehrlichia</i> spp. por testes moleculares e sorológicos em cães no Brasil.	25
FIGURA 3 Progressão do CDV da infecção sistêmica para a fase neurológica da cinomose canina.	50
FIGURA 4 Frequência dos diagnósticos pela PCR convencional para a <i>Ehrlichia canis</i> , <i>Babesia canis vogeli</i> e pela RT-PCR para o CDV e co-infecções de cães atendidos no HV-UFRPE.	67
FIGURA 5 Parasitológico sanguíneo de um cão positivo para <i>Ehrlichia canis</i> . Mórula da <i>Ehrlichia canis</i> em um monócito ativado (seta branca). Aumento de 100X.	69
FIGURA 6 Eletroforese em gel de agarose a 2% da amplificação do DNA da <i>Ehrlichia canis</i> de cães positivos pela PCR convencional. Linha M: marcador molecular (100pb). Linhas 34, 36, 56, 83 e 125: animais positivos. C ⁻ : controle negativo. C ⁺ : controle positivo.	70
FIGURA 7 Eletroforese em gel de agarose a 1,5% da amplificação do DNA da <i>Babesia canis vogeli</i> de cães positivos pela PCR convencional. Linha M: marcador molecular (100pb). Linhas 12, 26, 61, 69 e 121: animais positivos. C ⁻ : controle negativo. C ⁺ : controle positivo.	71
FIGURA 8 Inclusão viral (Corpúsculo de Lentz) no linfócito de um cão positivo para cinomose. Aumento de 100X.	73
FIGURA 9 Eletroforese em gel de agarose a 2% corada com brometo de etídio da amplificação do fragmento com 287pb correspondente ao DNA do CDV de cães positivos pela RT-PCR. M: marcador molecular (100pb). Linhas 51, 54, 60, 64 e 72: animais positivos. C ⁻ : controle negativo. C ⁺ : controle positivo.	73
FIGURA 10 Porcentuais de cães com infecção para <i>Ehrlichia canis</i> , <i>Babesia canis vogeli</i> e pelo CDV, atendidos no HV-UFRPE segundo a cidade de origem.	75
FIGURA 11 Principais alterações clínicas dos cães portadores de <i>Ehrlichia canis</i> diagnosticados pela PCR convencional, atendidos no HV-UFRPE.	82
FIGURA 12 Cão, macho, 45 dias de vida, SRD, PCR positivo para <i>Ehrlichia canis</i> , apresentando dermatite seborréica, pústulas no abdome ventral e rarefação pilosa generalizada.	82

FIGURA 13	Cão, macho, 1 ano, SRD, PCR positivo para <i>Ehrlichia canis</i> , apresentando sangramento de gengiva.	83
FIGURA 14	Principais alterações clínicas dos cães portadores de <i>Babesia canis vogeli</i> diagnosticados pela PCR convencional, atendidos no HV-UFRPE.	86
FIGURA 15	Cão, macho, 3 anos, Pinscher, PCR positivo para <i>Babesia canis vogeli</i> , apresentando hematoma na região prepucial.	87
FIGURA 16	Principais alterações clínicas dos cães portadores do CDV diagnosticados pela RT-PCR, atendidos no HV-UFRPE.	90
FIGURA 17	Canina, fêmea, 8 anos, SRD, RT-PCR positiva para o CDV apresentando opacidade e úlcera de córnea (seta branca) em decorrência de ceratoconjuntivite seca.	90
FIGURA 18	Frequência de febre nos cães infectados e co-infectados por <i>Ehrlichia canis</i> , <i>Babesia canis vogeli</i> e CDV, atendidos no HV-UFRPE.	94
FIGURA 19	Principais alterações clínicas dos cães portadores de co-infecção por <i>Ehrlichia canis</i> com o CDV, diagnosticados respectivamente pela PCR convencional e pela RT-PCR, atendidos no HV-UFRPE.	95
FIGURA 20	Canina, fêmea, 4 anos, SRD, PCR positiva para <i>Ehrlichia canis</i> e RT-PCR para o CDV apresentando buftalmia no olho direito em decorrência de glaucoma.	96
FIGURA 21	Representação gráfica da utilização de medicamentos no controle de carrapatos e os produtos parasiticidas utilizados em cães atendidos no HV-UFRPE.	99
FIGURA 22	Associação entre os diagnósticos de <i>E. canis</i> , <i>B. canis vogeli</i> , CDV e suas co-infecções com os percentuais de alterações nas hemácias, hemoglobina e hematócrito de cães atendidos no HV-UFRPE.	108
FIGURA 23	Associação entre os diagnósticos de <i>E. canis</i> , <i>B. canis vogeli</i> , CDV e suas co-infecções com os valores de VCM, CHCM e RDW-CV de cães atendidos no HV-UFRPE	109
FIGURA 24	Associação entre os diagnósticos de <i>E. canis</i> , <i>B. canis vogeli</i> , CDV e suas co-infecções com as plaquetas e leucócitos de cães atendidos no HV-UFRPE.	110
FIGURA 25	Esfregaço sanguíneo de um cão com presença de plaquetas ativadas e macroplaquetas (setas brancas).	112

LISTA DE QUADROS

		Página
QUADRO 1	Medicamentos utilizados para o tratamento da erliquiose monocítica canina.	33
QUADRO 2	Espécies de <i>Babesia</i> spp. e sua classificação quanto ao tamanho.	36
QUADRO 3	Distribuição geográfica das diferentes espécies de <i>Babesia</i> spp. e seus vetores.	38
QUADRO 4	Tratamento preconizado para as diferentes espécies de <i>Babesia</i> spp. em cães	47

LISTA DE TABELAS

		Página
TABELA 1	Alterações clínicas de cães com babesiose.	44
TABELA 2	Frequência absoluta e relativa de infecção pela <i>Ehrlichia canis</i> , <i>Babesia canis vogeli</i> e CDV e associação com as variáveis epidemiológicas de cães atendidos no HV-UFRPE.	75
TABELA 3	Alterações clínicas apresentadas pelos cães positivos para <i>Ehrlichia canis</i> diagnosticados pela PCR convencional, atendidos no HV-UFRPE.	83
TABELA 4	Alterações clínicas apresentadas pelos cães positivos para <i>Babesia canis vogeli</i> diagnosticados pela PCR convencional, atendidos no HV-UFRPE.	87
TABELA 5	Alterações clínicas apresentadas pelos cães positivos para o CDV diagnosticados pela RT-PCR, atendidos no HV-UFRPE.	91
TABELA 6	Associações entre os diagnósticos de erliquiose, babesiose e a infestação de carrapatos e utilização de medicamentos parasiticidas de cães atendidos no HV-UFRPE.	98
TABELA 7	Associações entre os achados do hemograma e os resultados da PCR e RT-PCR de cães com erliquiose, babesiose e cinomose atendidos no HV-UFRPE.	100
TABELA 8	Associações entre as frequências absoluta e relativa das variáveis hematológicas e os resultados da PCR e RT-PCR das co-infecções pela <i>Ehrlichia canis</i> , <i>Babesia canis vogeli</i> e CDV de cães atendidos no HV-UFRPE.	106
TABELA 9	Associações entre as frequências absoluta e relativa das variáveis hematológicas qualitativas de cães com diagnóstico para <i>Ehrlichia canis</i> , <i>Babesia canis vogeli</i> e CDV atendidos no HV-UFRPE.	111
TABELA 10	Associações entre as infecções pela <i>Ehrlichia canis</i> , <i>Babesia canis vogeli</i> , CDV e co-infecções diagnosticados pela PCR e RT-PCR com os valores de proteínas plasmáticas totais de cães atendidos no HV-UFRPE	113

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ALT	Alanina aminotransferase
CDV	Vírus da cinomose canina
CHCM	Concentração de hemoglobina corpuscular média
CID	Coagulação intravascular disseminada
DMV	Departamento de Medicina Veterinária
DNA	Ácido desoxiribonucléico
EMC	Erliquiose monocítica canina
UFRPE	Universidade Federal Rural de Pernambuco
UEL	Universidade Estadual de Londrina
HV	Hospital Veterinário
PCR	Reação em cadeia pela polimerase
pMol	Picomol
PPT	Proteínas plasmáticas totais
RDW	Amplitude de distribuição do tamanho das hemácias
RFLP	Polimorfismo de tamanho de fragmento de restrição
RNA	Ácido ribonucléico
RT-PCR	Transcrição reversa seguida da reação em cadeia pela polimerase
μL	Micro litro
VCM	Volume corpuscular médio

SUMÁRIO

	Página
1 INTRODUÇÃO	17
2 REVISÃO DE LITERATURA	19
2.1 Histórico e importância das doenças transmitidas por vetores	19
2.2 Doenças infecciosas caninas emergentes transmitidas por vetores	19
3 ERLIQUIOSE CANINA	21
3.1 Classificação	21
3.2 Histórico	22
3.3 Formas de transmissão e patogenia	23
3.4 <i>Ehrlichia</i> no Brasil	24
3.5 Epidemiologia	25
3.6 Cepas de <i>Ehrlichia canis</i>	26
3.7 Zoonose	26
3.8 Diagnóstico, alterações clínicas e laboratoriais	27
3.9 Tratamento	32
3.10 Co-infecções	33
3.11 Controle de carrapatos	34
4 BABESIOSE	35
4.1 Histórico	35
4.2 Classificação	36
4.3 Formas de transmissão e patogenia	37
4.4 Babesiose no Brasil	39
4.5 Epidemiologia	40
4.6 Zoonose	41
4.7 Alterações clínicas e laboratoriais	42
4.8 Diagnóstico	45
4.9 Tratamento	46
4.10 Co-infecção	47
4.11 Controle de carrapatos	48
5 CINOMOSE	48
5.1 Histórico	48
5.2 Etiologia, particularidades e subtipos	48
5.3 Modos de transmissão e patogenia	49
5.4 Cinomose no Brasil	52
5.5 Alterações clínicas e laboratoriais	52
5.6 Diagnóstico e diagnóstico diferencial	54
5.7 Tratamento	56
5.8 CDV como possível zoonose	57
5.9 Medidas de controle e profilaxia	58
6 CO-INFECÇÕES	59
7 OBJETIVOS	61
7.1 Objetivo geral	61
7.2 Objetivos específicos	61
8 MATERIAL E MÉTODOS	62
8.1 Animais	62
8.2 Coleta de sangue e processamento do material biológico	62
8.2.1 Coleta de sangue	62

8.2.2	Hemograma, PPT, Pesquisa de hemoparasitas e de inclusão viral	63
8.3	Extrações de DNA para detecção da <i>E. canis</i> e <i>B. canis vogeli</i>	63
8.4	PCR para detecção da <i>E. canis</i> e <i>B. canis vogeli</i>	63
8.5	Extração do RNA e RT-PCR para a detecção do CDV	64
8.6	Análise estatística	65
9	RESULTADOS E DISCUSSÃO	67
10	CONCLUSÕES	115
11	REFERÊNCIAS	116
	APÊNDICE	156
	ANEXO	159

1 INTRODUÇÃO

O aumento na população canina associada à relação afetiva e emocional do ser humano levanta preocupações do ponto de vista de saúde pública, uma vez que o cão pode ser responsável pela transmissão de várias doenças zoonóticas (LIBERATI et al., 2009). A investigação clínica e epidemiológica de eventos de doenças em indivíduos ou em populações frequentemente requer a complementação ou confirmação por técnicas laboratoriais. Durante a realização do diagnóstico, deve-se considerar que agentes diferentes podem causar doenças semelhantes e que a elaboração do diagnóstico deve, necessariamente, considerar outros patógenos, tais como vírus, bactérias, fungos e protozoários (FLORES, 2007).

A *Ehrlichia canis*, agente etiológico da erliquiose monocítica canina (EMC) é transmitida pela picada do carrapato *Rhipicephalus sanguineus*. Esta bactéria tem distribuição geográfica mundial e é endêmica nas regiões Tropical e Subtropical, sendo relatada em todo território brasileiro (OLIVEIRA et al., 2009). A técnica de PCR permite o diagnóstico rápido e com sensibilidade semelhante a outras técnicas, o que a torna uma ferramenta para a elaboração do diagnóstico (IQBAL et al., 1994; WEN et al., 1997), inclusive em casos de falso-negativos.

Na erliquiose, a ausência da mórula na célula mononuclear não descarta à possibilidade de infecção e na *Babesia canis vogeli* a sua ausência na hemácia, também não exclui a possibilidade de infecção, por isso os testes diagnósticos devem ser mais específicos e sensíveis para descartar os falsos-negativos e falsos-positivos. O diagnóstico das doenças infecciosas e parasitárias, na maioria das situações, baseia-se em técnicas diretas (parasitológico, culturas bacterianas, fúngicas e reação de cadeia da polimerase-PCR) ou indiretas (testes sorológicos). Diversas limitações diminuem a sensibilidade, especificidade destas técnicas, tornando o inquérito clínico e epidemiológico incompleto. Diante deste quadro, a reação de cadeia da polimerase vem como mais uma ferramenta no diagnóstico destas doenças nos animais de companhia.

No Brasil a *Babesia canis vogeli* é a principal *Babesia* de cães; é uma doença transmitida por carrapatos, que veiculam hematozoários do gênero *Babesia*, que se multiplicam, preferencialmente, em eritrócitos jovens (MURASE et al., 1993). Existem descrições isoladas de *B. gibsoni* baseadas em análise morfológica do parasito em esfregaços sanguíneos corados por Giemsa no estado do Rio Grande do Sul (BRACCINI et al., 1992). A babesiose canina pode manifestar-se sob as formas subclínica, aguda, hiperaguda ou crônica.

A gravidade dos sinais clínicos varia com a espécie da *Babesia* ou com o isolado da *B. canis* envolvido, idade e resposta imune do hospedeiro (SCHETTERS et al., 1997).

A reação em cadeia pela polimerase (PCR) também pode ser utilizada para detectar fragmentos de DNA de *Babesia* spp (FUKUMOTO et al., 2001). Esta técnica é sensível, específica, rápida e simples para o diagnóstico de infecção para várias espécies do gênero *Babesia*. A PCR proporciona o diagnóstico em infecções agudas, subclínicas ou crônicas mesmo nos casos de baixa parasitemia (MACINTIRE et al., 2002). A PCR também pode ser utilizada para monitoramento de terapia, detecção de animais portadores de *Babesia* spp. e em estudos epidemiológicos sobre a distribuição geográfica deste patógeno emergente (PERSING et al., 1992).

Outra doença de importância para a clínica de pequenos animais é a cinomose, uma virose grave comum em animais susceptíveis e que apresenta alta morbidade e letalidade para a população canina (HEADLEY e GRAÇA, 2000; GAMA et al., 2007). Às vezes esta doença está associada com a babesiose, a erliquiose e os veterinários fazem o diagnóstico presuntivo destas enfermidades baseando-se nos sinais clínicos e nos achados do hemograma. Contudo, a confirmação do diagnóstico é difícil, uma vez que resultados laboratoriais como anemia, leucopenia e trombocitopenia não são específicos, porém são sugestivos de hemoparasitoses. A presença de inclusões de Lentz em neutrófilos, por exemplo, é indicativa de diagnóstico para a cinomose, mas a sua ausência não exclui a infecção (GRÖNE et al., 2003).

Atualmente a técnica da reação em cadeia pela polimerase precedida de transcrição reversa (RT-PCR) vem sendo empregada com sucesso na detecção do vírus da cinomose canina (CDV) em diferentes tipos de amostras biológicas provenientes de cães com sinais clínicos sistêmicos e neurológicos (SAHIN et al., 1995; SAITO, 2001; GEBARA, 2002).

Há pouca informação sobre a evolução dos achados clínicos, hematológicos e bioquímicos em cães naturalmente infectados por um ou mais patógenos transmitidos por vetores. Na maioria dos casos, os dados publicados descrevendo alterações hematológicas e bioquímicas em cães infectados por um ou mais patógenos são resultantes de relatos de casos, estudos transversais, ou estudos experimentais envolvendo agentes infecciosos únicos (CARDOSO et al., 2008; BANETH et al., 2009; SCHETTERS et al., 2009).

A investigação clínica da *Ehrlichia canis*, *Babesia canis vogeli* e do CDV é importante, uma vez que, estas afecções podem provocar alterações clínicas significativas nos cães e as co-infecções é comum por estes agentes na prática clínica. Aquino et al. (2011) e Miranda et al. (2011) relataram estas co-infecções. A falta de diagnóstico e de tratamento

médico adequado pode promover o agravamento do quadro clínico e provocar a morte dos animais.

Diante da problemática das infecções e das co-infecções provocadas por *E. canis*, *B. canis vogeli* e do CDV na clínica médica de pequenos animais e da escassez de pesquisas desta natureza no Brasil, propôs-se realizar a caracterização clínica, epidemiológica e hematológica de cães atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Federal Rural de Pernambuco, naturalmente infectados e co-infectados por estes agentes patogênicos utilizando a PCR como método de diagnóstico.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Histórico e importância das doenças transmitidas por vetores

O vínculo humano e animal tem sido uma característica fundamental da história da humanidade há milênios. O primeiro, e mais forte desta relação, acredita-se que pré-data até mesmo a agricultura, indo para trás até 30.000 anos. A mudança da natureza dessas interações entre as pessoas e seus cães em todo o mundo e a crescente tendência para a vida doméstica, a saúde dos cães representa um papel importante na vida familiar. Graças à evolução da compreensão científica e de técnicas de diagnóstico, bem como a mudança de prioridades dos donos de animais, os veterinários são capazes, e de fato esperados, a desempenhar um papel fundamental na prevenção e tratamento das doenças caninas, incluindo as doenças transmitidas por vetores (BANETH et al., 2012).

2.2 Doenças infecciosas caninas emergentes transmitidas por vetores

As doenças infecciosas emergentes são uma ameaça para a população humana dos países em desenvolvimento, assim como nos países industrializados e há inúmeros fatores de risco. As zoonoses são doenças transmitidas entre humanos e animais. Em 2001 foi relatado que existem 1.415 espécies de agentes infecciosos conhecidos como patogênicos para o homem e destes, 868 (61%) são zoonóticos. Além disso, dos 175 patógenos considerados emergentes, 132 (75%) são zoonóticos (JONES et al., 2008).

As doenças transmitidas por artrópodes têm despertado um interesse crescente por parte da comunidade científica, sobretudo devido à re-emergência que estas têm sofrido nos últimos anos. A disseminação global destas enfermidades está diretamente relacionada com as alterações climáticas, o aumento do comércio internacional, a dinâmica das populações animais e humanas e o aparecimento de resistências aos fármacos utilizados para o tratamento

dos artrópodes e aos agentes patogênicos que transmitem (IRWIN e JEFFERIES, 2004; OTRANTO et al., 2007).

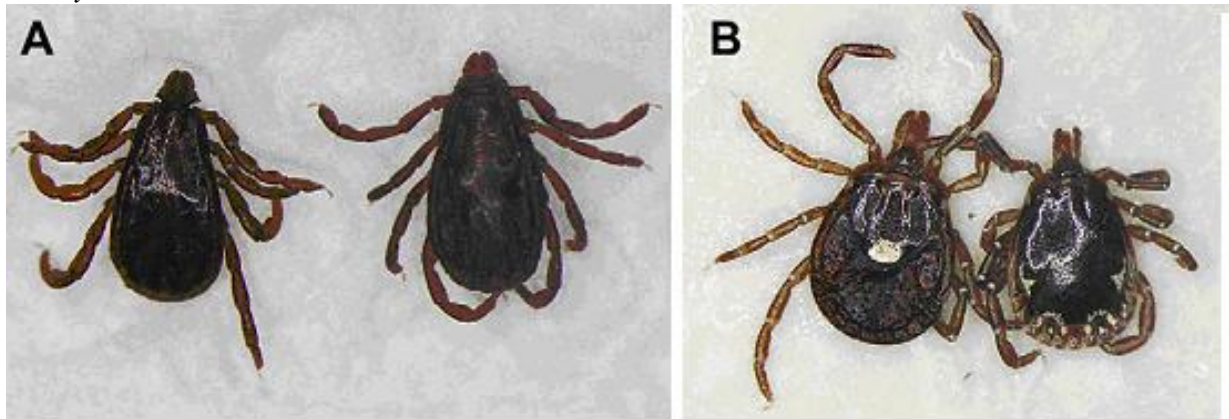
Os ectoparasitos são causadores de várias doenças nos animais domésticos e até mesmo no homem, seja devido a sua ação irritante e/ou espoliativa sobre o hospedeiro, ou pela transmissão de agentes infecciosos (DANTAS-TORRES et al., 2004). Estas afecções transmitidas por vetores estão globalmente distribuídas e estão se disseminando rapidamente. Elas são causadas por vários patógenos e os vetores são os artrópodes, incluindo pulgas, mosquitos e pelos carrapatos (OTRANTO et al., 2009).

Embora não seja habitual, o carrapato *Rhipicephalus sanguineus* tem sido descrito, parasitando humanos no Uruguai (VENZAL et al., 2003), Venezuela (PEREZ et al., 2006) e Brasil (DANTAS-TORRES et al., 2006). Trapp et al. (2006) observaram que o risco de proprietários de cães infestados por *R.sanguineus* também serem parasitados por esse carrapato é de 3,2 vezes maior do que o risco de proprietários de cães não infestados serem parasitados.

O diagnóstico, tratamento e profilaxia de doenças transmitidas por vetores para cães são de grande interesse na prática de pequenos animais (GLASER e GOTHE, 1998; DEPLAZES et al., 2006). As doenças transmitidas por vetores de importância global para os veterinários dos animais de companhia incluem anaplasmose, babesiose, dirofilariose, erliquiose, hepatozoonose, leishmaniose e rickettsioses (OTRANTO e DANTAS-TORRES, 2010).

Uma grande variedade de patógenos é transmitida por carrapatos para cães, incluindo *Babesia* spp., *Ehrlichia* spp., *Anaplasma* spp. e outros (SOLANO-GALLEGO et al., 2006). Como principal transmissor desses agentes tem-se o carrapato *Rhipicephalus sanguineus* (Figura 1A) (INOKUMA et al., 2000), o qual é conhecido como carrapato marrom do cão, uma espécie cosmopolita amplamente encontrada no Brasil, assim como em outras áreas de clima tropical e subtropical (SHAW et al., 2001; BREMER et al., 2005). Embora o *Rhipicephalus sanguineus* seja reconhecido como o principal vetor da EMC, acredita-se que este não seja o único vetor da doença. Outras duas espécies de carrapatos, o *Amblyomma americanum* (Figura 1B) e *Octobius magnini*, sejam descritos como potenciais vetores (RIKIHISA et al., 1992).

Figura 1: Carrapatos vetores da erliquiose e anaplasmose. A- *Rhipicephalus sanguineus*, B- *Amblyomma americanum*.



Fonte: LITTLE (2010).

O diagnóstico das doenças caninas transmitidas por vetores é complexo como frequentemente não há sinais clínicos específicos ou anormalidades clínicas-patológica, apresentações variadas e em muitos casos de infecção assintomática, o que representa um desafio para o clínico, pois há um risco para o cão de doenças emergentes futuras. É importante considerar possíveis co-infecções, pois estas são comuns, e pode conduzir a manifestações clínicas complexas e desafiando diagnósticos. A seleção de exames deve assegurar o uso de padrões científicos, e pode ser necessário combinar múltiplos testes, a fim de excluir infecções simples das co-infecções (BANETH et al., 2012).

Com a evolução das técnicas de diagnóstico molecular, está ocorrendo um aumento na sensibilidade quanto à detecção dos patógenos transmitidos por vetores. As doenças transmitidas por carrapatos são consideradas um problema emergente em climas temperados e ambientes urbanos. Esta situação deve-se em parte às alterações climáticas, à utilização dos solos para atividades de agricultura, lazer e à ecologia dos ixodídeos e dos hospedeiros reservatórios, nomeadamente à sua movimentação para áreas previamente não endêmicas (SHAW et al., 2001; GENCHI, 2006).

3 Erliquiose canina

3.1 Classificação

As espécies do gênero *Ehrlichia* são bactérias cocóides ou elipsoidais, frequentemente pleomórficas, gram-negativas e parasitas intracelulares obrigatórios de leucócitos. Pertencem à Ordem Rickettsiales, Família Anaplasmataceae, subdivisão α das Proteobactérias, que causam doenças no homem e nos animais (WALKER e DUMLER, 1996; DUMLER et al., 2001; PADDOCK e CHILDS, 2003).

O gênero *Ehrlichia* inclui as espécies *Ehrlichia canis*, *Ehrlichia chaffeensis*, *Ehrlichia muris*, *Ehrlichia ruminantium* e *Ehrlichia ewingii*. A *E. ruminantium*, é espécie que infecta os ruminantes e os carrapatos do gênero *Amblyomma* são os vetores, a *E. chaffeensis* parasita humanos e cervídeos (*Odocoileus virginianus*), a *E. ewingii* infecta humanos e cães e o *Amblyomma americanum* e o *Dermacentor variabilis* são os vetores respectivamente destas espécies (DUMLER et al., 2001).

A *E. muris* parasita os roedores, sendo os vetores o *Haemaphysalis flava* e o *Ixodes persulcatus* (INOKUMA et al., 2007). Em geral a espécie de *Ehrlichia* pode ser diferenciada pelo tipo de célula que infecta. A *E. canis* e *E. chaffeensis* infectam monócitos, provocando a erliquiose monocítica, enquanto que a *E. ewingii* invade neutrófilos produzindo a erliquiose granulocítica (VARELA, 2003). No gênero *Ehrlichia* todas as espécies apresentam uma similaridade de cerca de 97,7% na sequência do gene 16S rRNA. Entre a *E. canis* e *E. chaffeensis* e a *E. ewingii* a similaridade é maior que 98,0% (ANDERSON et al., 1991; DUMLER et al., 2001).

3.2 Histórico

A erliquiose monocítica canina (EMC) foi descrita inicialmente por Donatien e Lestoquard em um cão Pastor Alemão no Instituto Pasteur na Argélia em 1935. Porém, esta doença ganhou destaque durante a Guerra do Vietnã, quando produziu grandes perdas entre cães militares (HUXSOLL et al., 1970). Logo depois foi descrita em outras partes da África, no Oriente Médio, como revisado por Ewing (1969). No Brasil, a erliquiose em cães foi relatada pela primeira vez em 1973, na cidade de Belo Horizonte, Minas Gerais (COSTA et al., 1973), sendo este também o primeiro caso diagnosticado na América do Sul. No Estado do Rio de Janeiro, o primeiro caso foi descrito por Carrilo et al. (1976).

Desde então, a EMC tem sido reconhecida mundialmente, sendo endêmica nas regiões tropical e subtropical. A EMC é bastante relatada em todo território brasileiro (OLIVEIRA et al., 2009). É considerada uma das doenças infecciosas mais importantes que acometem os cães, podendo causar infecções graves e fatais (SOUSA et al., 2004; NAKAGHI et al., 2008).

3.3 Formas de transmissão e patogenia

O carrapato infectado, ao fazer o repasto sanguíneo nos cães inocula sua secreção salivar infectada no local da picada, transmitindo o agente (GROVES et al., 1975). A infecção no cão inicia-se a partir dos corpos elementares que penetram nos monócitos e linfócitos, se multiplicando por divisão binária, formando os corpos iniciais que posteriormente darão

origem à mórula, sendo estas, as únicas formas identificadas microscopicamente nos hospedeiros vertebrados (McDADE, 1990; ALMOSNY e MASSARD, 2002).

A ruptura das células hospedeiras libera formas para a infecção de novas células e o processo progride exponencialmente. Ao final da primeira semana após a infecção, os corpúsculos iniciais podem ser observados nas células mononucleares; ao final da segunda semana, observam-se as mórulas, que são resultado do crescimento adicional dos corpúsculos iniciais. Uma ou mais mórulas podem estar infectando a mesma célula hospedeira (MARCONDES, 2009). Johnson et al. (1998) demonstraram experimentalmente que o *Dermacentor variabilis*, também é capaz de transmitir *E. canis* aos cães. Espécies de carrapatos, tais como *A. cajennense*, foram suspeitos de atuar como vetor de *E. canis* em áreas rurais (COSTA JR et al., 2007).

A transmissão da EMC aos cães ocorre durante o parasitismo por ninfas e ou adultos do carrapato *R. sanguineus* parasitados com *E. canis*, o qual mantém a bactéria por transmissão transestadial. Como não ocorre transmissão transovariana de *E. canis* em carrapatos, as larvas de *R. sanguineus* não são importantes na transmissão, porém podem se infectar pelo agente, e esta infecção se mantém nos estágios de ninfa e adultos (BREMER et al., 2005). Embora a infecção natural nos cães ocorra principalmente durante o repasto sanguíneo de carrapatos infectados pela *E. canis*, outra forma de a transmissão aos cães ocorre por meio de transfusões sanguíneas de um cão infectado para outro suscetível (EWING, 1969; REINE, 2004; BORIN et al., 2009).

Durante o período de incubação de 8 a 20 dias, a *E. canis* se multiplica em macrófagos do sistema mononuclear fagocitário, por fissão binária, disseminando por todo o corpo. O curso subsequente da EMC tem sido dividido em três fases, aguda, subclínica e crônica, baseada nos sinais clínicos e anormalidades clínico-patológicas demonstradas em estudos por infecção experimental. Porém a diferenciação precisa das fases da EMC na ocorrência natural da infecção é difícil (NEER e HARRUS, 2006).

3.4 Ehrlichia no Brasil

A EMC é amplamente detectada em todo o Brasil. Três espécies foram descritas até o momento no Brasil, a *E. canis* (COSTA et al., 1973; LABRUNA et al., 2007; UENO et al., 2009), *E. ewingii* acometendo cães com diagnóstico confirmado pela nested-PCR em Minas Gerais (OLIVEIRA et al., 2009) e a *E. chaffeensis*, a presença desta espécie é relatada em cães, por sorologia, no Estado de Minas Gerais (GALVÃO et al., 2002) e por reação em cadeia pela polimerase (PCR) em cervídeo (*Blastocerus dichotomus*) capturado no Rio Paraná

entre o sudoeste do Estado de São Paulo e leste de Mato Grosso do Sul (MACHADO et al., 2006). O DNA de *E. muris* e *E. ruminantium* ainda não foram identificados no Brasil (VIEIRA et al., 2011).

No Brasil, as frequências de carrapatos *R. sanguineus* encontrados naturalmente infectados por *E. canis* têm variado de 2,3 a 6,2% (AGUIAR et al., 2007). Este carrapato encontra-se preferencialmente em regiões urbanas do país, porém também ocorre em menores densidades nas áreas rurais e provavelmente, em todo o território nacional. É uma espécie de difícil controle, o que contribui para a manutenção da *E. canis* em regiões tropicais e subtropicais (SHAW et al., 2001; BREMER et al., 2005). A incidência de erliquiose canina é mais acentuada em áreas urbanas, provavelmente devido ao fato que a maioria dos cães urbanos são criados em espaços restritos, o que favorece o estabelecimento de populações de *R. sanguineus* (LABRUNA e PEREIRA 2001).

Fatores epidemiológicos relacionados às condições climáticas, distribuição do vetor, população sob estudo, comportamento animal e habitat, assim como a metodologia empregada na investigação do agente, podem afetar os níveis de prevalência da erliquiose monocítica canina no Brasil (DAGNONE et al., 2001).

Estudos epidemiológicos Brasileiros têm revelado prevalências de EMC que variam de 4,8 a 65% em cães de ambiente urbano ou rural (AGUIAR et al., 2007; COSTA Jr. et al., 2007; SAITO et al., 2008). Em cães atendidos em clínicas e hospitais veterinários, a frequência de animais infectados tem oscilado entre 20 a 30%, diagnosticada por testes sorológicos ou moleculares (DAGNONE et al., 2003; LABARTHE et al., 2003; BULLA et al., 2004; TRAPP et al., 2006). Apesar da existência de relatos da EMC acometendo cães em todo o país, dados precisos sobre a prevalência da doença nas diferentes áreas do Brasil ainda são muito escassos (VIEIRA et al., 2011) (Figura 2).

Figura 2: Ocorrência de infecção pela *Ehrlichia* spp. por testes moleculares e sorológicos em cães no Brasil.



Fonte: VIEIRA et al. (2011).

3.5 Epidemiologia

Não há predisposição racial, sexual ou etária para infecções para *E. canis* (NEER e HARRUS, 2006; BORIN et al., 2009; UENO et al., 2009; SILVA et al., 2010; SOUSA et al., 2010). Entretanto, cães da raça Pastor Alemão parecem ser mais suscetíveis do que outras raças, mostrando a forma mais grave da doença, com uma morbidade e mortalidade mais elevada quando comparado com outras raças (NYINDO et al., 1980).

Borin et al. (2009) verificaram cães entre um mês e 18 anos infectados pela *Ehrlichia* spp., sendo que destes, 38% encontravam-se na faixa etária de um a 23 meses de idade. Baneth et al. (1996) descreveram maior prevalência em cães adultos e idosos, associando ao fato de maior tempo de exposição destes ao hospedeiro invertebrado e maior suscetibilidade para os cães idosos. Ueno et al. (2009) observaram maior positividade para *E. canis* nos animais com até 12 meses.

Moreira et al. (2003) observaram que 61,5% dos cães acometidos pela EMC eram fêmeas e Borin et al. (2009) verificaram maior positividade para *Ehrlichia* spp., nas fêmeas, representando (61,1%) dos animais, em contrapartida, os machos representaram (38,9%) dos diagnósticos. Sousa et al. (2010) detectaram pelo exame parasitológico sanguíneo que 47 dos animais positivos para erliquiose, 18 eram machos e 29 eram fêmeas, 18 tinham menos de um ano de idade, 15 entre um a quatro anos e idade, nove entre quatro a oito anos de idade e em relação as raças, o maior número foi representado pelos cães sem definição racial.

3.6 Cepas da *Ehrlichia canis*

São conhecidas três cepas da *Ehrlichia canis*, a cepa Flórida, a Oklahoma e Israelense (ANDEREG e PASSOS, 1999). Os fatores que aparentemente afetam o grau de virulência da infecção, bem como o seu progresso, incluem variações de cepas, raça do cão, idade, estado imunológico e a presença ou não de outras doenças concomitantes (WOODY e HOSKINS, 1991; NEER, 1998).

3.7 Zoonose

A erliquiose é uma “zoonose emergente” (BORJERSSON, 2000) cujo reconhecimento precoce é importante. A erliquiose tem sido motivo de grande interesse tanto para pesquisas em medicina veterinária quanto para a saúde pública em decorrência das descobertas de infecção em humanos (STICH et al., 2008). Há relatos da infecção por *E. canis* na Venezuela (PEREZ et al., 2006) e da *Ehrlichia* spp. nos Estados Unidos (HARKESS, 1989).

A infecção em seres humanos por um microrganismo muito semelhante à espécie *E.canis* foi descrita pela primeira vez em 1987 (FISHBEIN et al., 1987; MAEDA et al., 1987), em um paciente com febre, mialgia, fraqueza e confusão mental. A erliquiose humana é uma causa comum de hospitalização por doença febril de causa desconhecida na Geórgia (EUA), sendo mais comum nesta região do que a febre maculosa (FISHBEIN et al., 1989).

Crianças com quadros clínicos diversos com sorologias positivas para *E. canis* foram descritas (DORAN et al., 1989; GOLDEN e SPRINGFIELD, 1989). As altas taxas de soropositividade para *E. canis* em seres humanos com sintomas clínicos diversos ocorrem em algumas regiões dos Estados Unidos (ENG et al., 1990), tendo ocorrido um surto de erliquiose humana em soldados do exército americano em uma área onde a doença de Lyme era endêmica (PETERSEN et al., 1989).

Algumas espécies da *Ehrlichia* são importantes nos seres humanos: a erliquiose monocítica (EMH) humana causada pela *Ehrlichia chaffeensis*; e a erliquiose granulocítica

humana (EGH), a *E. ewingii* (OLANO e WLAKER, 2002). As EMH e EGH foram descritas mundialmente (OTEO et al., 2000; GUILLAUME et al., 2002; GARDNER et al., 2003; RUSCIO e CINCO, 2003). Três casos de erliquiose monocítica humana no Brasil foram identificados sorologicamente em 1980 (CALIC et al., 2004; COSTA et al., 2005; 2006), mas a confirmação molecular não foi realizada.

Isolados de *E. canis* foram obtidos com sucesso na cultura de células sanguíneas de uma pessoa assintomática na Venezuela (PEREZ et al., 1996). A análise genética da sequência do isolado identificou a *E. canis* que infecta os cães e os carrapatos *Rhipicephalus sanguineus* em uma área da Venezuela, sugerindo que a infecção humana seja transmitida por este mesmo carrapato (UNVER et al., 2001).

Existe evidência sorológica de erliquiose humana na Argentina e no Brasil (RIPOLI et al., 1999; CALIC et al., 2004). Embora não seja habitual, o carrapato *Rhipicephalus sanguineus* foi descrito parasitando pessoas no Uruguai (VENZAL et al., 2003), Venezuela (PEREZ et al., 2006) e no Brasil (DANTAS-TORRES, 2006). Fato que deve ser considerado, pois estes artrópodes podem veicular agentes patogênicos tanto para os cães como para os seres humanos.

De acordo com Vieira (2012) a alta soroprevalência de *Ehrlichia canis* em cães no Paraná e a evidência de anticorpos anti-*Ehrlichia* spp. em humanos, reforçam que os casos de erliquiose humana no Brasil podem ser causados por essa bactéria.

3.8 Diagnóstico, alterações clínicas e laboratoriais

Em virtude da gravidade da EMC e do seu caráter endêmico em regiões tropicais e subtropicais, a detecção precoce da infecção é extremamente importante. Dessa forma, há grande preocupação com o desenvolvimento e uso cada vez maior de novas técnicas para o diagnóstico da infecção por *E. canis* (HARRUS e WANER, 2011).

O diagnóstico da erliquiose é baseado nos sinais clínicos, anormalidades hematológicas, achados citológicos e sorológicos. Além de métodos moleculares como a reação em cadeia pela polimerase (PCR), que está sendo incorporada ao plano diagnóstico (NEER e HARRUS, 2006). Reinhardt et al. (2012) relataram a detecção do DNA da *E. canis* da secreção ocular de uma cadela que apresentava uveíte, conjuntivite e sinais clínicos sistêmicos utilizando a PCR em tempo real.

As técnicas sorológicas (Dot-ELISA e a reação de imunofluorescência indireta-RIFI) são utilizadas no diagnóstico da erliquiose canina com alta sensibilidade e especificidade. A procedência do antígeno (em geral proveniente de culturas de células infectadas com

Ehrlichia) influi na sensibilidade e especificidade. A RIFI e o Immunocomb® (Biogal, Israel) utilizam a cultura de *Ehrlichia* como antígeno, enquanto que o Snap® 3DX (IDEXX Laboratories Inc., USA) utiliza duas proteínas específicas de *E. canis* (p30 e p30-1) (OHASHI et al., 1998; WANER et al., 2001).

Um teste ELISA utilizando como antígeno a proteína recombinante da *E. canis* (rMAP2) foi desenvolvido e mostrou-se eficaz na detecção de anticorpos anti-*E.canis* (ALLEMAN et al., 2001). A acentuada homologia genética das espécies do gênero *Ehrlichia* é a causa do repertório antigênico semelhante que compartilham contribuindo para a ocorrência de reações cruzadas nos testes sorológicos (SOUZA, 2008).

O western blot (WB) é outra técnica utilizada no diagnóstico da erliquiose cuja sensibilidade é semelhante à RIFI. O princípio da técnica é idêntico ao do Dot-Elisa. O WB, o antígeno solúvel é submetido à separação eletroforética em gel de poliacrilamida e transferida para uma membrana. Porém é uma técnica cara e requer mais tempo (RIKIHISA et a., 1992; IQBAL et al., 1994).

A presença de mórulas intracitoplasmáticas de *E. canis* foi evidenciada em esfregaços corados da punção da medula óssea em cães naturalmente e experimentalmente infectados (SILVA, 2001; MOREIRA et al., 2002). A identificação microscópica de mórulas, em esfregaços de sangue periférico, é uma das formas de diagnóstico desta doença. Existem três formas intracitoplasmáticas descritas: corpo inicial, corpo elementar e mórula, aparecendo como inclusões basófilas, observáveis com corantes derivados do método Romanowsky (CFSPH, 2005).

O cultivo de *E. canis* foi realizado em células DH82 (TORRES et al., 2002) e em monócitos de sangue periférico canino (SAITO, 2003), sendo um método sensível na detecção de infecção aguda precoce e crônica, porém laboriosa e com resultados positivos a partir de 14 até 40 dias de cultivo.

As bactérias do gênero *Ehrlichia* sp. induzem resposta humoral específica, base para o diagnóstico sorológico (RIKIHISA, 1991), ocorrendo soroconversão nos animais logo após a infecção (OTRANTO et al., 2009). Embora as técnicas sorológicas sejam eficientes, a presença de anticorpos não indica uma infecção ativa, tornando necessária a confirmação do diagnóstico por outras técnicas. A PCR é o método de diagnóstico direto que tem evidenciado elevada sensibilidade e especificidade (IQBAL e RIKIHISA, 1994; IQBAL et al., 1994). A principal vantagem do método é ser espécie-específico para as diferentes espécies de *Ehrlichia* o que nem sempre é possível com outras técnicas (SOUZA, 2008).

Dessa forma, a detecção molecular do agente da EMC tem sido realizada pela reação em cadeia pela polimerase (PCR) e pelas suas variações como a nested PCR (nPCR), identificando cães experimentalmente (fase aguda precoce) e naturalmente infectados, em fase crônica e em vetores ixodídeos, com maior sensibilidade e especificidade no diagnóstico da EMC (ALVES et al., 2002; BULLA et al., 2002; DAGNONE et al., 2004; NAKAGHI et al., 2004; MACIEIRA et al., 2005).

A escolha da amostra para exame na PCR é determinada pela fase da infecção no animal, e preferencialmente, deve ser utilizado o aspirado esplênico, embora nos animais com infecção crônica deva ser obtido pela análise da medula óssea (MYLONAKIS et al., 2004). Isso se deve ao fato do baço ser o local de origem de replicação da *Ehrlichia*, na fase subclínica (HARRUS et al., 2004). Em estudo realizado com tecidos de cães obtidos durante a necropsia, um grande número de animais positivos na PCR para *E. canis* foi observado em linfonodos e sangue coagulado, enquanto que o baço e o fígado foram os órgãos que apresentaram menor número de reações positivas (GAL et al., 2008).

A EMC é caracterizada por manifestações clínicas multissistêmicas, que variam na intensidade de acordo com as fases da doença. As principais alterações clínicas observadas na fase aguda são apatia, anorexia, vômito, secreção oculonasal, esplenomegalia, mucosas pálidas, petéquias, epistaxe, fraqueza, sangramentos, perda de peso e uveíte (NAKAGHI et al., 2008; BORIN et al., 2009; HARRUS e WANER, 2011). Estes sinais clínicos geralmente diminuem espontaneamente dentro de uma a quatro semanas, porém os cães podem entrar numa fase assintomática ou subclínica, podendo permanecer infectados por longos períodos (ORIÁ et al., 2004; NEER e HARRUS, 2006). Podem ocorrer alterações no sistema nervoso e essas manifestações neurológicas ocorrem como resultado de meningite e ou de sangramento meníngeo (HARRUS e WANER, 2011).

Munhoz et al. (2012) avaliando cães infectados experimentalmente pela *Ehrlichia canis* em Jaboticabal em São Paulo, observaram que a avaliação das proteínas de fase aguda, a ceruloplasmina e a glicoproteína ácida, podem contribuir para o diagnóstico precoce da erliquiose canina, pois elas mantiveram-se aumentadas antes do início do aparecimento dos sinais clínicos e das alterações laboratoriais.

Tenório et al. (2007) relataram que mórulas podem ser detectadas em granulócitos da medula óssea de cães naturalmente infectados pela *Ehrlichia* spp. e o mielograma pode auxiliar no diagnóstico parasitológico da erliquiose canina. Em situações onde houver dificuldades para o diagnóstico desta doença, a avaliação da medula óssea é importante para se obter informações sobre desordens hematológicas primárias, além de determinar o

diagnóstico e o prognóstico da infecção, assim como monitorar procedimentos terapêuticos (GRINDEM et al., 2002).

Na erliquiose aguda pode ocorrer trombocitopenia, antes do início dos sinais clínicos, anemia, leucopenia por linfopenia e eosinopenia. Leucocitose e monocitose à medida que a doença se torna crônica. Na bioquímica sérica, podem ocorrer alterações inespecíficas como aumentos brandos na alanina aminotransferase (ALT), fosfatase alcalina (FA), uréia, creatinina, bilirrubina total, hiperglobulinemia, hipoalbuminemia em decorrência de perdas protéicas renais. Pode-se ocorrer proteinúria com ou sem azotemia em cerca da metade dos pacientes. Quando o processo está crônico pode-se ocorrer pancitopenia típica, à medida que o processo se cronifica. Há gamopatia policlonal, mas também ocorrem gamopatias monoclonais (IgG). Se ocorrer glomerulonefrite secundária a erliquiose haverá elevações na uréia e creatinina (BARR, 2008).

A fase crônica desenvolve-se em alguns animais após a fase subclínica e caracteriza-se por supressão medular, sangramentos por mucosas, conjuntivas e alta letalidade, sendo comumente mais grave que as outras fases da EMC. Nesta fase ocorre grave comprometimento da medula óssea, a produção de elementos sanguíneos fica prejudicada, resultando em pancitopenia (DAGNONE et al., 2001). Os sinais clínicos desta fase são semelhantes aos observados na fase aguda, porém com maior intensidade e gravidade. Frequentemente observa-se palidez das mucosas, fraqueza, sangramento e perda de peso significativa (HARRUS e WANER, 2011). Cães nesta fase podem eventualmente morrer por infecções secundárias ou sangramentos incontroláveis, portanto, a identificação da doença antes de entrarem na fase crônica da EMC é muito importante para o prognóstico (NEER e HARRUS, 2006).

As alterações oftálmicas podem estar presentes em todas as fases da doença e envolvem a maioria das estruturas oculares. A prevalência de lesões oculares em casos de infecção natural varia de 10% a 15% e a severidade do comprometimento ocular varia de acordo com o paciente (ORIÁ et al., 2004). Essas lesões incluem uveíte anterior, coriorretinite e hemorragia da retina. A cegueira pode ocorrer como resultado da hiperviscosidade sanguínea levando à hemorragia sub-retiniana e descolamento de retina (HARRUS e WANER, 2011).

A infecção pela *E. canis* pode resultar em doença pulmonar intersticial significativa, o que tem sido chamada de erliquiose atípica (CODNER et al., 1985). Doença intersticial pulmonar grave pode causar hipertensão pulmonar (HP) acentuada. Assim, cães com HP

associada à doença pulmonar intersticial devem ser incluídos no diagnóstico diferencial da EMC, especialmente em cães de áreas endêmicas (LOCATELLI et al., 2012).

A infecção pela *Ehrlichia canis* resulta no desenvolvimento de anticorpos específicos, que podem ser observados na circulação sanguínea de sete dias (IgM) a 15 dias (IgG) após a infecção (WANER et al., 2001). Os testes sorológicos disponíveis atualmente para o diagnóstico da erliquiose canina apresentam vantagens por dispor de resultados qualitativos e quantitativos, o que, por sua vez pode facilitar o diagnóstico. Testes como RIFI e o ELISA apresentam a desvantagem de necessitarem de equipamentos para leitura dos resultados (microscópio de fluorescência e leitor de ELISA) ao contrário dos testes Dot-ELISAs nos quais os resultados são lidos visualmente, característica esta, que é apreciada pelos médicos veterinários que trabalham em clínicas e em hospitais veterinários (SOUZA, 2008).

As alterações hematológicas da EMC estão associadas com processos inflamatórios e imunomediados desencadeados pela infecção. A trombocitopenia é a anormalidade hematológica mais comum nos cães infectados pela *E. canis* e ocorre em todas as fases da doença (GAUNT et al., 1996; HARRUS et al., 1999; CASTRO et al., 2004; NAKAGHI et al., 2008). Na fase aguda ocorre trombocitopenia entre 10 e 20 dias pós-infecção e um aumento de plaquetas imaturas circulantes, que persiste por toda a doença na maioria dos animais (NEER e HARRUS, 2006).

As anormalidades laboratoriais características na fase aguda incluem trombocitopenia, leucopenia e anemia leve. A trombocitopenia nesta fase pode ocorrer por aumento no consumo de plaquetas, aumento no sequestro esplênico e destruição imunomediada ou por diminuição da meia vida das plaquetas. A própria infecção por *E. canis* causa lise de plaquetas, porém, casos sem trombocitopenia podem ocorrer. Ocorre também alteração na função das plaquetas, com muitos animais apresentando sangramento superficial, mesmo com o número de plaquetas e perfil de coagulação normais (ALMOSNY e MASSARD, 2002; ACCETTA, 2008).

Ueno et al. (2009) detectaram anemia em 89, 28% ($<5,5 \times 10^6$ eritrócitos. μ L) dos cães positivos pela PCR para *E. canis*, 100% dos animais positivos tiveram trombocitopenia (plaquetas $<175 \times 10^3$. μ L) e 28 (57%) apresentaram leucopenia ($<5,5 \times 10^3$ leucócitos. μ L).

3.9 Tratamento

Com o tratamento adequado, os cães se recuperam das infecções agudas, mas, os cães não tratados ou tratados inapropriadamente podem desenvolver infecções clínicas persistentes e assim podem se tornar portadores assintomáticos do organismo por anos (KELCH, 1984), podendo servir como fonte de infecção. Por isso, é extremamente importante diagnosticar a

erliquiose canina no estágio inicial, o que pode melhorar o prognóstico dos cães tratados (IQBAL et al., 1994).

Cães infectados cronicamente possuem um prognóstico ruim e podem apresentar melhora gradual ou nenhuma melhora após o tratamento (GREENE e HARVEY, 1990). O tratamento prolongado é geralmente necessário para animais com infecções crônicas severas. Em alguns casos, pode ser necessário instituir terapia de apoio com fluidos, transfusão sanguínea, vitaminas, corticóides ou esteróides anabólicos (COHN, 2003).

Vários tratamentos são descritos para erliquiose canina (HARRUS et al., 1997), sendo as tetraciclina as que apresentam os melhores resultados (AMYX et al., 1971). Dentre as tetraciclina, a doxiciclina destaca-se. O colégio Americano de Veterinária e Medicina Interna recomenda no mínimo 10mg/Kg de Doxiciclina a cada 12 horas durante 28 dias. Nas condições imunomediadas associadas com a *Ehrlichia canis*, como poliartrite, meningite e vasculite, os glicocorticóides devem ser utilizados, por curto tempo de 2 a 7 dias em dosagens imunossupressoras, com a prednisolona na dose de 2mg/Kg (NEER e HARRUS, 2006). Cita-se também o uso do cloranfenicol (MADIGAN, 1987; TROY e FORRESTER, 1990) e da enrofloxacina (KONTOS e ATHANASIOU, 1998).

Outras drogas foram avaliadas para o tratamento da EMC e a rifamicina pode ser efetiva parcialmente em cães com infecção experimental aguda pela *E. canis*, os animais melhoraram significativamente a trombocitopenia e os autores sugeriram que esta medicação possa ser considerada como uma alternativa no tratamento antibacteriano da EMC, especialmente em animais intolerantes a doxiciclina (THEODOROU et al., 2013).

O imidocarb, uma droga antiprotozoariana, tem sido utilizada com sucesso nos casos de resistência de infecção pela *E. canis*. Os efeitos do imidocarb incluem sialorréia, descarga nasal serosa, diarreia e dispnéia. Esses sinais são resultado dos efeitos anticolinesterásicos (NEER e HARRUS, 2006). O imidocarb e a doxiciclina, em associação ou isoladamente, são consideradas a melhor estratégia terapêutica para a infecção pela *E. canis* (MYLONAKIS et al., 2001). Entretanto, Sousa et al. (2004) avaliaram a resposta hematológica de 18 cães com infecção natural pela *E. canis*, um grupo foi tratado exclusivamente pela doxiciclina e outro com Imidocarb associado com a doxiciclina e verificaram que ambos os tratamentos resultaram em melhora clínica e aumento das células sanguíneas. Os autores constataram que a resposta terapêutica foi indiferente quanto ao uso ou não do imidocarb nos casos de erliquiose canina.

Os resíduos metabólicos do imidocarb são depositados no fígado e rim por um período longo, o que pode resultar em necrose desses órgãos. Além disso, eventualmente também podem ocorrer efeitos colinérgicos indesejáveis (ANDRADE e SANTARÉM, 2002).

Em conjunto ao tratamento antibacteriano, a terapia de suporte deve ser realizada com fluidoterapia e transfusão sanguínea nos casos de anemia severa. A transfusão sanguínea não aumenta o número de plaquetas e neste caso, o plasma rico em plaquetas pode ser necessário nesta situação (NEER e HARRUS, 2006). Faltam dados para o uso de fatores de crescimento granulocítico e da eritropoietina. No entanto, os resultados de um relato de caso sugerem que eles poderiam ser úteis no tratamento da erliquiose crônica severa (AROCH e HARRUS, 2001). O Quadro 1 apresenta os medicamentos utilizados para o tratamento da erliquiose monocítica canina.

Quadro 1-Medicamentos utilizados para o tratamento da erliquiose monocítica canina

Droga	Dose (mg/kg)	Via de administração	Intervalo	Duração (dias)
Doxiciclina	10	PO (IV)	12-24	28
Minociclina	10	PO (IV)	12	28
Tetraciclina	22	PO	8	28
Oxitetraciclina	25	PO (IV)	8	28
Cloranfenicol	15-25	PO (IV, SC)	8	28
Imidocarb	5	IM, SC	Dose única	Repetição com 2-3 semanas
Amicarbilide	5-6	IM	Dose única	Repetição com 2-3 semanas

Fonte: NEER e HARRUS (2006).

3.10 Co-infecções

A infecção concomitante da *E. canis* com outros hemoparasitos comumente é frequente em regiões endêmicas. Dessa forma, buscando facilitar o diagnóstico das principais hemoparasitoses caninas, protocolos que detectam mais de um agente etiológico em uma mesma reação têm sido desenvolvidos. Kledmanee et al. (2009) desenvolveram uma PCR multiplex capaz de realizar a detecção simultânea de *E. canis*, *Babesia* sp. e *Hepatozoon canis*, em uma mesma amostra de sangue canino.

Uma grande variedade de fatores, incluindo o tamanho do inóculo de *E. canis*, podem influenciar o curso e o resultado da infecção nos cães. A manifestação da doença pode ser afetada pela patogenicidade das diferentes cepas de *E. canis* e por co-infecções com outros

patógenos, como *Babesia canis vogeli* e *Hepatozoon canis* transmitida pelo mesmo vetor (NEER e HARRUS, 2006; GAL et al., 2007; HARRUS e WANER, 2011).

3.11 Controle de carrapatos

A eliminação eficaz de populações de carrapatos exige uma estratégia de controle integrado, visando à população canina, bem como o meio ambiente. Apenas 5% dos carrapatos estão no cão e o remanescente (95%) no ambiente (DANTAS-TORRES, 2008).

O *Rhipicephalus sanguineus* tirou proveito do aquecimento central para propagar-se e nas zonas temperadas, onde ele gera muitas vezes populações enormes em abrigos, canis e hospitais veterinários; durante o inverno, ele não consegue sobreviver no meio externo no Norte. Os cães que vivem em regiões temperadas adquirem com frequência este artrópode nesse tipo de instalação infestada, mas durante o verão, a infestação pode ocorrer ao ar livre. Em consequência, para a obtenção de resultados duráveis, a eliminação desses carrapatos deve incluir o tratamento acaricida tanto nos cães, quanto ao ambiente em que estes vivem (BOWMAN, 2010).

O uso de acaricidas em cães é geralmente eficaz para eliminar as infestações de carrapatos e para prevenir reinfestações durante certo período de tempo. A frequência do tratamento vai depender do grau de infestação e a duração do efeito residual do acaricida (DANTAS-TORRES, 2008). Os cães podem ser tratados com uma gama diversificada de produtos veterinários, como formulações spot-on, coleiras impregnadas, xampus, sprays e pós (GARRIS, 1991). Fipronil, amitraz, carbaril e piretróides (deltametrina, permetrina e cipermetrina), estão entre os acaricidas mais frequentemente utilizados para controlar o carrapato *R. sanguineus* (ALCAÍNO et al., 1995; FRANC e CADIERGUES, 1999; JERNIGAN et al., 2000; OTRANTO et al., 2005).

O tratamento ambiental pode ser eficaz apenas quando áreas restritas são tratadas. A eficácia dessa estratégia depende de um número de fatores, tais como o nível de infestação do meio ambiente, presença de infestações em áreas ao lado do tratado, efeito residual do acaricida e das condições ambientais. Há muitas preocupações sobre o uso de acaricidas no ambiente. O uso indevido pode causar poluição ambiental e toxicidade para seres humanos e outros organismos não – alvo (DANTAS-TORRES, 2008). O uso indevido e em longo prazo é um problema grave que pode resultar em poluição ambiental e causar resistência a acaricidas nos carrapatos (LABARTHE, 1994).

O controle da infestação de *R. sanguineus* utilizando uma combinação de fipronil, amitraz e (S)-metopreno em cães foi relatado, no qual observou-se uma eficácia entre (98,4-

100%) alcançada nas primeiras 48 horas após o tratamento (HUNTER et al., 2011). Foi demonstrado que a aplicação de uma combinação de imidacloprid a 10% e permetrina a 50% reduziu infecção por *E. canis* em cães em condições de campo no Sul da Itália (OTRANTO et al., 2008).

A capacidade de evitar a transmissão pela *Ehrlichia canis* foi avaliada através da aplicação tópica de uma combinação de fipronil, amitraz e (S) – metopreno em dois grupos de cães, um grupo foi tratado com esse medicamento tópico, enquanto o outro grupo não foi tratado. Todos os cães foram expostos a *E. canis* através do contato do *Rhipicephalus sanguineus* infectado. A eficácia do produto contra *R. sanguineus* foi de 100%, uma vez que não foram encontrados carrapatos nos cães tratados em nenhum momento. Os exames clínicos e as coletas de sangue para PCR e sorologia foram realizadas e constatou-se negatividade pela ausência de anticorpos e do DNA da *E. canis* nos animais que fizeram uso dessa formulação e nenhum dos animais tratados tornou-se infectado, em comparação com o grupo controle, onde 62,5% foi infectado por esta bactéria (FOURIE et al., 2013).

4 Babesiose canina

4.1 Histórico

Babesia foi descrita pela primeira vez em 1888 pelo naturalista húngaro Victor Babes como o agente responsável por cerca de 50.000 mortes anuais entre o gado na Romênia durante o século XIX. A babesiose canina foi diagnosticada pela primeira vez na Itália. Posteriormente, a doença foi reconhecida em outros países da Europa, na América, na Ásia e na África. No Brasil, Pestana, em 1918, verificou uma doença semelhante em São Paulo, descrevendo uma nova espécie de agente etiológico à qual denominou *Piroplasma vitalii*, e em seguida de *Babesia canis* (ANTONIO et al., 2009).

4.2 Classificação

Os gêneros *Babesia* e *Theileria* pertencem ao filo Apicomplexa, classe Piroplasma e ordem Piroplasmida. *Babesia* e *Theileria* estão relacionados estruturalmente, funcionalmente e filogeneticamente com as espécies de *Plasmodium* que causa a malária (KUO et al., 2008; LAU, 2009). *Babesia canis* e a *Babesia gibsoni* são as duas espécies capazes de infectar os cães e estes microorganismos estão distribuídos mundialmente (TABOADA e LOBETTI, 2006).

Babesia canis rossi, *B.canis canis* e *Babesia canis vogeli* foram anteriormente consideradas como subespécies da *B.canis* e são idênticas morfologicamente, mas demonstraram variações tremendas na distribuição geográfica, especificidade vetorial, características genéticas, e os sinais clínicos que eles provocam nos cães, e são, portanto, consideradas como espécies distintas (ZAHLER et al., 1998; CARRET et al., 1999; CACCIO et al., 2002; IRWIN, 2009).

A babesiose canina é causada por hematozoários que são classificados como *Babesia* grande (5x2.5µm) ou pequena (2x1,5µm) (KUTTLER, 1988). A *Babesia* grande foi dividida em três espécies diferentes, a *Babesia canis canis*, *Babesia canis rossi* e *Babesia canis vogeli* (SCHETTERS, 2005). Uma nova espécie de *Babesia* grande foi identificada, a *Babesia* sp. (Coco) (BIRKENHEUR et al., 2004; LEHTINEN et al., 2008). As diferentes espécies de *Babesia* estão classificadas de acordo com o tamanho no Quadro 2.

Quadro 2 - Espécies de *Babesia* spp. e sua classificação quanto ao tamanho

Grupo	Espécies
Grande <i>Babesia</i>	<i>Babesia canis canis</i>
	<i>Babesia canis rossi</i>
	<i>Babesia canis vogeli</i>
	<i>Babesia</i> spp. (coco)
Pequena <i>Babesia</i>	<i>Babesia gibsoni</i>
	<i>Babesia conradae</i>
	<i>Babesia microti</i> (<i>Theileria annae</i>)

Fonte: MATIJATKO et al. (2012) (modificado).

Foi identificada uma nova espécie de *Babesia*, parasitando cães na Califórnia, Estados Unidos. Trata-se de uma pequena *Babesia* que apresenta características parecidas com a *B. microti* e a *Theileria* spp. A nova espécie foi denominada de *B. conradae*. Acredita-se que essa nova espécie seja transmitida pelo *R. sanguineus*, pela via transtestadial (KJEMTRUP et al., 2006). Outra espécie de *Babesia* foi caracterizada na Carolina do Norte, Estados Unidos, causando doença em um cão, que apresentava anemia, trombocitopenia e leucopenia. Trata-se de uma grande *Babesia* que na caracterização genética apresentou homologia de 93,9% com a sequência da *B. bigemina* e 93,5% com *B. caballi*. Quando comparada à *B. c. vogeli*, à *B. c.*

canis e à *B. c. rossi*, o isolado apresentou apenas 91,2 –91,6% de homologia (BIRKENHEUER et al., 2004).

4.3 Formas de transmissão e patogenicidade

A distribuição geográfica do agente causador e, assim, a ocorrência da babesiose são em grande parte dependentes do habitat das espécies de carrapatos vetores. O conhecimento da prevalência e das condições clínico-patológicas causadas pelas espécies de *Babesia* que infectam os cães e canídeos selvagens em todo o mundo é de interesse epidemiológico e médico (SOLANO-GALLEGO e BANETH, 2011).

Os vetores da *Babesia* spp. são os carrapatos pertencentes à família Ixodidae, sendo os principais responsáveis pela transmissão da doença os da espécie *Rhipicephalus sanguineus*, conhecido como carrapato vermelho do cão. Algumas espécies, como o *Dermacentor* spp., *Haemaphysalis leachi* e *Hyalomma plumbeum*, também podem transmitir o agente. Outra forma de transmissão é através de transfusões sanguíneas com sangue de animais infectados (BRANDÃO e HAGIWARA, 2002; BIRKENHEUER, 2008; PINTO, 2009).

Além da morfologia e patogenicidade para o hospedeiro vertebrado, existe ainda a diferenciação pela adaptação às espécies de vetores potencialmente capazes de atuar na transmissão. A *B. gibsoni* é transmitida pelos carrapatos *Haemaphysalis bispinosa* e *Rhipicephalus sanguineus* e a *Babesia canis* pelo *R. sanguineus*, *Dermacentor reticulatus* e *Haemaphysalis leachi*. Alguns autores reportaram ainda a transmissão experimental de *B. canis* pelo *Dermacentor andersoni* e *Hyalomma marginatum* (HOSKINS, 1991). A *B. canis vogeli*, entretanto, pode ser transmitida por via transovariana e ser passada para a próxima geração de carrapatos na ausência de cães infectados (LOBETTI, 1998; TABOADA, 1998; BOOZER e MACINTIRE, 2003).

Algumas espécies de *Babesia*, incluindo a *B. canis* demonstraram ser infecciosa para os animais apenas dois a três dias após a fixação do carrapato (SCHEIN et al., 1979). Presume-se que a mudança na temperatura ou a presença de sangue no intestino do carrapato age como um estímulo de ativação para a maturação dos esporozoítos infecciosos. Os animais são infectados quando esporozoítos da *Babesia* são injetados com a saliva na pele do hospedeiro durante o repasto sanguíneo. Nos hospedeiros, os parasitas se aderem a membranas dos eritrócitos e invadem o citoplasma da célula, onde eles formam trofozoítos em forma de anel. O parasita se reproduz por brotamento dentro do eritrócito e as formas de merozoítos são observadas aos pares em algumas espécies de *Babesia*. Os merozoítos podem se dividir ainda mais e há a formação de oito ou mais parasitas na mesma célula sanguínea.

Eventualmente, o parasita destrói a célula e tornar-se livre no sangue para invadir novas células (CHAUVIN et al., 2009).

A lise das hemácias produz mediadores inflamatórios de ação sistêmica que, em processos hemolíticos graves, causam vasodilatação periférica e hipotensão (BRANDÃO e HAGIWARA, 2002), o que facilita interação entre eritrócitos infectados e o tecido endotelial (SCHETTERS et al., 1998), levando à agregação de eritrócitos (VALLI, 2007). Na babesiose canina há uma forte associação entre as espécies de *Babesia* com as diferentes espécies de carrapatos como foi revisado por Uilenberg (2006). Como Consequência, a prevalência da babesiose é dependente da presença do vetor no ambiente e encontra-se demonstrado no Quadro 3 sua distribuição geográfica e seus respectivos vetores.

Quadro 3-Distribuição geográfica das diferentes espécies de *Babesia* spp. e seus vetores

Espécies	Distribuição geográfica	Vetor
<i>Babesia canis canis</i>	Europa, Ásia	<i>Dermacentor reticulatus</i>
<i>Babesia canis rossi</i>	África	<i>Haemaphysalis leachii</i>
<i>Babesia canis vogeli</i>	África, Europa, Ásia, Austrália, América do Sul e América do Norte	<i>Rhipicephalus sanguineus</i>
<i>Babesia</i> sp. (coco)	Estados Unidos	Desconhecido
<i>Babesia gibsoni</i>	Mundialmente	<i>Haemaphysalis</i> sp.
<i>Babesia conradae</i>	Califórnia	<i>Rhipicephalus sanguineus?</i>
<i>Babesia microti</i> (<i>T. annae</i>)	Sudeste da Europa	<i>Ixodes hexagonus?</i>

Fonte: MATIJATKO et al. (2012) (modificado).

A transmissão da *Babesia* ocorre através da picada do carrapato vetor. A infecção pela *B. gibsoni* foi também demonstrada via transfusão de sangue (STEGEMAN et al., 2003), fômites e via transplacentária (FUKUMOTO et al., 2005). Além disso, vários estudos têm fornecido evidências de que *B. gibsoni* é provavelmente transmitida diretamente de cão para cão via mordeduras, saliva ou sangue ingerido (BIRKENHEUER et al., 2005; JEFFERIES et al., 2007; YEAGLEY et al., 2009).

A *Babesia canis vogeli* é considerada a espécie que tem menor patogenicidade quando comparada com as demais e causa uma doença branda, geralmente sem evidência de sinais clínicos (UILENBERG, 2006; IRWIN, 2009). Ionita et al. (2012) na Romênia avaliaram 16

cães pela PCR para diagnóstico da *Babesia* spp. e identificaram nos 11 sintomáticos e em um do grupo dos 5 assintomáticos, o DNA da *Babesia* spp., assim como positividade no exame parasitológico sanguíneo dos sintomáticos. Após sequenciamento dos produtos amplificados, constataram que a *Babesia canis canis* estavam infectando os animais sintomáticos e o único cão assintomático positivo estava infectado pela *Babesia canis vogeli*.

4.4 Babesiose no Brasil

No Brasil, América do Norte e do Sul, a *Babesia canis vogeli* e a *Babesia gibsoni* são as espécies relatadas (DANTAS-TORRES et al., 2006a; TRAP et al., 2006a), entretanto, em Brasília, no Distrito Federal, um estudo identificou a *Babesia canis rossi* (VASCONCELOS, 2010).

Casos de babesiose no Brasil foram relatados em muitos estados brasileiros, Rio Grande do Sul (BRACCINI et al., 1992), São Paulo (DELL'PORTO et al., 1993), Pernambuco (DANTAS-TORRES et al., 2004a), Rio de Janeiro (GUIMARÃES et al., 2004), Minas Gerais (BASTOS et al., 2004) e Paraná (TRAPP et al., 2006a). No Brasil, a forma subclínica da babesiose canina é provavelmente a apresentação predominante nos cães infectados (BRACCINI et al., 1992; O'DWYER, 2000; PASSOS et al., 2005).

A frequência da babesiose canina no Brasil é bastante variável, como pode ser observado em estudos efetuados em municípios como Londrina, PR (36%), São Paulo, SP (42,4%), Belo Horizonte, MG (66,9%) e Jaboticabal, SP (67%) (RIBEIRO et al., 1990; DELL'PORTO et al., 1993; TRAPP et al., 2006; OLIVEIRA et al., 2008). Na região Nordeste, Ramos et al. (2010) observaram positividade em 7,31% de animais por PCR para *Babesia canis vogeli* em Pernambuco e Silva et al. (2012) em Imperatriz no Maranhão detectaram em 3,3% também por PCR.

Estudos moleculares realizados com amostras de cães urbanos infectados no Brasil têm mostrado que a *Babesia canis vogeli* foi o agente etiológico envolvido em todos os casos (PASSOS et al., 2005). No entanto, alguns casos de infecção por *B. gibsoni* foram molecularmente caracterizados em cães no Brasil (TRAPP et al., 2006a; JOJIMA et al., 2008).

4.5 Epidemiologia

A babesiose é uma doença que apresenta maior ocorrência em regiões tropicais e subtropicais e é transmitida por carrapatos (CARRET et al., 1999). O Brasil é endêmico para

a *Babesia canis vogeli* (PASSOS et al., 2005; DUARTE et al., 2008) e *Babesia gibsoni* (TRAPP et al., 2006a; JOJIMA et al., 2008).

Pouco se sabe sobre os possíveis fatores de risco da babesiose canina no Brasil (DANTAS-TORRES e FIGUEREDO, 2006a). Alguns estudos demonstram que não há predisposição quanto à raça ou sexo para a infecção (RIBEIRO et al., 1990; GUIMARÃES et al., 2002; BASTOS et al., 2004; COSTA-JÚNIOR et al., 2009). Entretanto, em estudo realizado com cães de população hospitalar, foi constatado que animais com mais de um ano de idade, vivendo em áreas urbanas e apresentando sangramento superficial são mais propensos a apresentar anticorpos IgG anti-*Babesia canis vogeli* (TRAPP et al., 2006). Dantas-Torres e Figueredo (2006a) observaram que, a doença acontece com maior frequência em cães com idade superior a dois anos de idade, embora animais jovens com história de visita a praia e primeira exposição a carrapatos também tenham sido afetados pela doença.

Em estudo conduzido com cães em zona rural do semiárido brasileiro não houve correlação entre prevalência da infecção e idade ou sexo dos animais, porém os animais mestiços apresentaram maior chance de adquirir a infecção quando comparados aos cães de raça pura (MAIA et al., 2007). Costa-Júnior et al. (2009) estudando cães na zona rural de Minas Gerais, observaram que a raça não constituiu um fator de risco relacionado à soroprevalência de *B. canis vogeli*, assim como sexo e volume globular abaixo de 30%. Além disso, estes autores verificaram que a soroprevalência da infecção esteve diretamente relacionada à idade dos animais e infestação por carrapatos, logo quanto mais velho o animal, maior a soroprevalência.

Jojima et al. (2008) constataram em Londrina num hospital escola com 282 cães anêmicos, leucopênicos ou trombocitopênicos que os animais de um a cinco anos de idade apresentaram maior índice de positividade em relação ao gênero *Babesia*. Entretanto, em relação às espécies estudadas, para *B. canis vogeli*, o maior índice foi de animais com até um ano de idade e para a *B. gibsoni* foi observada com maior frequência em animais com faixa etária entre um a cinco anos.

4.6 Zoonose

O primeiro caso de babesiose humana foi descrito em 1957 (SKRABALO e DEANOVIC, 1957). A causa mais comum de babesiose humana é causada pela *Babesia microti*, uma *Babesia* que infecta ratos e outros pequenos roedores, que é endêmica nos Estados Unidos (HUNFELD et al., 2008; VANNIER et al., 2008). A maioria dos casos ocorre no Nordeste da Seaboard. O primeiro caso confirmado foi em um indivíduo sem histórico de

esplenectomia em Nantucket Island na costa de Massachusetts (WESTERN et al., 1970). Casos adicionais foram identificados e a doença tornou-se conhecida como a febre de Nantucket. Outras ilhas ao longo da Costa do Sul da Nova Inglaterra, posteriormente, tornaram-se reconhecidas como áreas endêmicas, incluindo Martha Vineyard, as Ilhas Elizabeth, Block Island, Shelter Island, na parte leste da Long Island e Fire Island (SPIELMAN et al., 1985).

O primeiro caso de babesiose humana no Brasil foi relatado por Alecrim et al. (1983), em um paciente adulto residente em Pernambuco que exercia profissão de auxiliar de veterinário e que apresentou quadro clínico semelhante a malária e o diagnóstico foi obtido através da observação da presença de estruturas características de *Babesia* spp. em esfregaço sanguíneo. Marsaudon et al. (1995) relataram um caso de infecção por *B. canis* em um paciente esplenectomizado com insuficiência renal aguda. Sapolnik et al. (2013) observaram um caso de babesiose humana em uma criança de cinco anos em Feira de Santana na Bahia apresentando febre, dor abdominal, anemia importante com 7,2g/dL de hemoglobina. O diagnóstico foi através do exame parasitológico sanguíneo, onde foram visualizadas estruturas compatíveis com *Babesia* spp. e os médicos ressaltaram que essa doença seja cogitada como suspeita diagnóstica em casos semelhantes, pois há falta de informação ou desatualização sobre a babesiose humana em sites e informativos de saúde pública no Brasil.

Cerca de 40 casos de infecção pela *Babesia divergens* foram documentados na Europa, principalmente nos países com a indústria pecuária extensiva como a França, Irlanda e Grã-Bretanha (GORENFLOT et al., 1998; ZINTL et al., 2003). Casos foram relatados esporadicamente na Suécia, Suíça, Espanha, Portugal e Croácia. Quase todos os pacientes foram esplenectomizados antes do início da infecção pela *Babesia*. O gado é o reservatório para a *B. divergens*, pessoas com maior risco de infecção com a babesiose são os agricultores, ou pessoas de férias em áreas rurais (VANNIER e KRAUSE, 2009).

A taxa de mortalidade de 5% foi observada em um estudo retrospectivo de 136 doentes com infecção pela *B. microti*, em Long Island, Nova York, dos quais, apenas um era conhecido por ser imunocomprometido (MELDRUM et al., 1992). Em outro estudo, a taxa de mortalidade entre pacientes hospitalizados pela babesiose foi de 9% (HATCHER et al., 2001). A taxa de mortalidade é ainda maior entre hospedeiros imunocomprometidos (VANNIER e KRAUSE, 2009).

Quase todos os 40 casos de infecção pela *B. divergens* relatado na Europa foram a pessoas esplenectomizadas e sofreu uma forma grave da babesiose (GORENFLOT et al., 1998; ZINTL et al., 2003). Os sinais e sintomas começam entre 1 a 3 semanas após a

transmissão pelo carrapato e causa febre alta (40-41°C), hemólise intravascular grave que resulta em hemoglobinemia, hemoglobinúria e icterícia. Dor de cabeça, calafrios, sudorese intensa, mialgia e dor abdominal são comuns. Mais de metade dos casos teve um início de insuficiência renal e de edema pulmonar. Equimoses, petéquias, insuficiência cardíaca congestiva e coma também foram relatadas. A doença geralmente é fulminante, com duração de cerca de uma semana e termina em morte em mais de um terço dos pacientes ou em convalescença prolongada (VANNIER e KRAUSE, 2009). Até o momento, as infecções humanas com as espécies de *Babesia* que infectam os cães e gatos não foram relatadas. No entanto, estes animais são companheiros de pessoas e servem como uma fonte de carrapatos infectados para humanos (LEMPEREUR et al. 2011).

4.7 Alterações clínicas e laboratoriais

A babesiose pode ser classificada em subaguda, aguda, crônica e os sinais clínicos incluem letargia, vômito, anorexia, febre e fraqueza. Outros sinais são palidez de mucosas, icterícia, esplenomegalia, hematúria e esta última alteração levanta suspeita de processos hemolíticos (GUIMARÃES et al., 2002; GUIMARÃES et al., 2004; BASTOS et al., 2004; IRWIN, 2010). Desidratação, perda de peso, dor abdominal, sensibilidade à palpação renal podem ser observados (BASTOS et al., 2004).

As alterações patológicas que este protozoário causa no hospedeiro varia consideravelmente com as diferentes espécies e sub-espécies envolvidas, e também com o estado imunológico do indivíduo, idade, doenças infecciosas concomitantes e a resposta a infecção (IRWIN, 2009).

Anemia hemolítica e síndrome da resposta inflamatória sistêmica leva à síndrome de disfunção multiorgânica e são responsáveis pela maioria dos sinais clínicos observados na babesiose canina (TABOADA e LOBETTI, 2006). Em geral, as espécies de *Babesia* causam anemia hemolítica que é multifatorial e a manifestação clínica predominante induz um número de respostas imunes que podem ter uma influência devastadora (AYOUB et al., 2010). A manifestação crônica da *Babesia canis* é pobremente caracterizada (JACOBSON e CLARK, 1994). Muitos cães infectados pela *B. canis* nos Estados Unidos estão no estágio subclínico (TABOADA et al., 1992).

A babesiose complicada pode provocar sinais clínicos incomuns e severos, incluindo disfunção neurológica (coma, estupor e convulsões), diáteses hemorrágicas, falência respiratória, hipotensão e falência renal aguda (LOBETTI, 1998; NEL et al., 2004; MATIJATKO et al., 2007). Na infecção crônica, muitos animais são assintomáticos e servem

de fonte de infecção para os susceptíveis e ao longo do tempo sob estresse ou imunossupressão pode haver uma recrudescência do agente (IRWIN, 2010).

Em alguns cães imunocomprometidos e com co-infecções, doenças neoplásicas ou tratamentos imunossupressivos, a *Babesia canis vogeli* pode representar um achado incidental (SOLANO-GALLEGO et al., 2008). A *Babesia gibsoni* vem ganhando notoriedade por ser uma doença emergente em certas raças de cães, principalmente Pitt Bull Terrier e Starfforshire Terriers (MANCITIRE et al., 2002; BIRKENHEUER et al., 2005).

A *Babesia canis vogeli* geralmente provoca uma doença subclínica leve ou moderada (UILENBERG et al., 1989; CARRET et al., 1999) que muitas vezes acompanha outras doenças ou afeta cães esplenectomizados. Grave anemia hemolítica pode ser observada em cães jovens e filhotes (SOLANO-GALLEGO et al., 2008). Galgos adultos nos Estados Unidos sororeativos para *B. canis vogeli* são comumente clinicamente saudáveis (TABOADA et al, 1992; TABOADA e LOBETTI, 2006). Anemia hemolítica imunomediada regenerativa é observada e é um achado comum nas infecções pela *B. vogeli*, mas não é uma alteração clínica-patológica padrão (CARLI et al., 2009).

Jojima et al. (2008) avaliaram cães com anemia, leucopenia e trombocitopenia em Londrina no Paraná e verificaram que em relação às espécies de *Babesia*, 33 animais (31,4%) dos positivos para *Babesia canis vogeli*, possuíam anemia, 27 (25,7%) leucopenia e 39 (37,1%) trombocitopenia. Dos animais positivos para *Babesia gibsoni*, 24 animais (22,9%) apresentaram anemia, 10 (9,5%) leucopenia e 22 (21,0%) trombocitopenia.

Os principais sinais clínicos e alterações no exame físico de cães com babesiose encontram-se na Tabela 1.

Tabela 1-Alterações clínicas de cães com babesiose

Sinais	Duração
Não específicos	Sintomas hiperagudos
Anorexia	Hipotermia
Letargia	Choque
Fraqueza	Coma
Febre	CID
Emagrecimento	Acidose metabólica
Sinais atípicos	Morte
Ascite	Sintomas agudos
Edema	Anemia hemolítica
Constipação	Icterícia
Diarréia	Esplenomegalia
Estomatite ulcerativa	Linfoadenopatia
Hemorragia	Vômito
Congestão de mucosas	Sintomas crônicos
Policitemia	Febre intermitente
Secreção oculonasal	Hiporexia
Dispneia	Caquexia ou baixa condição corporal
Miosite mastigatória	Linfoadenopatia
Miosite temporomandibular	
Dor no joelho	
Sinais neurológicos	
Convulsão	
Ataxia	
Paresia	

Fonte: TABOADA (1995).

As alterações hematológicas da babesiose são anemia regenerativa, níveis normais de proteínas plasmáticas, uma moderada ou severa trombocitopenia e uma variedade de anormalidades leucocitárias. Certamente, alguns cães na babesiose na fase aguda podem ter uma anemia pré-regenerativa (REYERS et al., 1998; CARLI et al., 2009; SIKORSKI et al., 2010) e na fase crônica a contagem eritrocitária pode estar normal com características microscópicas de regeneração. Há muita similiaridade entre as alterações hematológicas da babesiose com a anemia hemolítica imunomediada; pode estar presente autoaglutinação, esferócitos e o teste de Coombs positivo em muitos casos de babesiose (REYERS et al., 1998; INOKUMA et al., 2005).

Na análise bioquímica de cães com babesiose é geralmente não específica, refletindo o quadro de hipoxemia e hemólise. Tipicamente há um aumento na concentração da alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), fosfatase alcalina (FA), bilirrubina e azotemia é frequentemente notada tendo como origem pré-renal ou renal (IRWIN, 2010).

4.8 Diagnóstico

O diagnóstico da babesiose é baseado na anamnese, exame físico e na visualização do organismo dentro das hemácias em esfregaço de sangue periférico corado pelo Giemsa (GUIMARÃES et al., 2002), onde pode-se observar vários estágios intraeritrocitários da *Babesia* spp., mas a similiaridade entre as espécies e subespécies é um fator limitante (KJEMTRUP et al., 2000; JEFFERIES et al., 2007).

Com as variações na patogênese e nas manifestações clínicas entre as espécies e subespécies de *Babesia* em cães, o diagnóstico preciso entre as espécies e subespécies irão fornecer conhecimentos valiosos sobre sua distribuição e terão importância para a terapia e nos estudos epidemiológicos subsequentes (IONITA et al., 2012).

O exame parasitológico é limitado pela baixa sensibilidade e impossibilidade de se fazer a distinção morfológica precisa entre algumas espécies e subespécies. Outros métodos, mais sensíveis, estão sendo cada vez mais utilizados no diagnóstico dessa afecção, como a reação de imunofluorescência indireta (RIFI) e ensaio imunoenzimático (ELISA) (BOOZER e MACINTIRE, 2003). Esses testes sorológicos são úteis para se identificar animais portadores assintomáticos e diagnosticar infecções crônicas quando o nível de parasitemia geralmente está baixo ou não detectável no esfregaço de sangue periférico (FURUTA et al., 2009); no entanto, eles apenas indicam a exposição ao agente, não informando sobre o estágio atual da infecção (WAGNER et al., 1992).

Assim, testes moleculares, especialmente a reação em cadeia pela polimerase (PCR), vêm sendo cada vez mais utilizados em estudos epidemiológicos (BIRKENHEUER et al., 2004; JOJIMA et al., 2008; SILVA et al., 2012). A PCR representa uma ótima ferramenta não só para a identificação do genótipo, mas nos casos em que os sintomas são inespecíficos e que o parasitológico sanguíneo não determina o diagnóstico. Os avanços recentes das técnicas moleculares, com a técnica de PCR e o sequenciamento genético tornaram possível a detecção e identificação do parasita, diferentemente dos outros métodos tradicionais (IONITA et al., 2012). A PCR é muito sensível, mas resultados falso-negativos podem ocorrer nos casos de babesiose crônica e isso é uma limitação da técnica e os animais assintomáticos carregam o

agente parasitário e podem transmitir nas transfusões de sangue, principalmente os cães doadores (JEFFERIERS et al., 2007).

4.9 Tratamento

O dipropionato de imidocarb está disponível para o tratamento da babesiose em cães. Duas injeções dipropionato de imidocarb na dose de 5,0-6,6mg/kg administrada por via subcutânea ou intramuscular, com um intervalo de 2-3 semanas têm sido eficaz. Na fase aguda, a resposta terapêutica é rápida, com aumentando a produção de novas células sanguíneas dentro de 12-24 horas. Outro tratamento é possível com uma única injeção intramuscular de aceturato de diminazeno numa dose de 5mg/kg (BIRKENHEUER et al., 1999; TABOADA, 1998). O aceturato de diminazeno é relativamente tóxico e a severidade dos seus efeitos é acompanhada durante o seu uso (SAKUMA et al., 2009). A terapia de suporte, tais como fluidos intravenosos e transfusões de sangue devem ser empregados quando necessário (VIAL e GORENFLOT, 2006).

Quando o tratamento com dipropionato de imidocarb for ineficaz nos cães, ou não for feita a identificação da espécie, o tratamento deve ser modificado e deve-se fazer uma dosagem preventiva (duas vezes a dose terapêutica, com uma repetição após 48 horas) ou pode-se utilizar a clindamicina, possivelmente em associação como a quinina (WULANSARI et al., 2003; BOOZER e MACINTIRE, 2005; VIAL e GORENFLOT, 2006). Uma associação dispendiosa, a azitromicina e atovaquone, têm sido recomendada para a babesiose crônica, especialmente quando a doença for causada pelas pequenas *Babesia*. Também é possível utilizar a oxitetraciclina associada com a atovaquone. A análise por PCR revelou resultados negativos por duas vezes, com um intervalo de 2 a 4 semanas, pelo menos, 60 dias pós-terapia (BOOZER e MACINTIRE, 2005).

O uso de glicorticóides é controverso. O sistema imune é implicado com muitas das alterações clínicas da babesiose, especialmente anemia hemolítica. Em um estudo, 20% dos cães infectados pela *B. canis* tinham anemia hemolítica e não foram responsivos a terapia anti-*Babesia* sozinha (JACOBSON e CLARK, 1994). Os corticóides devem ser utilizados com doses imunossupressoras algumas vezes (TABOADA e LOBETTI, 2006). O tratamento utilizado para as diferentes espécies de *Babesia* encontram-se no Quadro 4.

Quadro 4-Tratamento preconizado para as diferentes espécies de *Babesia* spp. em cães

Espécies de Babesias	Drogas	Doses e duração	Resposta ao tratamento
<i>B. canis</i> ; <i>B. vogeli</i> e <i>B. rossi</i> (cães)	Dipropionato de Imidocarb	5-6,6mg/kg IM, repetição com 14 dias	Boa
Todas as espécies da grande <i>Babesia</i>	Diaceturato de diminazene Dipropionato de Imidocarb	Dose única de 3 a 5mg/kg IM 5-6,6mg/kg IM, repetição com 14 dias	Boa
<i>B. gibsoni</i> (cães)	Azitromicina+autovaquone Clindamicina	10mg/kg/PO/SID+ 13,3mg/Kg/TID por 10 dias 12-25mg/kg/BID por 7-10 dias	Melhora a anemia e os sinais clínicos, sem eliminar o parasita e ocasionalmente há recaída clínica.
<i>B. conradae</i> (cães)	Dipropionato de Imidocarb	5-6,6mg/kg IM, repetição com 14 dias	Moderada a pobre com recaídas frequentes.
<i>B. microti</i> (cães)	Dipropionato de Imidocarb Diaceturato de diminazene	5-6,6mg/kg IM, repetição com 14 dias Dose única de 3 a 5mg/kg IM	Pobre

FONTE: SOLANO-GALLEGO et al. (2011).

4.10 Co-infecção

Quando a babesiose é confirmada, deve-se considerar a possibilidade de infecções concomitantes com outros patógenos transmitidos por vetores, incluindo *Ehrlichia* spp., *Anaplasma* spp., *Bartonella* spp., *Rickettsia* spp. e *Leishmania* spp (KORDICK et al., 1999; YABSLEY et al., 2008) e deve-se utilizar os testes de diagnóstico apropriados (IRWIN, 2010).

Em casos de infecções concomitantes pela *B. canis* e *Ehrlichia canis*, o cão pode apresentar anemia severa, causada pela destruição de eritrócitos maduros com impedimento da eritropoiese, desenvolvendo uma doença mais grave, muitas vezes fatal, principalmente em cães jovens (SÁ, 2007). A possibilidade de co-infecção com a *Ehrlichia canis* deve ser considerada principalmente quando ocorrer apresentações hemorrágicas (BASTOS et al., 2004).

4.11 Controle de carrapatos

A prevenção da babesiose se baseia principalmente em tratamentos tópicos e ambiental com acaricidas, com o objetivo de reduzir a exposição dos animais aos vetores, responsáveis pela transmissão de agentes parasitários aos cães. Coleiras, formulações tópicas, sprays são os meios mais populares e eficazes de controle de infestações de carrapatos e uma variedade de produtos podem ser usados, como a permetrina, amitraz, fipronil, imidacloprid e outros produtos químicos estão disponíveis a partir de empresas comerciais (BERRADA e TELFORD, 2009; BRIANTI et al., 2010; OTRANTO et al., 2010d).

Estes ectoparasiticidas tópicos repelem os carrapatos e impedem a fixação dos mesmos ou os matam dentro de 24-48 horas após a aplicação. A redução dos carrapatos no ambiente pode ser alcançada utilizando técnicas convencionais e formulações acaricidas de liberação lenta que podem ser aplicadas na forma de spray ou em pó. O controle biológico por meio de organismos patogênicos aos carrapatos pode ser utilizado no futuro como medida de controle ambiental (FERNANDES e BITTENCOURT, 2008).

5 Cinomose canina

5.1 Histórico

Na segunda metade do século XVIII, a cinomose foi verificada na Europa, proveniente da Ásia. Sua natureza contagiosa foi conhecida em meados do século XIX, porém foi Carré (1905) quem a considerou como enfermidade causada por vírus, no entanto, seus estudos não foram aceitos de imediato pela comunidade científica da época, pois se atribuía grande valor ao papel patogênico da *Bordetella bronchiseptica*. Somente após os trabalhos de Laidlaw e Dunkin (1926), a doença foi aceita como sendo de etiologia viral.

5.2 Etiologia, particularidades e subtipos

A cinomose é uma doença comum em cães em todo o mundo e está associada com um grau elevado de morbidade e mortalidade. Essa doença tem distribuição mundial e é considerada como uma das doenças infecciosas mais severas que acometem os carnívoros (SEKULIN et al., 2011). É uma afecção reemergente em países onde já esteve controlada (NORRIS et al., 2006).

O vírus da cinomose (CDV) também infectam diversas outras espécies, incluindo raposas, guaxinins, gambás, furões, felinos na natureza e em cativeiro (NORRIS et al., 2006). Essa doença em cães é mais comum em regiões onde vacinação de animais jovens não é

realizada periodicamente, epidemias continuam a ocorrer em ambientes de abrigo nos países em desenvolvimento (BEINEKE et al., 2009). Esse vírus infecta uma grande variedade de carnívoros, mas o cão é o principal reservatório (MORO et al., 2003; GREENE e APPEL, 2006).

O CDV é um vírus com material genético composto por RNA de fita simples, possui envelope e, pertence ao gênero morbilivírus e a família Paramixoviridae, apresenta tropismo por linfócitos, o que conduz à imunossupressão e infecções secundárias (ALMEIDA et al., 2009). O genoma viral mede aproximadamente, 15.7kb e a partícula viral, de 150 a 300nm de diâmetro (MURPHY et al., 1999). O envelope lipoprotéico é originário de glicoproteínas virais incorporadas à membrana celular (GREENE e APPEL, 2006).

Com base na variação genética dentro do gene viral, a hemaglutinina (H), um grande número de diferentes cepas podem existir e variam em sua distribuição geográfica, tropismo celular e virulência. Embora o CDV infecte uma variedade de diferentes tipos de células epiteliais, incluindo, células mesenquimais, neuroendócrinas e as células hematopoiéticas, o tropismo acentuado do CDV para as células imunitárias é crítica em respeito à sua capacidade para causar imunossupressão. Os componentes virais do CDV envolvidos na imunodeficiência são a hemaglutinina viral, a proteína V (fosfoproteína não estrutural) e o (N) da proteína do nucleocapsídeo (SYKES, 2010).

O CDV é sensível ao éter e a solventes lipídicos, é instável a pH abaixo de 4,5 e pode ser inativado pelo calor a temperaturas acima de 50°C por 30 minutos. Em climas quentes o vírus não sobrevive no ambiente por longos períodos, uma vez que só se mantém viável a 20°C por 3 horas e em exsudatos por 1 hora (GREENE e APPEL, 2006).

As estirpes do CDV estão globalmente divididas em subtipos separados geograficamente e são distintos com base no gene H, ou seja, América-1, América-2, Europa, Ártico, Ásia-1 e Ásia-2 (BOLT et al., 1997; MARTELLA et al., 2006; MCCARTHY et al., 2007).

A cinomose canina se tornou um problema mundial e é considerada a segunda doença infecciosa com maior relevância entre caninos domésticos, perdendo somente para a raiva, devido as suas altas taxas de morbidade e mortalidade (DEEM et al., 2000).

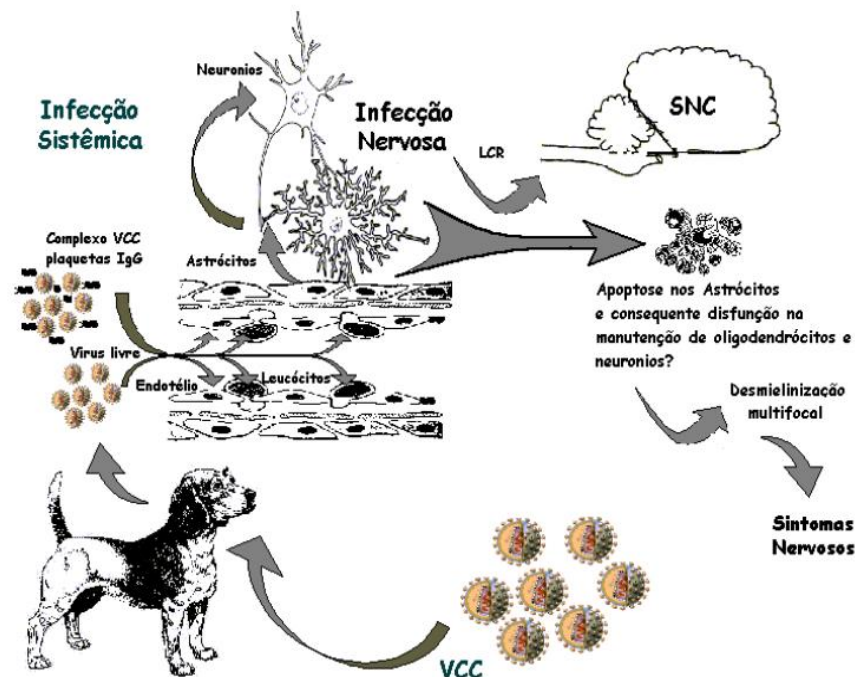
5.3 Modos de transmissão e patogenicia

A transmissão ocorre por contato direto através de aerossóis, alimentos ou objetos contaminados por secreções dos animais infectados, que podem eliminar o vírus através de secreções e excreções nasais, lacrimais, saliva, urina e fezes por vários meses (CATROXO,

2003). O vírus inicialmente infecta monócitos no tecido linfóide no trato respiratório superior e as tonsilas sendo posteriormente disseminado através dos vasos linfáticos e sanguíneos para todo o sistema retículo-endotelial. A destruição viral direta de uma parte significativa da população de linfócitos, e especialmente os linfócitos T ($CD4^+$), ocorre no sangue, tonsilas, timo, baço, linfonodos, medula óssea, e à mucosa associada ao tecido linfóide, e as células de Kupffer (VON MESSLING et al., 2004; BEINEKE et al., 2009).

Na maioria, ou em todos os casos de infecção pelo CDV, o vírus atinge o encéfalo, mesmo que o animal não apresente transtornos neurológicos (KRAKOWKA et al., 1987; SUMMERS et al., 1995). Isso indica que os casos de cinomose canina que progridem da forma sistêmica para nervosa (Figura 3), aparentemente o fazem em decorrência de falha do organismo animal em eliminar o vírus que invadiu o sistema nervoso central (SNC) (SUMMERS et al., 1995).

Figura 3: Progressão do CDV da infecção sistêmica para a fase neurológica da cinomose canina



Fonte: MORO et al. (2004).

A proteína hemaglutinina (H) é o fator determinante na entrada do vírus, uma vez que media a ligação do vírus à molécula de sinalização do receptor de ativação de linfócitos

(SLAM/CD150) na superfície de células sensíveis e, assim, inicia a infecção pelo vírus (TATSUO et al., 2007; MARTELLA et al., 2008).

A destruição viral está associada com uma linfopenia inicial transitória e febre que ocorre em alguns dias após a infecção. Em seguida, ocorre uma segunda fase de viremia associada às células, onde o CDV infectam as células do trato respiratório inferior, trato gastrointestinal, sistema nervoso central; trato urinário, e os glóbulos vermelhos e brancos, incluindo as células linfóides adicionais (SYKES, 2010).

A eliminação do CDV pelo hospedeiro depende da resposta humoral e celular (BEINEKE et al., 2009). Como o vírus é linfocitolítico, o resultado da infecção depende da velocidade que o hospedeiro seja capaz para remover o vírus antes que o mesmo tenha tempo suficiente para fazer com que o sistema imunológico grave a lesão. Os cães montam uma resposta imune parcial que pode sofrer recuperação aguda da doença, mas não conseguem eliminar completamente o vírus, conduzindo para a forma crônica. As manifestações da doença envolvem muitas vezes a úvea, os órgãos linfóides, coxins, e especialmente o sistema nervoso central (SNC). As infecções oportunistas podem se desenvolver nestes animais (SYKES, 2010).

Os títulos de anticorpos anti-CDV se desenvolvem 10 a 14 dias após a infecção e contribuem para a eliminação viral, na recuperação dos animais quando uma resposta humoral vigorosa ocorre caracterizada pela presença de anticorpos anti-proteína H específicos. A imunidade mediada por células também desempenha um papel na recuperação da infecção pelo CDV, e uma forte resposta imune mediada pelos linfócitos T específicos contra o CDV provoca a eliminação viral em cães convalescentes (APPEL et al., 1982). Respostas humoral e celular deficientes levam a propagação intracelular sistêmica do vírus às células epiteliais dos tratos gastrintestinal, urinário, endócrino, pele e sistema nervoso central, causando danos diretos do vírus a esses sistemas (KAPIL e YEARY, 2011).

Cães com cinomose podem desenvolver profunda linfopenia e leucopenia. A linfopenia ocorre devido depleção generalizada dos linfócitos T e B, em uma variedade de tecidos. Os linfócitos T ($CD4^+$) são preferencialmente esgotados durante a fase aguda, que é seguida pela depleção dos linfócitos $CD8^+$ (IWATSUKI et al., 1995; WUNSCHMANN et al., 2000) e necrose das células hematopoiéticas na medula óssea também pode resultar em leucopenia (BAUMGARTNER et al., 1995).

5.4 Cinomose no Brasil

A cinomose é uma doença endêmica sendo considerada a maior causa de mortalidade no Brasil, tendo um impacto na economia local com estimativas de 147.5-160.3 milhões de dólares anualmente com a terapia associada com os efeitos sistêmicos causados pelo CDV (HEADLEY et al., 2012).

No Brasil é crescente o número de mortes de cães devido às complicações da doença (HEADLEY e GRAÇA, 2000; AMUDE et al., 2006). Estudos epidemiológicos e de prevalência realizados no Brasil, sugeriram que a cinomose é endêmica em áreas urbanas de populações caninas, com índices de 6,1% em Belo Horizonte (MG), com base em casos clínicos (GOUVEIA et al., 1987).

Estudos retrospectivos com dados obtidos a partir de arquivo de cães submetidos á necropsia de rotina demonstraram que o CDV oscilou com os índices de prevalência de 7,1% em Porto Alegre (RS) (SONNE et al, 2009), com 11,7% em Santa Maria (RS) (HEADLEY e GRAÇA, 2000), 12% (SILVA et al., 2007) e 12,4% (FIGHERA et al., 2008). Em Londrina no Paraná, Negrão et al. (2007) avaliaram 188 cães suspeitos para cinomose em um Hospital escola utilizando a RT-PCR de urina e leucócitos e constataram positividade em 125 (66,5%) dos cães.

Acredita-se que a alta prevalência de doenças infecciosas e parasitárias como causa de morte nos cães constatados por Fighera et al. (2008) e por Bentubo et al. (2007) esteja relacionado a baixa adesão aos programas de vacinação e vermifugação, já que ainda hoje no Brasil apenas uma parcela de tutores de animais adere aos esquemas de vacinação e vermifugação completos para seus cães, ao contrário do que ocorre nos Estados Unidos e Europa, onde a maior parte dos cães é vacinado e revacinados anualmente (GREENE e SCHULTZ, 2006).

5.5 Alterações clínicas e laboratoriais

O período de incubação para o surgimento dos sintomas clínicos da cinomose aguda é, geralmente, de 14 a 18 dias. O primeiro sinal de infecção é uma tosse seca que rapidamente torna-se produtiva (GREENE e APPEL, 2006). Podem ser auscultadas crepitações em todo o pulmão e a pneumonia bacteriana é uma complicação comum (HAWKINS, 1997). A bactéria *Bordetella bronchiseptica* é frequentemente encontrada em cães com cinomose (NELSON e COUTO, 2010).

A infecção pode resultar em doença multissistêmica aguda ou subaguda, sendo altamente contagiosa. Com frequência, sinais clínicos neurológicos podem ocorrer durante a

fase aguda da doença, ou após várias semanas ou meses (AMUDE et al., 2006). Essa doença é complexa na medida em que apresenta vários sinais clínicos e pode determinar diferentes cursos clínicos. Os animais podem apresentar recuperação completa ou até a morte, dependendo da idade e do estado imunológico (MARTELLA et al., 2008).

A infecção em cães pode apresentar-se sob as formas sistêmica e neurológica. Os sinais clínicos da cinomose canina podem variar de acordo com a virulência da estirpe viral infectante, com o estado imunológico e com a idade do animal. Com maior frequência são observadas alterações oftálmicas, respiratórias, gastrointestinais, dermatológicas e neurológicas (SILVA et al., 2007; MARTELLA et al., 2008; FERNÁNDEZ e BERNARDINI, 2010). Essas alterações podem, isoladamente ou em associação, ser encontrados em outras doenças infecciosas, dificultando o diagnóstico clínico (GEBARA et al., 2002). Os sinais neurológicos começam uma a três semanas após recuperação da doença sistêmica e incluem hiperestesia, ataxia, rigidez cervical, convulsões, sinais cerebelares, vestibulares, mioclonias, tetraparesia (MORITZ et al., 2000; NELSON e COUTO, 2001; KOUTINAS et al., 2002).

A lesão no sistema nervoso central (SNC) é apresentada na forma de três síndromes clínicas conhecidas como encefalomielite dos cães jovens, encefalomielite multifocal dos cães adultos e encefalite dos cães idosos (FENNER, 2004, AMUDE et al. 2006). A encefalomielite multifocal dos cães adultos e a encefalite dos cães idosos são síndromes clínicas de baixa incidência e os sinais sistêmicos na maioria das vezes estão ausentes (AMUDE et al., 2006). Na encefalomielite multifocal dos cães adultos ocorre inflamação associada à desmielinização secundária à persistência do vírus (FENNER, 2004; GREENE e APPEL, 2006).

Cães jovens, com até um ano de idade que apresentam a forma neurológica da cinomose tendem a desenvolver doença inflamatória, principalmente na substância cinzenta, com sintomas predominantes de disfunção do prosencéfalo. Nessa forma, é comum a ocorrência de convulsões. Cães adultos, com mais de um ano de idade, que tenham acometimento do SNC tendem a desenvolver doença inflamatória desmielizante da substância branca, principalmente no tronco cerebral, no cerebelo e na medula espinhal. Sendo observado nesses animais alterações clínicas predominantemente cerebelovestibular ou da medula espinhal (SANDERS e BAGLEY, 2006).

Os sinais clínicos da cinomose são muitas vezes inicialmente inaparentes ou leve e a doença é caracterizada por descargas oculonasal mucopurulentas, conjuntivite, dispnéia, anorexia, vômitos, diarreia e desidratação (KAPIL e YEARY, 2011). Tudury et al. (1997) observaram como principais alterações encontradas em cães com cinomose, alteração das

reações posturais, presença de mioclonias, paresias, diminuição da secreção lacrimal, conjuntivite, corioretinite e hiperqueratose naso-digital.

Na infecção neonatal pode ocorrer hipoplasia do esmalte dentário, devido à ação direta do vírus sobre as células da membrana ameloblástica (DUBIELZIG et al., 1981), lesões cardíacas representadas por degenerações das células miocárdicas com necrose e calcificações multifocais (HIGGINS et al., 1981), lesões do nervo óptico, que podem resultar em midríase e pupilas não responsivas a estímulos luminosos, na retina aparecem as lesões crônicas, circunscritas, hipereflexivas e atróficas na região fúndica retiniana chamada de medalhões dourados (FISHER e JONES, 1972).

Os principais achados hematológicos observados em cães com cinomose são linfopenia, anemia arregenerativa e trombocitopenia (KRAKOWKA et al., 1985). No final da primeira semana após a infecção, os animais podem apresentar discreta neutropenia. Na presença de infecção bacteriana secundária, observa-se neutrofilia (CORNWELL et al., 1965). Outros autores descreveram linfopenia em cães com infecção pelo CDV (MARCONDES, 1992; TUDURY et al., 1997; MORO, 2001; SCHOBESBERGER et al., 2005; MONTEIRO et al., 2008; BARBOSA et al., 2011).

Cães com cinomose apresentam leucopenia quatro a seis dias após a infecção. Uma vez que a doença esteja instalada, observar-se-á linfopenia, monocitose e leve neutrofilia (APPEL e CARMICHAEL, 1979; FARROW e LOVE, 1983; GREENE, 1984), podendo haver leucocitose devido à infecção bacteriana secundária (MARCONDES, 1992; JAIN, 1993; GEBARA et al., 2004; ALMEIDA et al., 2009; BARBOSA et al., 2011). Tudury et al (1997) avaliaram 77 cães com cinomose e constataram anemia, principalmente microcítica e hipocrômica, leucocitose, neutrofilia e linfopenia como as principais alterações hematológicas. Silva et al. (2005) com 13 cães positivos para cinomose verificaram anemia (61%), leucopenia (46%), leucocitose por neutrofilia (8%), desvio à esquerda (54%), linfopenia (85%) e trombocitopenia (69%).

5.6 Diagnóstico e diagnóstico diferencial

Devido ao curso variável e imprevisível da doença, a duração da viremia e manifestações orgânicas diversas, o diagnóstico muitas vezes é incerto ou baseado em critérios clínicos (FRISK et al., 1999), sendo um desafio para o veterinário de pequenos animais, principalmente quando apenas os sinais neurológicos estão presentes (AMUDE et al., 2006b), o que limita a aplicação dos exames laboratoriais *in vivo* existentes. A grande

variedade de sinais, comuns a muitas doenças infecciosas e inflamatórias do sistema nervoso, dificulta o diagnóstico conclusivo (CURTI et al., 2012).

Os animais infectados, tanto na forma sintomática quanto assintomática, são importantes na cadeia epidemiológica, como fonte de infecção para os animais susceptíveis (APPEL e SUMMERS, 1995). Para o diagnóstico de cinomose podem ser empregadas técnicas de ELISA, imunofluorescência, RT-PCR (SILVA et al., 2005). Em virtude do custo, essas técnicas são pouco utilizadas. A maioria dos diagnósticos é feito baseando-se no histórico do animal, sinais clínicos e achados hematológicos (MENDONÇA et al., 2000).

Outros recursos possíveis de serem utilizados são as pesquisas sobre a inclusão viral e a eletroforese de proteínas séricas (LOPES JUNIOR, 2006). A técnica de RT-PCR para a cinomose canina é um método eficiente para a realização do diagnóstico precoce e, principalmente, *ante mortem* das formas sistêmica e neurológica da infecção pelo CDV (GEBARA et al., 2004). Segundo Negrão et al. (2007) na impossibilidade de se obter mais de uma amostra biológica para o diagnóstico do CDV, a urina deve ser o material de eleição para RT-PCR, independentemente da apresentação clínica da doença.

Curti et al (2012) avaliaram a eficácia de um teste comercial de imunoenensaio cromatográfico para detecção de antígenos (Ag) da cinomose em 33 cães com suspeita de cinomose e em 14 animais também foi realizada a técnica de RT-PCR. Os autores observaram que dos 13 cães positivos com sinais clínicos sistêmicos, porém nenhum dos cães com sinais neurológicos foi positivo com o teste comercial e em seis animais negativos pelo teste comercial tiveram amplificação do RNA viral pela RT-PCR. Os autores concluíram que o teste de detecção de antígenos não auxiliou em muitos casos o diagnóstico da cinomose nas fases sistêmica ou neurológica.

A avaliação do líquido pode ser um procedimento diagnóstico útil na encefalomielite causada pela cinomose. Pleocitose linfocítica (>5 células/ μ L) pode apoiar o diagnóstico de infecção pelo CDV (SHELL, 1990). A pleocitose que é maior do que 0,60% de linfócitos tem sido tipicamente associada com encefalite viral, mas também foi relatado com infecção bacteriana ou meningomielite granulomatosa (MEG) e, especialmente após antibioticoterapia (CHRISMAN, 1992).

A RT-PCR da camada leucocitária ou do sedimento urinário são os materiais biológicos mais sensíveis para a detecção do CDV. No diagnóstico pós-morte a histopatologia, imunocitoquímica, isolamento viral ou RT-PCR dos pulmões, estômago, bexiga, linfonodos e cérebro são órgãos preferenciais para estas análises (APPEL, 2008).

Nos casos de pneumonia, as radiografias torácicas determinam a extensão das lesões. A tomografia computadorizada (TC) e a ressonância magnética (RM) tipicamente não conseguem detectar as alterações cerebrais (APPEL, 2008). No entanto, Bathen-Northen et al. (2008) avaliaram cinco cães jovens com suspeita clínica de infecção pelo vírus da cinomose canina e realizaram a ressonância magnética do cérebro, exames histopatológicos e imunohistoquímicos e detectaram lesões hiperintensas e perda de contraste entre a matéria cinzenta e branca. As imagens ponderadas em T2 no cerebelo e/ou no tronco cerebral de três cães se correlacionaram com desmielinização demonstrado no exame histopatológico. A ressonância magnética parece ser uma ferramenta sensível para a visualização de *in vivo* de efeitos de mielinização em cães com infecção aguda pelo vírus da cinomose.

A infecção pelo CDV pode ser um desafio de diagnosticar porque muitas doenças podem causar sinais clínicos semelhantes à cinomose. Os sintomas respiratórios podem ser confundidos com o complexo respiratório canino. A parvovirose canina, coronavirose, infecções parasitárias e bacterianas devem ser descartadas como causa de vômitos e diarreia. Os sinais neurológicos apresentados pelos animais podem ser confundidos com a raiva e deve-se fazer diagnóstico diferencial com outras infecções, traumas e ingestão de toxinas. O histórico de vacinação, os sinais clínicos e os testes laboratoriais apoiam o diagnóstico provável de infecção pelo CDV (KAPIL e YEARY, 2011).

O diagnóstico diferencial da cinomose deve ser feito entre a hepatite infecciosa canina, leptospirose, raiva, pasteurolose e pseudo-raiva. A pasteurolose e a salmonelose são infecções secundárias comuns na cinomose. Deve-se distinguir da forma respiratória da cinomose a traqueobronquite infecciosa ou tosse dos canis (BAUMANN, 1988) e da neurológica a erliquiose canina (BREITSCHWERDT, 1997). A hipocalcemia pode gerar distúrbios do movimento que mimetizam a mioclonia (FENNER, 1997). Outros diagnósticos diferenciais incluem a parainfluenza, estrogiloidose, dipilidiose, toxoplasmose, neosporose, isosporose e intoxicações (CORREA e CORREA, 1992).

5.7 Tratamento

Não existe agente antiviral específico para o tratamento da cinomose, no entanto, no experimento de Elia et al. (2008) a ribavirina mostrou-se altamente eficaz na prevenção da replicação do vírus da cinomose "*in vitro*" em baixas concentrações, aproximadamente 6,5-12,5µg/mL, concordando com os valores encontrados para a inibição do vírus do sarampo. Mangia (2008) demonstrou que a ribavirina teve atividade eficaz contra o CDV em animais

na fase neurológica, com melhora sensível do quadro clínico, a dose utilizada foi de 30mg/Kg por via oral, a cada 24 horas, durante 15 dias.

Atualmente, a acupuntura vem sendo utilizada na fase crônica da cinomose com sucesso, na qual visa, através de suas técnicas e procedimentos, estimular os pontos reflexos que tenham propriedade de restabelecer o equilíbrio, alcançando-se assim, resultados terapêuticos. Esta técnica age sobre o sistema nervoso autônomo e sistema endócrino e seu efeito pode ser imunoestimulante, analgésico e antiinflamatório (SHOEN, 2006).

A administração da vacina de vírus vivo modificado para a cinomose por via intravenosa foi tida como tendo valor terapêutico, mas não existem dados provenientes de estudos controlados que apoiem esta afirmativa (SILVA e ZANINI, 2005).

Para o tratamento das convulsões, o fenobarbital, é um dos principais fármacos de escolha para cães. O mecanismo de ação proposto para este fármaco inclui aumento da responsividade neuronal ao ácido gama aminobutírico (GABA), efeito anti-glutamato e redução no fluxo de cálcio nos neurônios. Para cães, a dose inicial é de 2 a 5mg/Kg, por via oral, com intervalos de 12 horas (SANDERS e BAGLEY, 2006).

5.8 CDV como possível zoonose

O CDV foi apontado como possível agente etiológico de duas doenças humanas conhecidas, a esclerose múltipla (MS) e a doença de Paget (PDB). Estes estudos são altamente controversos e várias questões são debatidas no seio da comunidade científica; os trabalhos não discutiram se há associação ou não ao CDV, e os autores teriam falhado em sua responsabilidade como os veterinários preocupados com a saúde pública (HEADLEY et al., 2012). Estudos moleculares detectaram o genoma do nucleocapsídeo do CDV em células ósseas de pessoas com esclerose múltipla. Se o vírus é um agente etiológico da doença ou uma infecção oportunista, ainda há necessidade de comprovação científica (CARTWRIGHIT et al., 1993; GORDON et al., 1993).

A esclerose múltipla é uma doença inflamatória crônica progressiva do cérebro, que é caracterizada por desmielinização grave acumulação de células inflamatórias, gliais e degeneração axonal, que começam no início da idade adulta (KAKALACHEVA et al., 2011). Alterações histológicas semelhantes são observadas em algumas formas de enfermidade crônica encefalite que resultou em CDV sendo proposto como um modelo para estudar a esclerose múltipla (KOESTNER, 1975). Já a doença de Paget é um distúrbio ósseo crônico que é caracterizado pelo aumento da atividade osteoblástica e osteoclástica em vários locais do esqueleto (RALSTON et al, 1991).

5.9 Medidas de controle e profilaxia

O CDV é relativamente lábil sendo suscetível a temperaturas superiores a 50°C e 60°C por 30 minutos ao ressecamento, radiação ultravioleta e são usualmente destruídos por desinfetantes de uso rotineiro em hospitais, como éter, clorofórmio, formol, fenol e amônia quaternária (ETTINGER e FELDMAN, 1997; BARBOSA e PASSOS, 2008). O vírus persiste viável por mais tempo em ambiente seco e frio, resiste por várias semanas em temperaturas entre 0 e 4°C, e é estável por muitos meses, anos ou até mais que sete anos se estiver liofilizado ou congelado a temperaturas ultra frias (-76°C) (SWANGO, 1997; AMARAL, 2005; BRANDÃO, 2005; SILVA e ZANINI, 2005).

A possibilidade da realização do diagnóstico laboratorial *ante mortem* da cinomose canina é de fundamental importância para os clínicos. A confirmação e/ou exclusão do CDV como provável etiologia possibilita a realização do prognóstico de forma mais objetiva e de condutas terapêuticas mais adequadas, além de proporcionar a adoção de medidas de controle e profilaxia diferenciadas e específicas, mais apropriadas para cada caso (NEGRÃO et al., 2007).

Algumas medidas de prevenção e controle da cinomose incluem, educação do cliente sobre as graves consequências provocadas por essa doença para os seus cães de estimação ou animais selvagens. Sendo o primeiro passo fundamental para reduzir a propagação do CDV, seguido por redução das taxas de reprodução de cães e abandono de animais de estimação. É importante para veterinários, proprietários de cães, órgãos oficiais de controle animal, guardas da vida selvagem se conscientizem de que a quarentena é importante, porque esse vírus pode atravessar continentes durante o transporte de animais (KAPIL e YEARY, 2011).

A vacinação contra a cinomose com uma cobertura de 95% dos cães domésticos é necessária para controle dessa doença nesses animais (RIKULA et al., 2007). Atualmente é o melhor meio para interromper a circulação do CDV entre populações de animais selvagens susceptíveis e cães domésticos é por meio de vacinações regulares de cães e o impedimento desses animais de vagarem livremente e interagir com cães não vacinados e animais selvagens que podem já estar infectados (KAPIL e YEARY, 2011). Um dos principais problemas encontrados na vacinação para a cinomose em filhotes é a persistência entre a imunidade passiva de origem materna que pode impedir que a resposta da imunização ativa ocorra (MARTELLA et al., 2008).

Os cães que se recuperam dessa grave doença e com infecção persistente pode eliminar vírus na urina e através da pele dos coxins. Esses animais devem ser isolados do contato com animais não vacinados, especialmente filhotes. Supervisão contínua, estudos

genéticos e antigênicos em cepas circulantes do CDV e análises moleculares das variantes emergentes são necessários para garantir que as vacinas para prevenção da cinomose continuem potente e eficaz na prevenção da infecção em cães domésticos (KAPIL e YEARY, 2011).

Estudar as características demográficas da população de cães na área urbana e rural é fundamental para a compreensão da epidemiologia de doenças infecciosas caninas e para a tomada de decisões no planejamento e implementação de programas de controle de doenças zoonóticas e de doenças de interesse para conservação de animais selvagens, como a cinomose canina (NAVA et al., 2008; ACOSTA et al., 2010; 2011).

6 CO-INFECÇÕES

O fenômeno da co-infecção é pouco estudada pelos pesquisadores. A maioria dos trabalhos relacionados com hemoparasitas avalia experimentalmente a infecção frente a um agente. Aqueles relacionados à presença de múltiplos microrganismos infecciosos acometendo o cão, são na forma de relatos clínicos (HARIKRISHNAN et al., 2005; GAL et al., 2007; SASANELLI et al., 2009), evidenciando as dificuldades no diagnóstico, severidade das alterações clínicas, tratamento não eficaz e prognóstico desfavorável (VARGAS HERNÁNDEZ, 2010).

O exemplo clássico de imunodeficiência causada por um agente infeccioso é a síndrome da imunodeficiência adquirida, causada pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) (SYKES, 2010). Nos animais vários agentes infecciosos podem provocar imunodeficiências também, podendo favorecer a ocorrência de co-infecções. Moretti et al. (2006) relataram um caso de co-infecção pelo *Toxoplasma gondii*, *Ehrlichia* spp. e pelo CDV em um cão com quadro clínico exuberante neuropatológico, sendo este o primeiro relato de infecção simultânea por estes agentes no Brasil, associado com determinação da genotipagem da cepa de *T. gondii* envolvida.

Gal et al. (2007) relataram um cão de seis semanas de idade apresentando dor e distensão abdominal, mucosas pálidas, hematoquezia e na avaliação hematológica foram observadas alterações como trombocitopenia, anisocitose e policromasia eritrocitária. *Hepatozoon canis*, bem como *Babesia canis* foram detectados em alta frequência nas células sanguíneas, em 3% (15/500) dos neutrófilos havia *H. canis* e 2,6% (13/500) das hemácias estavam parasitadas pela *B. canis*. Além disso, várias mórulas de *Ehrlichia canis* estavam nos monócitos e a confirmação deste agente foi realizada pela PCR. O exame direto das fezes revelou inúmeros oocistos de *Isospora* spp., ovos de *Dipylidium caninum* e de *giardia* spp.

Em um estudo realizado por Kordick et al. (1999) com 27 cães, 26 foram sororeativos para *Ehrlichia* sp., 16 para *Babesia canis*, 25 para *Bartonella vinsonii* e 22 para *Rickettsia rickettsii*. Numa pesquisa utilizando a PCR em amostras de sangue de cães doentes encaminhados ao Hospital do Sudeste da Virgínia, nos Estados Unidos, identificaram-se cães sororeativos para *E. canis* que estavam infectados com quatro espécies de *Ehrlichia* spp., *E. canis*, *E. chaffeensis*, *E. equi*, e *E. ewingii* e a infecção simultânea com *E. canis*, *E. ewingii*, e *E. equi* foi documentada em um cão (BREITSCHWERDT et al., 1998).

As infecções concomitantes pelo CDV, adenovírus canino 1 (CADV-1) e 2 (CADV-2), parvovírus canino tipo 2 (CPV-2) e *Toxoplasma gondii* foram descritos em um cão sem raça definida de 43 dias que clinicamente apresentava convulsões, cegueira e que morreu espontaneamente devido a gravidade do quadro clínico (HEADLEY et al., 2013).

Informações obtidas mediante as informações da anamnese, dos achados clínicos e dos exames laboratoriais são fundamentais para o diagnóstico definitivo e diferencial das doenças, sobretudo considerando a possibilidade de infecções mistas ou concomitantes por vários agentes. A maioria das enfermidades infecciosas e parasitárias em cães apresenta uma fase inicial com sintomas inespecíficos como apatia, anorexia e ocasionalmente febre evoluindo com alterações respiratórias, gastrointestinais e neurológicas. Em geral essas alterações são relacionadas com a infecção pelo CDV e pela *Ehrlichia* spp., além da potencial presença de outros agentes etiológicos (SANTOS, 2008).

7 OBJETIVOS

7.1 Objetivo geral:

- Caracterizar as alterações clínicas, hematológicas e achados epidemiológicos de cães naturalmente infectados e co-infectados pela *Ehrlichia canis*, *Babesia canis vogeli* e pelo vírus da cinomose canina, atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Federal Rural de Pernambuco, utilizando a técnica de reação em cadeia pela polimerase como método de diagnóstico.

7.2 Objetivos específicos:

- Identificar por PCR a *Ehrlichia canis* e *Babesia canis vogeli* no sangue de cães.
- Identificar por RT-PCR o CDV no sangue de cães.
- Investigar a ocorrência de co-infecção pela *Ehrlichia canis*, *Babesia canis vogeli* e CDV pela PCR e RT-PCR.
- Associar os achados do hemograma, parasitológico do sangue e da pesquisa de inclusão viral com as alterações clínicas, epidemiológicas com os resultados da PCR e da RT-PCR.

8 MATERIAL E MÉTODOS

8.1 Animais

Foram avaliados clinicamente, 146 cães de ambos os sexos, variadas raças e idades, provenientes dos atendimentos clínicos do Hospital Veterinário da Universidade Federal Rural de Pernambuco (HV-UFRPE), no período de janeiro de 2012 a junho de 2013 que apresentaram sinais clínicos sugestivos de erliquiose, babesiose ou cinomose. Esta pesquisa foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) sob decisão n°. 031/2012-1506/2011-B05.

O tamanho da amostra para compor o estudo foi calculado baseado na média das prevalências nacionais para erliquiose, babesiose e cinomose. Essas prevalências determinaram uma amostra mínima de 83, 74 e 43 de animais para estas doenças.

Como critério de inclusão na pesquisa, os animais deveriam apresentar história clínica sugestiva de hemoparasitoses, como apatia, anorexia, vômito, febre, distúrbios hemorrágicos, palidez de mucosas, icterícia, secreção ocular ou nasal, perda de peso, lesões oculares, linfadenopatia, esplenomegalia e dispnéia (MOREIRA et al., 2003; CASTRO et al., 2004; BOURDOISEAU, 2006; BORIN et al., 2009) e/ou a presença de carrapatos.

No caso dos animais suspeitos para cinomose deveriam apresentar história clínica sugestiva de cinomose, como descarga oculonasal mucopurulenta, conjuntivite, dispnéia, anorexia, vômitos, diarreia e desidratação (KAPIL e YEARY, 2011) e ou alteração neurológica como ataxia, mioclonias, paresia, alterações de comportamento reações posturais, diminuição da secreção lacrimal, conjuntivite, corioretinite e hiperqueratose naso-digital (TUDURY et al., 1997) e/ou falta de vacinação polivalente.

Cada tutor foi informado a respeito da pesquisa, e após a devida autorização foi realizada a coleta de dados com o preenchimento de ficha individual (Apêndice), contendo dados epidemiológicos e das alterações clínicas, seguido pelo exame físico de cada animal.

8.2 Coleta de sangue e processamento do material biológico

8.2.1 Coleta de sangue

A coleta de sangue foi realizada por meio da venopunção da safena, cefálica ou jugular externa utilizando-se seringas descartáveis. Foram coletados 3mL de sangue, posteriormente acondicionados em tubos plásticos tipo Vacutainer®, contendo anticoagulante (EDTA-K3) para a realização do hemograma e das PCRs. Duas alíquotas de 0,5mL sendo mantidas a -

80°C até o seu processamento para a realização da reação em cadeia pela polimerase para detecção da *Ehrlichia canis*, *Babesia canis vogeli* e a outra para o diagnóstico do CDV.

8.2.2 Hemograma, PPT, Pesquisa de hemoparasitas e de inclusão viral

O hemograma foi realizado com o auxílio de analisador hematológico veterinário (pocH-100iV-Diff-Roche®); a morfologia celular e a contagem diferencial das células foram realizadas após a confecção de esfregaços sanguíneos em lâminas de vidro e corados pelo método panótico rápido (Instat-Prov®-Newprov). A pesquisa de hemoparasitas e de inclusão viral foram realizadas após a leitura de três lâminas do esfregaço sanguíneo, sendo avaliadas em microscopia óptica. Os níveis de proteínas plasmáticas foram determinados por refratometria. Os valores de referência para as variáveis hematológicas foram hemácias: 5,5-8,5 ($\times 10^6/\text{mm}^3$), hemoglobina: 12-18 (g%), hematócrito: 37-55 (%), VCM: 60-77 (fL), CHCM: 32-36 (%), Leucócitos: 6-17 ($\times 10^3/\text{mm}^3$), bastonetes: 0-300 ($/\text{mm}^3$), segmentados: 3.000 a 11.500 ($/\text{mm}^3$), eosinófilos: 100 a 1250 ($/\text{mm}^3$), linfócitos: 1000 a 4800 ($/\text{mm}^3$), monócitos: 150 a 1350 ($/\text{mm}^3$) (JAIN, 1993), plaquetas: 175 a 500 ($\times 10^3/\text{mm}^3$) (MEINKOTH e CLINKENBEARD, 2000), RDW-CV: >11,5 (Laboratório de Patologia Clínica Veterinária da UFRPE) e Proteínas plasmáticas totais: 6 a 8 (g/dL) no plasma (KANEKO, 1997).

8.3 Extração de DNA para detecção da *Ehrlichia canis* e da *Babesia canis*

O DNA foi extraído de cada amostra a partir de uma alíquota de 200 μl de sangue com anticoagulante (EDTA), utilizando-se o kit comercial DNeasy Blood and Tissue (Qiagen™-USA), seguindo as recomendações do fabricante. O DNA extraído foi colocado em tubos de polipropileno de 1,5mL estéreis, identificados e armazenados a -20°C até a amplificação do DNA.

8.4 PCR para detecção de *E. canis* e de *B. canis vogeli*

Para a reação da *B. canis vogeli*, foram utilizados oligonucleotídeos iniciadores descritos por Duarte et al. (2008), que amplificam uma região de aproximadamente 590 pares de base (pb). O iniciador senso BAB1 (5'-GTG AAC CTT ATC ACT TAA AGG-3') é específico para uma região conservada do gene 18S rRNA de *Babesia* spp., e o anti-senso BAB4 (5'-CAA CTC CTC CAC GCA ATC G-3') para uma região específica da subunidade maior do rRNA da *Babesia canis vogeli*. O programa de amplificação consistiu em desnaturação inicial de 94°C durante 2 minutos, seguida por 35 ciclos de 94°C por 30

segundos, 56°C durante 30 segundos e 72°C durante 1 minuto, com uma extensão final de 72°C durante 5 minutos (OGLIARI et al., 2000).

Os oligonucleotídeos utilizados para *Ehrlichia canis* foram o Ehr1401F (5'-CCATAAGCATAGCTGATAACCCTGTTACAA-3') e Ehr1780R (5'-TGGATAATAAAACCGTACTATGTATGCTAG-3') que amplificam aproximadamente 380 pares de base (pb). O programa de amplificação da *Ehrlichia canis* consistiu em desnaturação de 95°C por 15 minutos, seguido por 30 ciclos a 94°C por 45 segundos, 65°C por 45 segundos e a 72°C por 90 segundos, com uma etapa de extensão final de 72°C durante 10 minutos (KLEDMANEE et al., 2009).

A amplificação das amostras de DNA da *Babesia canis vogeli* foi realizada em microtubos de 200µL, com volume final de 12,5µL, em que foi utilizado 0.5µM de cada *primer* (20pM/mL) e uma solução pré-misturada, contendo 200µM dNTP, 1,5mM MgCl₂, 5U *Taq* DNA polymerase (*Taq* PCR Master Mix - QIAGEN/USA) e 2,5µL de DNA (DNA genômico na concentração média de 200ng µl⁻¹), 2,75µL de água Mili-Q ultrapura, para a *Ehrlichia canis*, foram utilizados os mesmos constituintes na mesmas concentrações, porém com a adição de 1,5µL de MgCl₂, sendo o volume final da reação de 14µL. As amplificações foram realizadas no termociclador (XP Thermal Cycler - Bioxer Technology CO. LTD). Como controle negativo, foi utilizada água Mili-Q ultrapura, enquanto que os controles positivos para *E. canis* e *Babesia canis vogeli* foram de amostras de cães positivos, cedidos pelo Laboratório de Doenças Parasitárias dos Animais Domésticos da Universidade Federal Rural de Pernambuco.

A análise do produto amplificado foi realizada por eletroforese em gel de agarose a 2,0% para a *E. canis* e a 1,5% na *B. canis vogeli*, com tampão de corrida TAE 1,0X (TRIS-Acetato e EDTA, pH 8,0) e o gel submetido à voltagem constante de 6-7V/cm. O padrão de peso molecular empregado foi de 100pb. As amostras para o gel foram coradas com *Blue Green* (LGC Biotecnologia, Brasil) e, posteriormente, fotografados sob luz ultravioleta pelo sistema de foto-documentação (Câmera Kodak Digital DC/120 Zoom).

8.5 Extração do RNA e RT- PCR para a detecção do CDV

A extração do RNA do CDV a partir de sangue total foi realizada empregando-se o Trizol® (Gibco BRL), de acordo com as recomendações do fabricante. Os oligonucleotídeos utilizados para a detecção do CDV, foram o CDV1 (+) (5'-ACA GGA TTG CTG AGG ACC TAT-3', nt 769-789) e CDV2 (-) (5'-CAA GAT AAC CAT GTA CGG TGC-3', nt 1055-1035), na concentração de 20pmol, desenhados a partir da sequência do gene que codifica a

nucleoproteína (N) do vírus e que amplificam um produto de 287 pares de base (pb) de acordo com Frisk et al. (1999).

A transcrição reversa (RT) foi realizada em microtubos de polipropileno de 200µl, com um mix contendo 1µL do primer CDV1 e 9µL do RNA numa temperatura de 70°C durante 10 minutos e incubado por 5 minutos em gelo. Após esse procedimento, foi realizada com o produto da desnaturação outra fase, com um volume final de 20µL, sendo os constituintes nas seguintes proporções, 5µL de H₂O ultrapura, 2µL de Buffer 1x, 1,6µL de dNTP, 1,2µL de MgCl₂ e 0,2 µL da transcriptase reversa (*Moloney Murine Leukemia Virus*) [(M-MLV) 60U] (Invitrogen™ Life Technology) e com o tratamento térmico de 42°C por 30 minutos.

Para a PCR, o mix foi composto por 5µL de cDNA, 5µL de Buffer 1x (30 mM Tris-HCl, pH 8.4, and 75 mM KCl), 4µL de dNTP (0.8 mM) (Invitrogen™ Life Technology, Carlsbad, CA, USA), 1,5µL de MgCl₂ (3mM), 1µL do *primer* CDV1, 1µL do *primer* CDV2 e 0,5µL de 2,5U *Taq* polimerase (Invitrogen™ Life Technology, São Paulo, SP, Brasil) e água ultrapura autoclavada para completar o volume final de 50µL. O ciclo térmico de 94°C por 1 minuto, 40 ciclos a 94°C por 1 minuto, 59°C por 2 minutos e 72°C por 1 minuto e extensão final a 72°C por 7 minutos, sendo todas as etapas da RT-PCR realizadas no termociclador (Ecohelthcare-Shift-MaxPro), com o ciclo térmico segundo Frisk et al. (1999), apenas com algumas modificações.

Os produtos amplificados foram analisados por eletroforese em gel de agarose a 2% em tampão TBE pH 8,4 (89 mM Tris; 89mM ácido bórico; 2mM EDTA), numa corrida de 45 minutos a 90 V, corado em solução contendo 0,5µg/ml de brometo de etídio, e visualizado sob luz ultravioleta no transiluminador acoplado a câmera digital Kodak Edas-290 .

8.6 Análise estatística

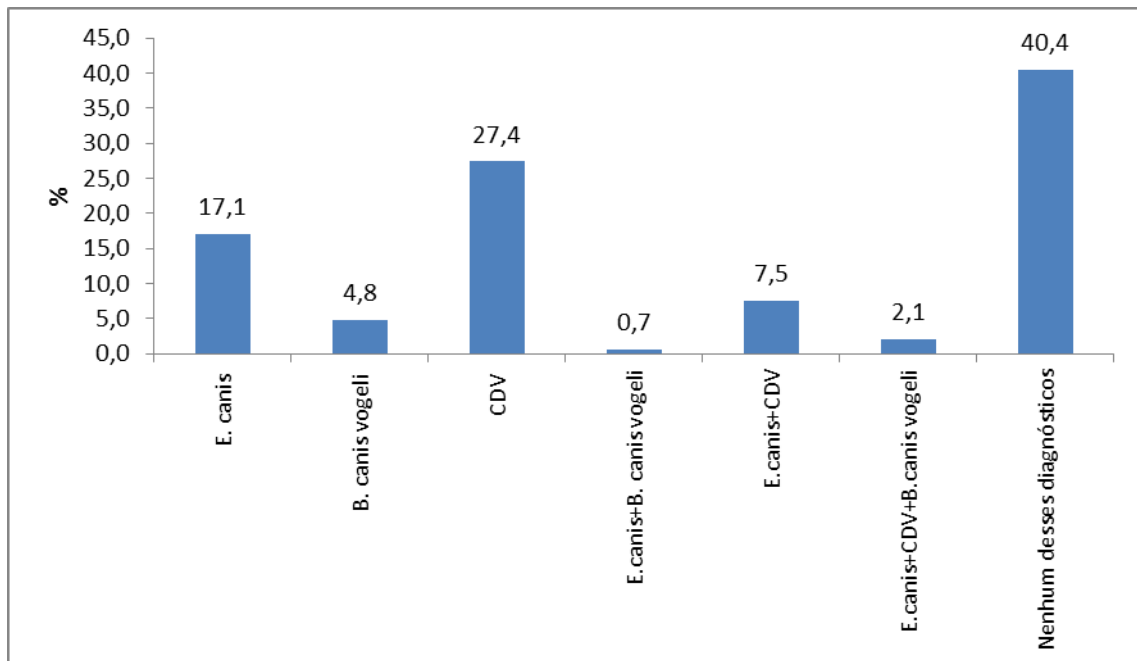
A análise estatística foi realizada com base na associação entre os achados clínicos, exames laboratoriais, variáveis epidemiológicas e os resultados da PCR. O teste Kappa foi realizado para avaliar a concordância entre o exame parasitológico do sangue, pesquisa de inclusão de Lentz e os resultados da PCR para *E. canis* e *B. canis vogeli* e da RT-PCR para o CDV.

As associações entre a *Ehrlichia canis*, *Babesia canis vogeli* e o CDV foram realizadas por meio do teste qui-quadrado de Pearson e em tabelas 2x2 com correção de continuidade. Os resultados dos exames hematológicos foram categorizados pelos valores de referência; os valores de p menores que 0,05 foram considerados estatisticamente significantes e software utilizado foi o SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) versão 19.0.

9 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A frequência dos diagnósticos pela PCR convencional para as infecções pela *Ehrlichia canis*, *Babesia canis vogeli* e pela RT-PCR para o CDV dos 146 cães avaliados, estão representadas na Figura 4. As co-infecções pela *E. canis* com a *B. canis vogeli* foram observadas em 0,7%, *Ehrlichia canis* com o CDV em 7,5%, 2,1% dos animais foram infectados pelos três agentes infecciosos e 40,4% dos animais avaliados não tiveram nenhuma das infecções.

Figura 4: Frequência dos diagnósticos pela PCR convencional para a *Ehrlichia canis*, *Babesia canis vogeli* e pela RT-PCR para o CDV e co-infecções de cães atendidos no HV-UFRPE.



Fonte: Silva (2013).

Em relação às infecções únicas por *E. canis*, os resultados obtidos neste estudo encontram-se abaixo dos observados por Sousa et al. (2010) que verificaram 24,6% de positividade no exame parasitológico sanguíneo para erliquiose em Cuiabá, no Mato Grosso e estes mesmos pesquisadores constataram que dos 60 cães testados aleatoriamente na PCR, em 15% houve a amplificação do DNA da *E. canis*. Ueno et al. (2009) observaram em pesquisa realizada em Botucatu, São Paulo, com 70 cães suspeitos de erliquiose, que 40%, tiveram a confirmação do diagnóstico pela PCR.

A frequência de positividade nesta pesquisa foi maior do que a encontrada por Macieira et al. (2005) utilizando a PCR em 226 animais sem suspeita clínica e encontraram

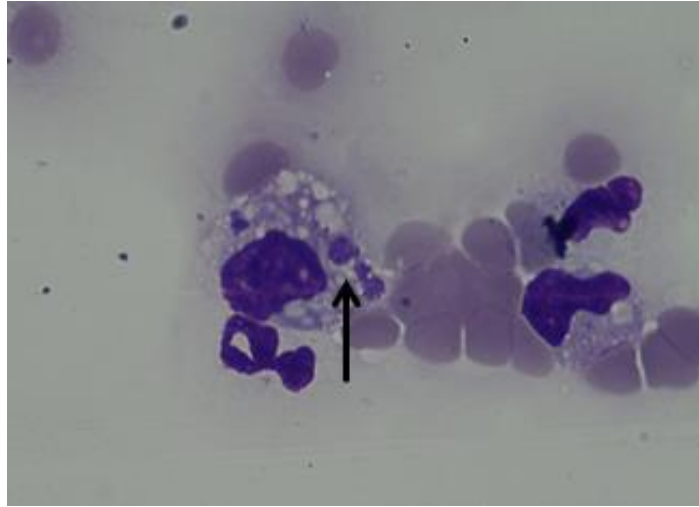
15% de infecção por esta bactéria no Rio de Janeiro. Nesta pesquisa, o percentual de positividade para EMC também está abaixo dos encontrados no Sudeste da Europa, onde a prevalência da EMC é superior a 25% em cães na Espanha (SAINZ et al., 1995), Portugal (MENN et al., 2010) e Itália (TROTTA et al., 2009).

No Brasil, a EMC é endêmica e vários estudos foram realizados utilizando a PCR, tendo sido observado diferentes percentuais de positividade que oscilaram entre 7,8 a 72,5% (DAGNONE et al., 2003; BULLA et al., 2004; MACIEIRA et al., 2005; CARVALHO et al., 2008; MENESES et al., 2008; NAKAGHI et al., 2008; UENO et al., 2009; RAMOS et al., 2009; FARIA et al., 2010). As variações de positividade da EMC estão relacionadas a fatores epidemiológicos, às condições climáticas, distribuição do vetor, população sob estudo, comportamento animal e habitat, assim como, o método diagnóstico empregado na investigação (DAGNONE et al., 2001; SOLANO-GALLEGO et al., 2006).

Quanto ao exame parasitológico do sangue para pesquisa hemoparasitas, observou-se positividade em 6,2% para *Ehrlichia* spp. (Figura 5) e 9,5% para *Anaplasma platys*. Estes valores são similares aos observados por Rodrigues et al. (2004) que relataram uma prevalência de 9,9% em cães da zona rural de Juiz de Fora (MG) de *Anaplasma platys*. Ramos et al. (2009) em Recife verificaram que 21% dos cães analisados foram positivos para *Anaplasma platys*, 9% para *Ehrlichia* spp. e na nested-PCR houve amplificação do DNA destes agentes, respectivamente em 55% e 57% dos animais. Ueno et al. (2009) encontraram 7,1% de infecção para *Ehrlichia* spp., no esfregaço sanguíneo em cães de Botucatu, em São Paulo e Borin et al. (2009) observaram mórulas de *Ehrlichia* spp., em 4,6% dos exames parasitológicos em Uberlândia, Minas Gerais.

Co-infecções por *A. platys* e *E. canis* tem sido relatadas em várias regiões do Brasil e do mundo, como China (HUA et al., 2000), Venezuela (SUksAWAT et al., 2000), por Santos et al. (2009) em Ribeirão Preto, São Paulo e Sousa et al. (2009) em Cuiabá. Infecções simultâneas por *Babesia canis vogeli* com *Anaplasma platys* foi verificada na Austrália por Brown et al. (2006). É comum estas co-infecções, porque provavelmente o mesmo vetor, o *R. sanguineus* da *E. canis* e da *Babesia canis vogeli* seja o responsável pela transmissão do *Anaplasma platys* (SANOGO et al., 2003; YABSLEY et al., 2008). Borin et al. (2009) detectaram que dos 251 cães positivos na pesquisa de hemoparasitas, 203 (80,9%) apresentaram, exclusivamente, *Ehrlichia* spp. e quarenta e oito animais (19,1%) com infecção por esta bactéria, apresentaram infecções concomitantes com outros hemoparasitas (12,7%), destacando-se *Babesia* spp. e *Hepatozoon* spp.

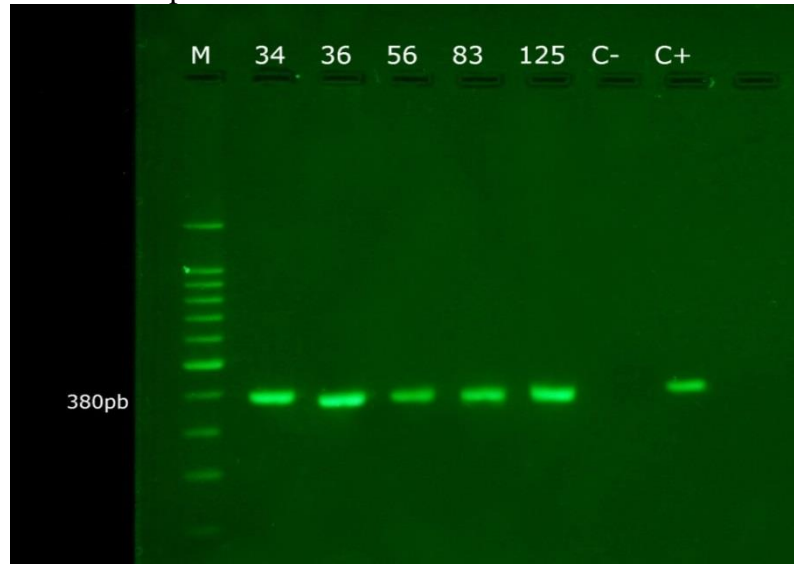
Figura 5: Parasitológico sanguíneo de um cão positivo para *Ehrlichia canis*. Mórula da *Ehrlichia canis* em um monócito ativado (seta preta). Aumento de 100X.



Fonte: Silva (2013).

O Teste Kappa apresentou baixa concordância entre a presença de mórulas em esfregaços sanguíneos (6,2%; 9 cães positivos dos 146 testados) e os resultados da PCR convencional para *E.canis* (Figura 6) (Kappa=0,127, Concordância=0,556). O exame parasitológico, apesar da facilidade de execução, baixo custo e rapidez nos resultados, classicamente, apresenta baixa sensibilidade e relativa baixa especificidade, decorrente provavelmente da flutuação parasitêmica do micro-organismo e da possibilidade de se encontrar outras inclusões intracitoplasmáticas não relacionadas com *Ehrlichia canis* (ELIAS, 1992). Diferentemente, a PCR tem identificado o DNA dessa bactéria com maior sensibilidade e especificidade (NAKAGHI et al., 2004; MACIEIRA et al., 2005; NAKAGHI et al., 2008; RAMOS et al., 2009; UENO et al., 2009), mesmo em baixas concentrações desta bactéria na circulação sanguínea (MCBRIDE et al., 1996).

Figura 6: Eletroforese em gel de agarose a 2% da amplificação do DNA da *Ehrlichia canis* de cães positivos pela PCR convencional. Linha M: marcador molecular (100pb). Linhas 34, 36, 56, 83 e 125: animais positivos. C-: controle negativo. C+: controle positivo.



Fonte: Silva (2013).

Os exames de diagnóstico empregam vários métodos, com diferentes graus de sensibilidade e especificidade para a detecção da *Ehrlichia* spp. Na IFA e em outros métodos sorológicos podem ocorrer muitos falso-positivos devido à técnica não diferenciar a infecção da exposição prévia ao patógeno. Por outro lado, a PCR do sangue periférico pode revelar resultados falso-negativos nas fases subclínicas ou na infecção crônica dos cães (VIEIRA et al., 2011).

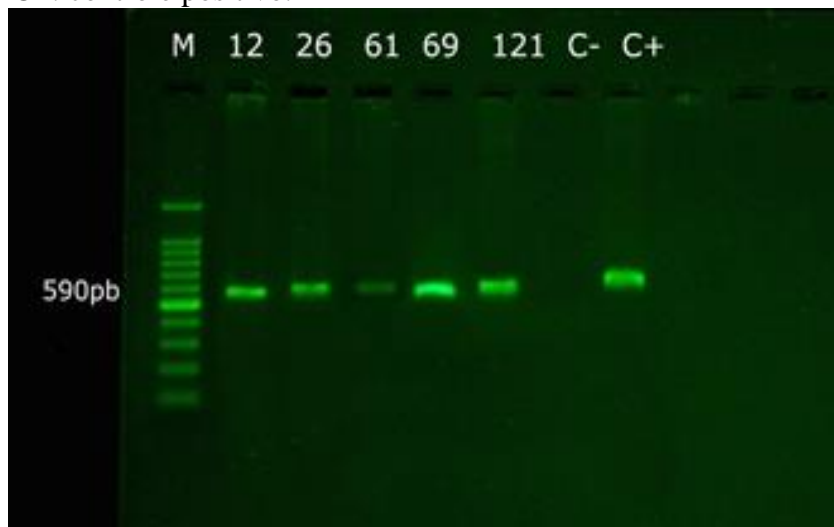
A frequência de infecção de 4,8% por *Babesia canis vogeli* nesta pesquisa foi maior do que a encontrada por Silva et al. (2012), que avaliaram 300 cães em São Luís no Maranhão por PCR e detectaram 3,3% do DNA de *Babesia canis vogeli*. Este fato pode ter ocorrido porque a população desta pesquisa foi composta por animais suspeitos, diferentemente da população avaliada por estes autores.

Entretanto, nesta pesquisa, o percentual de positividade para *B. canis vogeli* foi menor do que as observadas por M'ghirbi e Bouattour (2008) na Tunísia, que após a avaliação de 180 amostras de sangue de cães domésticos em quatro aldeias situadas em diferentes zonas bioclimáticas, detectaram o DNA da *Babesia canis vogeli* em 12 (6,6%). O'dwyer et al. (2009) observaram 8% de infecção por *Babesia* spp. em cães de áreas rurais no estado de São Paulo.

Ramos et al. (2010) detectaram 7,31% de positividade para *Babesia canis vogeli* em cães em Pernambuco pela PCR e Jojima et al. (2008) observaram amplificação do DNA da *Babesia* spp. em 37,2% das suas 282 amostras, em Londrina no Paraná. Destas, 105 amostras positivas, a PCR-RFLP identificou 66 amostras (23,4%) com perfil de clivagem compatível com a *B. canis vogeli* e 39 (13,8%) com a *B. gibsoni*. Enquanto, Ionita et al. (2012) detectaram em 12 (75%) de infecção por *Babesia* spp. na PCR de 16 cães suspeitos na Romênia.

O exame parasitológico do sangue detectou *Babesia* spp. em 1,4% dos animais avaliados. O teste Kappa apresentou baixa concordância entre a presença de merozoítos nos esfregaços sanguíneos (1,4%; 2 cães positivos dos 146 testados) com os resultados da PCR convencional para *B. canis vogeli* (Figura 7) (Kappa=0,147, Concordância=0,500). A baixa concordância possivelmente ocorreu, devido à baixa parasitemia, o que sugere que os animais positivos poderiam estar na fase crônica da doença.

Figura 7: Eletroforese em gel de agarose a 1,5% da amplificação do DNA da *Babesia canis vogeli* de cães positivos pela PCR convencional. Linha M: marcador molecular (100pb). Linhas 12, 26, 61, 69 e 121: animais positivos. C-: controle negativo. C+: controle positivo.



Fonte: Silva (2013).

Investigações parasitológicas no Brasil mostraram que a prevalência da infecção por *Babesia* spp. é bastante variada. Em um estudo retrospectivo realizado na Bahia por Ungar de Sá et al. (2007) com 7.243 amostras de sangue, 2.459 (33.95%) apresentaram resultado positivo para *Babesia* spp. Bastos et al. (2004) em Minas Gerais verificaram em 31,4% dos

cães a *Babesia* spp. O'dwyer et al. (2001), estudando cães de áreas rurais do Estado do Rio de Janeiro, diagnosticaram *Babesia* spp. em 5,2% dos cães, por meio do esfregaço sanguíneo.

Os resultados do exame parasitológico desta pesquisa são similares aos de Miranda et al. (2008) em Campos dos Goytacazes, no Rio de Janeiro, no qual, 1,47% dos 2.031 cães analisados estavam parasitados pela *Babesia* spp. A técnica de esfregaço sanguíneo possui alta especificidade, porém baixa sensibilidade, já que a parasitemia é variável, dificultando a visualização de eritrócitos circulantes parasitados. A não detecção do parasito no parasitológico sanguíneo não implica na ausência de infecção (MASUDA et al., 1983).

Neste estudo, 27,4% dos cães foram positivos na RT-PCR para o CDV, divergindo de Negrão et al. (2007) que verificaram 66,5% (125/188) de infecção pelo CDV em Londrina, Paraná na RT-PCR. A cinomose no Brasil é endêmica, podendo representar de 2,07% (BORBA et al., 2002) e 6% (HEADLEY e GRAÇA, 2000) de todas as ocorrências clínicas e até 11% das mortes em cães. Contudo, não há prevalência determinada para a infecção pelo CDV no Brasil.

Estes resultados diferentes devem-se, possivelmente, ao material biológico utilizado para a realização da RT-PCR em ambos os estudos. Entretanto, os resultados obtidos nesta pesquisa se assemelham aos obtidos por Dezengrini et al. (2007) que verificaram uma soroprevalência de 27% em cães, em Santa Maria, no Rio Grande do Sul.

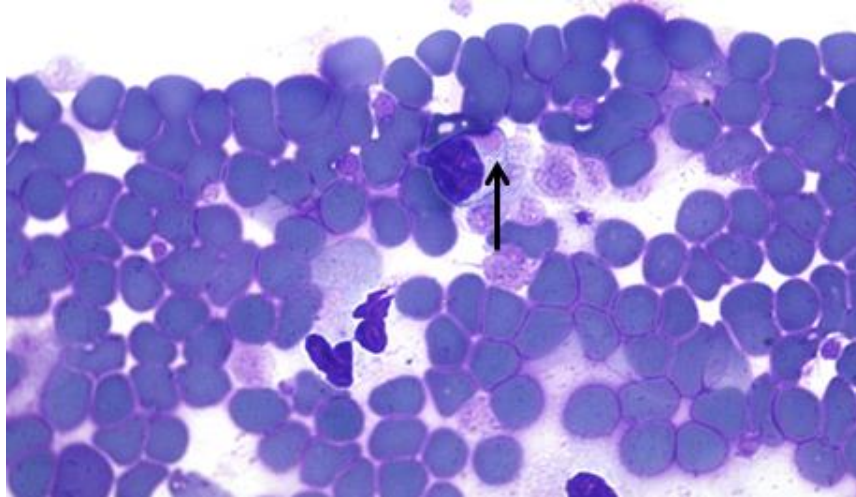
A RT-PCR é um método de diagnóstico *ante mortem* que apresenta altas taxas de sensibilidade e especificidade na detecção do CDV em cães (AMUDE et al., 2006a; SAITO et al., 2006; NEGRÃO et al., 2007). Esta técnica pode revelar resultados falso-negativos, destacando-se o método de extração do ácido nucléico e a seleção do material biológico a ser utilizado para o diagnóstico (FRISK et al., 1999; NEGRÃO et al., 2007).

Na pesquisa de inclusão viral (Figura 8) observou-se positividade em 7,5% dos animais para a cinomose e o teste Kappa não apresentou concordância entre a presença do corpúsculo de Lentz (7,5%; 11 cães positivos dos 146 testados) e os resultados da RT-PCR para o CDV (Figura 9) (Kappa= -0,019, Concordância = 0,273).

Diferentemente de Silva et al. (2005) que encontraram inclusões virais em 13 (21%) dos 62 animais suspeitos e Tudury et al. (1997) verificaram a presença de corpúsculos de Lentz entre 30 a 45% em tecidos extraneurais, com maior frequência em linfonodos. No experimento de Monteiro et al. (2008) com 17 cães com diagnóstico clínico para cinomose, em 17,6% dos esfregaços sanguíneos foi detectado inclusão de Lentz. A discordância no teste Kappa entre a pesquisa de inclusão de Lentz e a RT-PCR era esperada, uma vez que estas

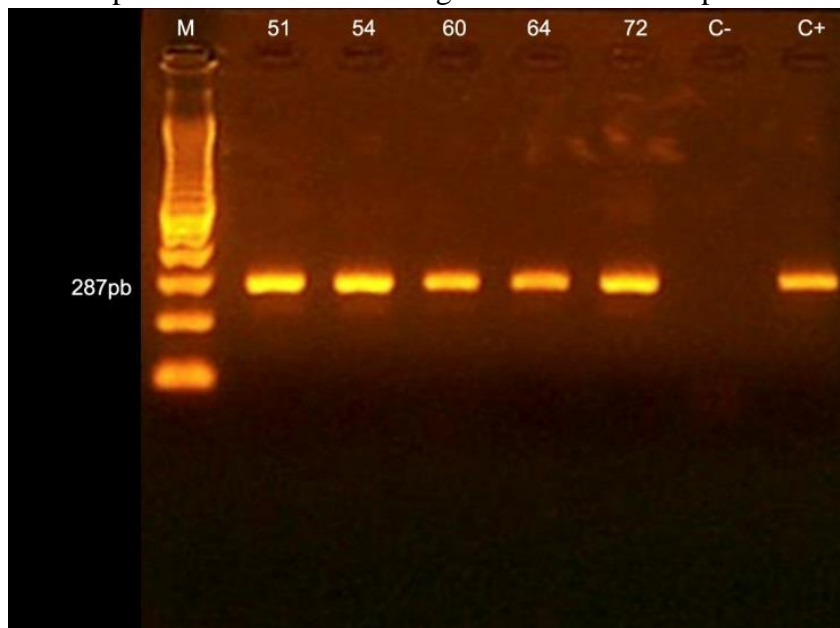
técnicas de diagnóstico diferem bastante quanto à sensibilidade e também por causa da transitoriedade desta inclusão.

Figura 8: Inclusão viral (Corpúsculo de Lentz) no linfócito de um cão positivo para cinomose. Aumento de 100X.



Fonte: Silva (2013).

Figura 9: Eletroforese em gel de agarose a 2% corada com brometo de etídio da amplificação do fragmento com 287pb correspondente ao DNA do CDV de cães positivos pela RT-PCR. M: marcador molecular (100pb). Linhas 51, 54, 60, 64 e 72: animais positivos. C-: controle negativo. C+: controle positivo.



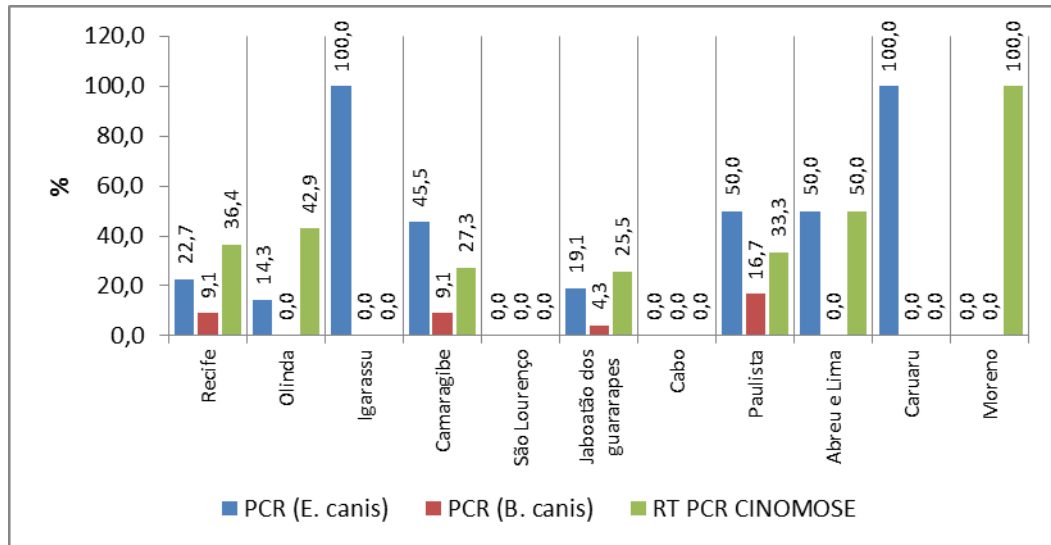
Fonte: Silva (2013).

Entretanto, os percentuais de cães positivos para a inclusão viral nesta pesquisa foram maiores do que as observadas por Koutinas et al. (2002) que detectaram em 5,3% dos animais. A inclusão viral é o efeito citopático do vírus sobre células sanguíneas, principalmente nos linfócitos. Sua visualização confere ao diagnóstico um caráter definitivo (FELDMAN et al., 2000). Entretanto, a presença pouco frequente desses corpúsculos de inclusão em cães com cinomose (ALLEMAN et al., 1992; BATISTA et al., 2000) é um fator limitante e sua ausência não exclui a possibilidade de infecção, pois são frequentemente observadas na fase de viremia (GOSSETT et al., 1982) e, geralmente, não são encontradas nas infecções crônicas (GEBARA et al., 2004).

Em relação às co-infecções, pesquisas experimentais com casuísticas de clínicas ou hospitais veterinários avaliando conjuntamente as infecções por *E. canis*, *B. canis vogeli* e CDV são escassas no Brasil e muitas vezes os estudos são resultado de relatos de casos (AQUINO et al., 2011; MIRANDA et al., 2011) ou resultantes de achados laboratoriais. Os dados obtidos nesta pesquisa em relação às infecções simultâneas por *E. canis*, *B. canis vogeli* e CDV ratificam a importância da realização de pesquisas desta natureza, pois as co-infecções podem alterar os sinais clínicos, mascarar ou exacerbar as anormalidades hematológicas, determinar um curso imprevisível e, com isso, dificultar o diagnóstico. Em várias situações a presença de infecções concomitantes, ou co-infecções confundem o diagnóstico clínico e dificulta o tratamento (DE CAPRARIIS et al., 2011; TOMMASI et al., 2013).

A Figura 10 apresenta a distribuição de positividade dos cães para *E. canis*, *B. canis vogeli* e CDV conforme a cidade de origem dos animais. Os cães de Igarassu, Camaragibe, Paulista e Caruaru tiveram uma frequência maior de positividade para *E. canis*, enquanto, os cães de Olinda tiveram os menores percentuais. Os cães de Paulista tiveram um percentual maior de infecção para *B. canis vogeli* do que os outros municípios e os de Camaragibe e Recife tiveram os mesmos percentuais de infecção (9,1%) para este agente. Os animais de Moreno, Abreu e Lima, Olinda, Recife, Paulista e Camaragibe apresentaram, respectivamente, as maiores frequências de infecção para o CDV.

Figura 10: Porcentuais de infecção para *Ehrlichia canis*, *Babesia canis vogeli* e CDV de cães atendidos, no HV-UFRPE segundo a cidade de origem.



Fonte: Silva (2013).

A Tabela 2 apresenta as frequências de positividade para erliquiose, babesiose e cinomose e associação com as variáveis epidemiológicas. As fêmeas apresentaram maiores percentuais de positivos com 26,4% para erliquiose e 34,7% para cinomose, enquanto que os machos obtiveram uma frequência maior com 8,1% para a babesiose, porém não foram observadas diferenças estatísticas significativas ($p > 0,05$).

Tabela 2 –Frequência absoluta e relativa de infecção pela *Ehrlichia canis*, *Babesia canis vogeli* e CDV e associação com as variáveis epidemiológicas de cães atendidos no HV-UFRPE

Variáveis Epidemiológicas		N	PCR (<i>E. canis</i>)		PCR (<i>B. canis</i>)		RT-PCR (CDV)	
			Positivo(%)	P-valor	Positivo(%)	p-valor	Positivo(%)	P-valor
Sexo	Macho	74	17 (23,0%)	0,774	6 (8,1%)	0,777	21 (28,4%)	0,518
	Fêmea	72	19 (26,4%)		4 (5,6%)		25 (34,7%)	
Idade	1 a 12 meses	42	15 (35,7%)	0,153	3 (7,1%)	0,587	17 (40,5%)	0,235
	De 13 a 48 meses	24	7 (29,2%)		1 (4,2%)		8 (33,3%)	
	De 49 a 84 meses	32	6 (18,8%)		1 (3,1%)		11 (34,4%)	
	Acima de 84 meses	48	8 (16,7%)		5 (10,4%)		10 (20,8%)	
Raça	Com raça definida	45	12 (26,7%)	0,867	4 (8,9%)	0,767	16 (35,6%)	0,610
	Sem raça definida	101	24 (23,8%)		6 (5,9%)		30 (29,7%)	
Vacinação Polivalente	Sim	10	4 (40,0%)	0,432	1 (10,0%)	1,000	5 (50,0%)	0,341
	Não	136	32 (23,5%)		9 (6,6%)		41 (30,1%)	
Vermifugação	Sim	83	19 (22,9%)	0,708	5 (6,0%)	0,903	24 (28,9%)	0,553
	Não	63	17 (27,0%)		5 (7,9%)		22 (34,9%)	
Acesso à rua	Sim	77	19 (24,7%)	1,000	6 (7,8%)	0,882	30 (39,0%)	0,041*
	Não	69	17 (24,6%)		4 (5,8%)		16 (23,2%)	
Tipo de quintal	Cimento	52	12 (23,1%)	0,804	3 (5,8%)	0,640	16 (30,8%)	0,174

	Areia+Cimento	76	19 (25,0%)		5 (6,6%)		20 (26,3%)	
	Areia	16	5 (31,3%)		2 (12,5%)		8 (50,0%)	
Tipo de alimentação	Ração	69	17 (24,6%)	0,896	3 (4,3%)	0,483	21 (30,4%)	0,756
	Comida caseira	15	3 (20,0%)		1 (6,7%)		6 (40,0%)	
	Mista	62	16 (25,8%)		6 (9,7%)		19 (30,6%)	
Tipo de criação	Domiciliado	140	36 (25,7%)	0,343	10 (7,1%)	1,000	44 (31,4%)	1,000
	Semidomiciliado	6	0 (0,0%)		0 (0,0%)		2 (33,3%)	
Área de moradia	Área Rural	54	10 (18,5%)	0,263	2 (3,7%)	0,416	14 (25,9%)	0,354
	Área Urbana	92	26 (28,3%)		8 (8,7%)		32 (34,8%)	
Criado dentro de casa	Sim	52	16 (30,8%)	0,283	5 (9,6%)	0,521	21 (40,4%)	0,126
	Não	94	20 (21,3%)		5 (5,3%)		25 (26,6%)	

Odds Ratio da variável acesso à rua para a presença do CDV (2,11- IC95%) (1,02-4,36);* Estatisticamente significante; p-valor do teste qui-quadrado de Pearson.

Fonte: Silva (2013).

Verificou-se nesta pesquisa, que as fêmeas foram mais acometidas pela erliquiose, sendo este dado similar aos dados da literatura nacional, a qual citou que 61,5% dos cães acometidos por essa doença eram fêmeas (MOREIRA et al., 2003). Corroboram a Borin et al. (2009) que observaram maior positividade para *Ehrlichia* spp., nas fêmeas (61,1%) e com Sousa et al. (2010) que dos 47 cães positivos para erliquiose, 29 eram fêmeas e 18 machos. Entretanto, divergem de Ueno et al. (2009) que observaram maior frequência desta doença nos machos. As fêmeas podem ter sido mais acometidas, devido, as oscilações hormonais provocadas pelas diferentes fases do ciclo estral, onde no diestro e na gestação, a progesterona está em maiores concentrações e conseqüentemente, a imunossupressão provocada nestas fases tornam as fêmeas mais vulneráveis para a infecção.

Houve uma frequência maior de fêmeas com cinomose, sendo este resultado similar ao encontrado por Barbosa et al. (2011) em um estudo retrospectivo no Hospital Veterinário em Araçatuba, detectaram em 14 fêmeas e 11 machos, o corpúsculo de inclusão viral e diferentes dos resultados de Barbosa e Passos (2008) em Goiás, onde verificaram num estudo retrospectivo de cães com cinomose, 27 eram machos e 19 fêmeas. Resultados similares foram observados por Headley e Graça (2000) em Santa Maria, no Rio Grande do Sul, onde as fêmeas representaram o maior número dos diagnósticos, do total de 250 cães, 126 eram fêmeas e 124 machos, entretanto, estes pesquisadores afirmaram que não há diferenças na suscetibilidade entre machos e fêmeas, em relação ao CDV.

Na babesiose, os machos representaram os maiores percentuais de infecção, apesar de não ter sido observada diferenças estatísticas significativas ($p > 0,05$), concordando com Jojima et al. (2008) em Londrina no Paraná que também verificaram maiores percentuais dos diagnósticos nos machos com 22% na PCR para *Babesia* spp. A literatura também não

descreve nenhuma predileção por sexo ou raça (RIBEIRO et al., 1990; GUIMARÃES et al., 2002; BASTOS et al., 2004; TRAPP et al., 2006). Os machos foram mais acometidos provavelmente porque possuem uma tendência maior de acesso à rua e conseqüentemente se infestar por carrapatos, o que os tornaria mais vulneráveis.

Os animais na faixa etária de um a 12 meses tiveram os maiores percentuais dos diagnósticos para erliquiose (35,7%) e cinomose (40,5%), enquanto que os animais acima de 84 meses para a *Babesia canis vogeli*. Não foram observadas diferenças estatísticas nestas variáveis ($p > 0,05$). Borin et al. (2009) verificaram infecção por *Ehrlichia* spp., em cães entre um mês a 18 anos, sendo que destes, 38% encontravam-se na faixa etária de um a 23 meses de idade. Baneth et al. (1996) descreveram maior prevalência em cães adultos e idosos, associando ao fato de maior tempo de exposição destes ao hospedeiro invertebrado e maior suscetibilidade para os cães idosos. Esta faixa etária também tem maior possibilidade de ter doenças crônicas, o que favorece a ocorrência da infecção.

Sousa et al. (2010) constataram que a maioria das infecções por *E. canis* ocorreram na faixa etária de menos de um ano de idade e Ueno et al. (2009) verificaram que 65% dos animais com erliquiose tinham até 12 meses. Segundo Shaw et al. (2001) os animais jovens parecem ser mais susceptíveis à doença severa. Nessa faixa etária, há um risco maior de contraírem esta infecção e apresentarem o agente circulante, decorrente de altas contaminações ambientais por carrapatos, o que ocasiona exposição ao agente nos primeiros meses de vida (UENO et al., 2009). Possivelmente os animais jovens encontravam-se na fase aguda da doença e os mais velhos, em sua maioria, à recrudescência da infecção crônica.

Headley e Graça (2000) detectaram que os animais com até um ano e meio apresentavam maior risco de mortalidade em decorrência da severidade das alterações neurológicas provocadas pela cinomose. Os resultados verificados nesta pesquisa são semelhantes aos de Gouveia et al. (1987) e Ek-Kommonen et al. (1997). A suscetibilidade dos neonatos e dos cães jovens para o CDV está diretamente relacionada com o início da redução dos anticorpos maternos (SWANGO, 1997; SHELL, 1990), sendo diretamente proporcional à taxa de crescimento desses animais (CHAPPUIS, 1995). Barbosa e Passos et al. (2008) observaram que 73,4% dos animais com cinomose encontravam-se na faixa etária até 5 anos, entretanto, essa doença pode acometer cães de todas as idades (GREENE e APPEL, 2006).

A maior parte dos animais positivos para babesiose, neste estudo, encontrava-se na faixa etária acima de 84 meses. Trapp et al. (2002) em uma população hospitalar no Norte do Paraná, observaram maior soroprevalência em cães com mais de um ano de idade, entretanto, Brown et al. (2006) observaram que os cães filhotes são mais severamente acometidos pela

babesiose e Jojima et al. (2008) detectaram maiores percentuais de positivos para babesiose na faixa etária de um a 5 anos. Estas diferenças podem ter ocorrido devido às técnicas de diagnóstico empregadas e a população de estudo de ambas as pesquisas.

Em alguns cães imunocomprometidos com co-infecções, doenças neoplásicas ou tratamentos imunossupressivos, a *Babesia canis vogeli* pode representar um achado incidental (SOLLANO-GALEGO et al., 2008). Costa-Júnior et al. (2009) observaram que a soroprevalência da infecção pela *Babesia canis vogeli* esteve diretamente relacionada à idade dos animais e infestação por carrapatos, logo quanto mais velho o animal, maior a soroprevalência. Este fato também pode ser explicado, devido a maior probabilidade destes animais terem alguma doença crônica, o que facilitaria a ocorrência da doença.

Os animais com raças definidas apresentaram as maiores frequências de infecção para os três agentes estudados, porém não foram observadas diferenças estatísticas significativas ($p > 0,05$). A distribuição das raças dos cães positivos para *E. canis* foram Pitbull (41,7%), Poodle (25%), Cocker Spaniel (16,7%), Pinscher (8,3%) e Rottweiler (8,3%). Na erliquiose, não há descrição de suscetibilidade em relação à raça, entretanto, o Pastor Alemão parece ser mais susceptível, manifestando uma doença mais severa e com prognóstico desfavorável (MYLONAKIS et al., 2004). A susceptibilidade verificada pode ser atribuída à incapacidade em exibir uma resposta imunológica adequada, por diminuição na resposta celular a *E. canis*, quando o Pastor Alemão foi comparado com o Beagle (NYINDO et al., 1980).

Apesar de não existir predisposição racial para erliquiose, Sousa et al. (2010) constataram que os cães parasitados pela *E. canis* foram de diferentes raças, sendo o maior número representado pelos cães sem definição racial, seguidos de Pitbull, Pastor Alemão, Dachshund, Rottweiler, Poodle, Fila Brasileiro, Cocker Spaniel, Pequinês, Lhasa Apso, Husky Siberiano, Mastin Napolitano, Golden Retriever, Labrador, Shih-Tzu, Boxer, Doberman e Basset Hound. Borin et al. (2009) detectaram que dos 203 cães positivos para erliquiose, 119 (59%) eram de raças definidas, destacando-se Poodle (20%), Pastor Alemão (13%) e Pinscher (13%) como às raças mais frequentes.

Na infecção por *Babesia canis vogeli* as raças mais acometidas foram Pinscher (75%) e Pitbull (25%), porém Jojima et al. (2008) verificaram que a babesiose foi mais prevalente nos cães sem raça definida, seguidos do Pastor Alemão (3,9%), Poodle (3,5%), Rottweiler (1,8%) e (11%) outras raças. Vários estudos no Brasil verificaram a inexistência de predisposição racial para a babesiose canina (RIBEIRO et al., 1990; GUIMARÃES et al., 2002; BASTOS et al., 2004; TRAPP et al., 2006). Costa-Júnior et al. (2009) avaliaram cães na zona rural de Minas Gerais, observaram que a raça não constituiu um fator de risco

relacionado à soroprevalência da *B. canis vogeli*, assim como sexo e volume globular abaixo de 30%.

Na cinomose, as distribuições das raças mais acometidas foram Poodle (25%), Pitbull (25%), Cocker Spaniel (18,75%), Dachshund (6,25%), Chow Chow (6,25%), Rottweiler (6,25%), Yorkshire (6,25%) e Akita (6,25%). Headley e Graça (2000) observaram que dos cães com cinomose, 54,4% não tinham definição racial, 10% Pastor Alemão, 4% Cocker Spaniel, entre outras raças. Greene e Appel (2006) relataram que pode haver maior suscetibilidade para algumas raças para a cinomose, mas não há nenhuma comprovação científica. Entretanto, os cães braquicefálicos podem apresentar baixas prevalências da cinomose, mortalidade e sequelas quando comparados com os das raças dolicocefálicas.

Os animais com a vacinação polivalente atualizada e vermifugação atrasada apresentaram os maiores percentuais de positividade para as doenças estudadas, porém sem nenhuma significância estatística ($p>0,05$). No caso da vacinação, este fato poder ter ocorrido, devido às práticas de alguns tutores de comprar vacinas em balcão de casas agropecuárias e sem a devida fiscalização veterinária. Infelizmente no Brasil e em países em desenvolvimento ainda há uma carência na adoção de medidas profiláticas por parte dos tutores dos animais no que se refere às doenças infecciosas e parasitárias. Segundo pesquisa no Rio Grande do Sul com 4.844 cães de necropsia, mais de um terço (35,0%) dos animais, morreram em decorrência de doenças infecciosas e/ou parasitárias (FIGHERA et al., 2008).

Bentubo et al. (2007) evidenciaram que as doenças infecciosas foram a primeira causa de morte em cães em São Paulo. Acredita-se que este fato esteja relacionado à baixa adesão aos programas de vacinação e everminação, já que ainda hoje no Brasil apenas uma pequena parcela de proprietários adere a esquemas de vacinação e everminação completos para seus cães (FIGHERA et al., 2008), ao contrário do que ocorre nos Estados Unidos e na Europa, onde a maior parte dos cães é vacinada e revacinada anualmente (GREENE e SCHULTZ, 2006).

A área de moradia urbana teve um número maior de cães positivos para os três diagnósticos, com 28,3% para erliquiose, 8,7% babesiose e 34,8% cinomose e os cães criados dentro de casa também tiveram os percentuais de positividade mais elevados, com 30,8% para *E. canis*, 9,6% *B. canis* e 40,4% para o CDV. Nesta variável não houve diferenças estatísticas significativas ($p>0,05$). No caso das doenças transmitidas por vetores, os cães criados dentro de casa se infectam ao terem contato com o carrapato, o *Rhipicephalus sanguineus*, que pode viver nos domicílios onde os cães habitam (NEER e HARRUS, 2006) e encontra-se

principalmente nas áreas urbanas, onde a EMC é endêmica (MOREIRA et al., 2003; BULLA et al., 2004; MACIEIRA et al., 2005).

A maioria dos animais que viviam no quintal exclusivamente com areia teve os maiores percentuais de infecção para o CDV (50%), seguidos da *E.canis* (31,3%) e da *B. canis vogeli* (12,5%). A refeição mista foi o tipo de alimentação mais consumida pelos cães com pelo menos uma das três infecções. O tipo de criação semi-domiciliado, foi observada uma maior frequência nos cães com o CDV (33,3%), em contrapartida, os domiciliados tiveram maior número de representantes para os diagnósticos de erliquiose e babesiose, respectivamente com 25,7% e 7,1%, porém sem significância estatística ($p>0,05$) para estas variáveis.

Pesquisa com *E. canis* em área rural do Brasil, por teste de diagnóstico indireto em Monte Negro em Rondônia, observou prevalência de 24,8% de cães infectados (AGUIAR et al., 2007). Ueno et al. (2009) detectaram em cães com erliquiose, que 52 (74,3%) de área urbana e 30 (42,9%) tinham acesso à rua. Sousa et al. (2010) constataram que dos cães positivos para erliquiose, 43 animais eram provenientes de domicílios na zona urbana, dois residiam em apartamento, dois viviam na zona rural e um frequentava esporadicamente a zona rural. Silva et al. (2010) em Cuiabá, no Mato Grosso, não observaram diferenças estatísticas em relação ao acesso à rua, ou a área de moradia rural ou urbana nos cães com erliquiose

Em relação ao ambiente urbano e rural para os cães com babesiose, verificou-se nesta pesquisa que não houve diferenças estatísticas significativas ($p>0,05$). A caracterização no Brasil da *Babesia cani vogeli* na área urbana foi realizada por Passos et al. (2005). Ribeiro et al. (1990) detectaram em 66,9% dos cães anticorpos anti-*Babesia canis* em cães de área urbana e O'Dwyer et al. (2001) verificaram 5,2% de infecção pela *Babesia* spp em cães, pelo exame parasitológico sanguíneo na área rural.

Pouco se sabe sobre os fatores de risco da babesiose no Brasil (DANTAS-TORRES e FIGUEREDO, 2006a). Silva et al. (2012) verificaram que 31,67% dos cães infestados por carrapatos, 14% eram da área urbana e 17,67% da área rural e o *R. sanguineus* foi a única espécie de carrapato identificada em ambas as áreas, e não observaram relação entre a presença da *Babesia canis vogeli* com a área de procedência dos animais.

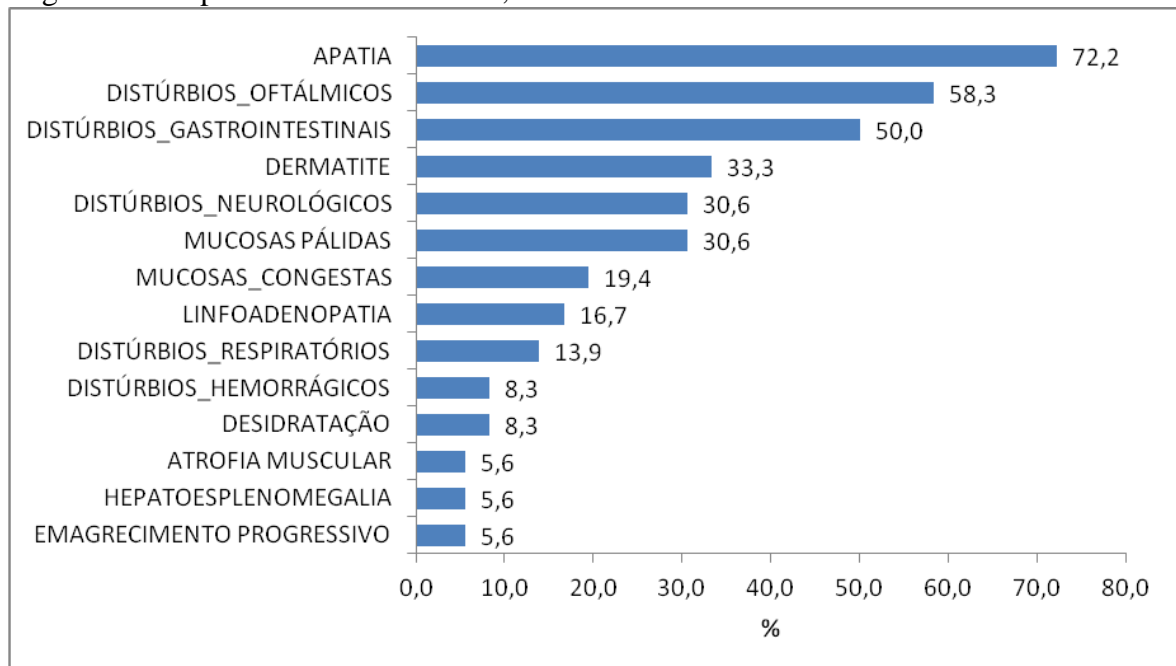
No caso da cinomose, a maior parte dos animais positivos era procedente da área urbana e não foram observadas diferenças estatísticas em relação ao ambiente rural ($p>0,05$). Esta doença apresenta alta prevalência nos hospitais veterinários, mas este fato não reflete a ocorrência real dos ambientes urbanos (HEADLEY e GRAÇA, 2000). No entanto, a importância do CDV em populações urbanas e rurais não pode ser ressaltada (HEADLEY et

al., 2012). Em relação ao acesso à rua, houve diferenças estatísticas significativas na cinomose pela RT-PCR ($p=0,041$) e a chance de ter a presença do CDV é de 2,11 vezes para os cães que tem acesso. O que demonstra que esta variável é relevante no caso das infecções pelo CDV e medidas de controle devem ser adotadas, a fim de diminuir este fator de risco.

Na erliquiose e babesiose não se observou resultado estatisticamente significativo ($p>0,05$) para o acesso à rua, o que demonstra, nos casos das hemoparasitoses, que independente dos animais terem acesso à rua ou não, eles podem se infectar no ambiente domiciliar, devido à presença do carrapato vetor. No caso da cinomose, os cães com acesso à rua ficam em contato próximo com os reservatórios, com o ambiente contaminado e Hass et al. (2008) avaliaram cães em Pelotas no Rio Grande do Sul e detectaram maiores níveis de anticorpos para o CDV nos cães que tiveram acesso à rua.

Na Figura 11 encontram-se as principais alterações clínicas dos cães com erliquiose, destacando-se apatia em 72,2%, distúrbios oftálmicos (58,3%), gastrointestinais (50%), dermatites (50%) (Figura 12), distúrbios neurológicos (30,6%), mucosas pálidas (30,6%), distúrbios hemorrágicos (8,3%) (Figura 13) e com menor percentual atrofia muscular, hepatoesplenomegalia e emagrecimento progressivo (5,6%).

Figura 11: Principais alterações clínicas dos cães portadores de *Ehrlichia canis* diagnosticados pela PCR convencional, atendidos no HV-UFRPE.



Fonte: Silva (2013).

Figura 12: Cão, macho, 45 dias de vida, SRD, PCR positivo para *Ehrlichia canis*, apresentando dermatite seborréica, pústulas no abdome ventral e rarefação pilosa generalizada.



Fonte: Silva (2013).

Figura 13: Cão, macho, 1 ano, SRD, PCR positivo para *Ehrlichia canis*, apresentando sangramento na gengiva.



Fonte: Silva (2013).

Na Tabela 3 encontram-se as alterações clínicas dos cães positivos para *Ehrlichia canis* e verificou-se que hiporexia, alopecia periocular, linfadenopatia e tosse improdutiva foram estatisticamente significativos ($p < 0,05$). As demais alterações foram hematoquezia (38,5%), mucosas pálidas (36,7%), apatia (28,3%), conjuntivite (25%), epistaxe (20%), alopecia periocular (66,7%), linfadenopatia (66,7%), ataxia (24,1%), convulsão (11,1%), glaucoma (50%), blefarite (33,3%), poliartrite (50%), tosse produtiva (40%) e melena (7,1%).

Tabela 3-Alterações clínicas apresentadas pelos cães positivos para *Ehrlichia canis* diagnosticados pela PCR convencional, atendidos no HV-UFRPE

VARIÁVEIS		<i>Ehrlichia canis</i>			Valor de p
		Positivo	%	N	
HEMATOQUEZIA	Sim	5	38,5	13	0,383
	Não	31	23,3	133	
HIPERQUERATOSE	Sim	9	32,1	28	0,436
	Não	27	22,9	118	
HIPOREXIA	Sim	13	46,4	28	0,006*
	Não	23	19,5	118	
MUCOSAS PÁLIDAS	Sim	11	36,7	30	0,140
	Não	25	21,6	116	
APATIA	Sim	26	28,3	92	0,263
	Não	10	18,5	54	
CONJUNTIVITE	Sim	5	25,0	20	1,000
	Não	31	24,6	126	
EPISTAXE	Sim	1	20,0	5	1,000
	Não	35	24,8	141	
HEMATÚRIA	Sim	0	0,0	3	0,746
	Não	36	25,2	143	
ALOPECIA PERIOULAR	Sim	4	66,7	6	0,033*
	Não	32	22,9	140	
LINFOADENOPATIA	Sim	6	66,7	9	0,009*
	Não	30	21,9	137	
MUCOSAS CONGESTAS	Sim	7	33,3	21	0,469
	Não	29	23,2	125	
ATAXIA	Sim	7	24,1	29	1,000
	Não	29	24,8	117	
CONVULSÃO	Sim	1	11,1	9	0,566
	Não	35	25,5	137	
GLAUCOMA	Sim	2	50,0	4	0,546
	Não	34	23,9	142	
HIFEMA	Sim	0	0,0	1	1,000
	Não	36	24,8	145	
BLEFARITE	Sim	4	33,3	12	0,705
	Não	32	23,9	134	
MELENA	Sim	1	7,1	14	0,203
	Não	35	26,5	132	
DERMATITE	Sim	12	24,5	49	1,000
	Não	24	24,7	97	
ICTERÍCIA	Sim	1	20,0	5	1,000
	Não	35	24,8	141	
PARALISIA DOS MPS	Sim	1	50,0	2	0,991
	Não	35	24,3	144	
PARESIA MPS	Sim	1	9,1	11	0,378
	Não	35	25,9	135	
PULGAS	Sim	6	20,0	30	0,670
	Não	30	25,9	116	
SECREÇÃO OCULAR	Sim	15	30,6	49	0,326
	Não	21	21,6	97	
TOSSE IMPRODUTIVA	Sim	0	0,0	15	0,043*
	Não	36	27,5	131	
TOSSE PRODUTIVA	Sim	2	40,0	5	0,778
	Não	34	24,1	141	

POLIARTRITE	Sim	1	50,0	2	0,991
	Não	35	24,3	144	
SECREÇÃO NASAL	Sim	2	12,5	16	0,374
	Não	34	26,2	130	
SUFUSÕES	Sim	1	50,0	2	0,991
	Não	35	24,3	144	
PETÉQUIAS	Sim	2	40,0	5	0,778
	Não	34	24,1	141	
UVEÍTE	Sim	4	80,0	5	0,017
	Não	32	22,7	141	
ATROFIA MUSCULAR	Sim	2	40,0	5	0,778
	Não	34	24,1	141	
EDEMA PERIFÉRICO	Sim	3	42,9	7	0,487
	Não	33	23,7	139	
VÔMITO	Sim	4	13,3	30	0,169
	Não	32	27,6	116	
TETRAPARESIA	Sim	4	40,0	10	0,432
	Não	32	23,5	136	
DESIDRATAÇÃO	Sim	3	13,0	23	0,252
	Não	33	26,8	123	
FEBRE	Sim	6	54,5	11	0,043
	Não	30	22,2	135	

Valor de p através do teste Qui-quadrado de Pearson com correção de continuidade

* Significativo ($p < 0,05$).

Fonte: Silva (2013).

No que se refere aos sinais clínicos dos cães com erliquiose, apatia ocorreu com maior percentual. As demais alterações estão condizentes com a literatura (MOREIRA et al., 2003; ORIÁ et al., 2004; NAKAGHI et al., 2008; SOUSA et al., 2010). No entanto, Borin et al. (2009) verificaram em menor proporção, lesão ocular (8,4%), linfadenomegalia (6,9%), claudicação (6,4%), ascite (3%) e petéquias. Ueno et al. (2009) verificaram que 59 (84,2%) cães apresentaram hiporexia ou anorexia; apatia ou prostração em 49 (70,0%); diarreia em 29 (41,4%); vômito em 26 (37,1%); linfadenopatia em 59 (84,2%); esplenomegalia em 26 (37,1%); sinais neurológicos em 17 (24,2%) e hemorragias em 45 (64,2%).

Entretanto, Sousa et al. (2010) constataram que palidez de mucosas foi o único sinal clínico significativo para os cães com infecção pela *Ehrlichia canis*. Foram verificados quadros hemorrágicos em apenas 8,3% dos animais nesta pesquisa, diferentemente de Almosny e Massard (2002) que não observaram esta alteração clínica no Estado do Rio de Janeiro, possivelmente em decorrência da adaptação parasito-hospedeiro ou da cepa infectante.

Os distúrbios gastrointestinais, as dermatites, os distúrbios neurológicos, palidez de mucosas e linfadenopatia observadas nesta pesquisa também são verificadas em outras doenças, o que reforça a importância da associação dos achados clínico-epidemiológicos e laboratoriais, com o objetivo de incrementar o diagnóstico desta afecção (UENO et al., 2009). Alguns cães também apresentaram distúrbios oftálmicos e tendências à hemorragia, além de

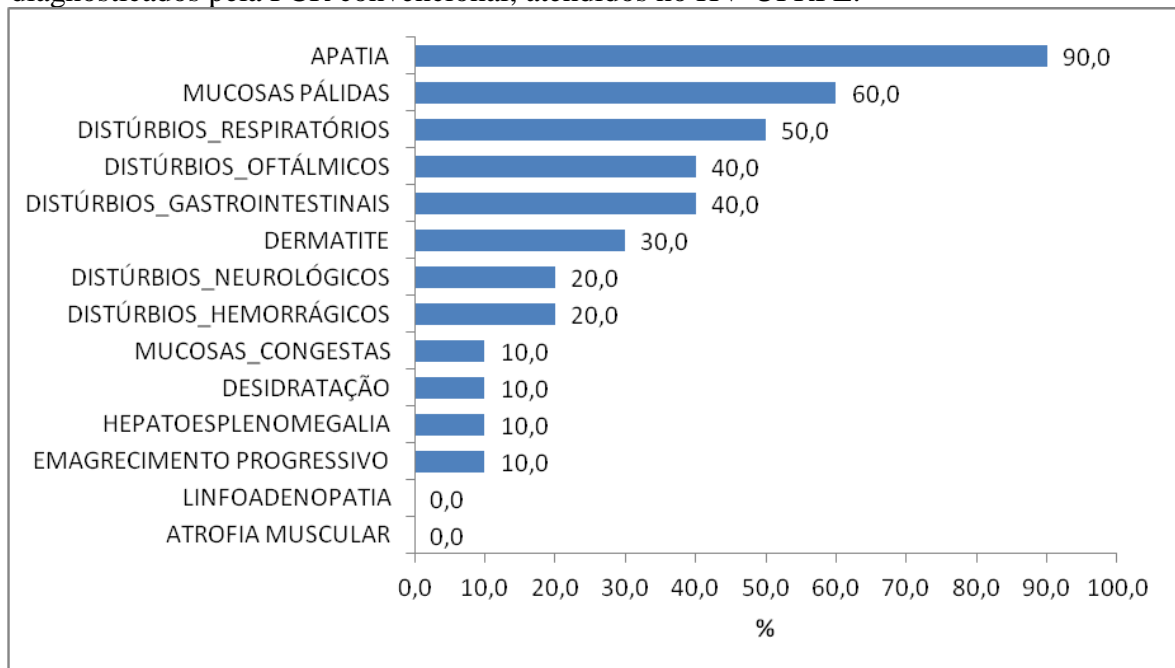
esplenomegalia, concordando com Harrus et al. (1997) e Matthewman et al. (1993) em estudos de erliquiose canina diagnosticada por meio do teste de imunofluorescência indireta.

Silva et al. (2010) verificaram diversas alterações clínicas em 31 dos cães sororreagentes em Cuiabá no Mato Grosso, incluindo linfadenopatia (2), emagrecimento (2), petéquias (2), apatia (1), hepatomegalia (1), esplenomegalia (1), além dos sinais oftálmicos (9), neurológicos (1) e dermatológicos (20), sendo estas alterações similares às encontradas nesta pesquisa.

Sinais menos frequentes na erliquiose, incluem vômito, dispnéia, corrimento oculonasal seroso a purulento (SHAW e DAY, 2005), diarreia, tosse (CFSPH, 2005), hepatomegalia e perda de pêlos (CASTRO et al., 2004) e estas variações de sinais clínicos possivelmente estão relacionadas as espécies e cepas da *Ehrlichia* spp., estado imunológico do animal, idade, presença de co-infecções com outros agentes patogênicos e a resposta do organismo frente à infecção.

Nas infecções pela *Babesia canis vogeli*, as alterações clínicas dos cães positivos estão na Figura 14 e destacou-se apatia (90%), mucosas pálidas (60%), distúrbios respiratórios (50%), distúrbios oftálmicos (40%), distúrbios gastrointestinais (40%), dermatites (30%), distúrbios neurológicos (20%), distúrbios hemorrágicos (20%) (Figura 15) e, em menor proporção, hepatoesplenomegalia e emagrecimento progressivo com 10%.

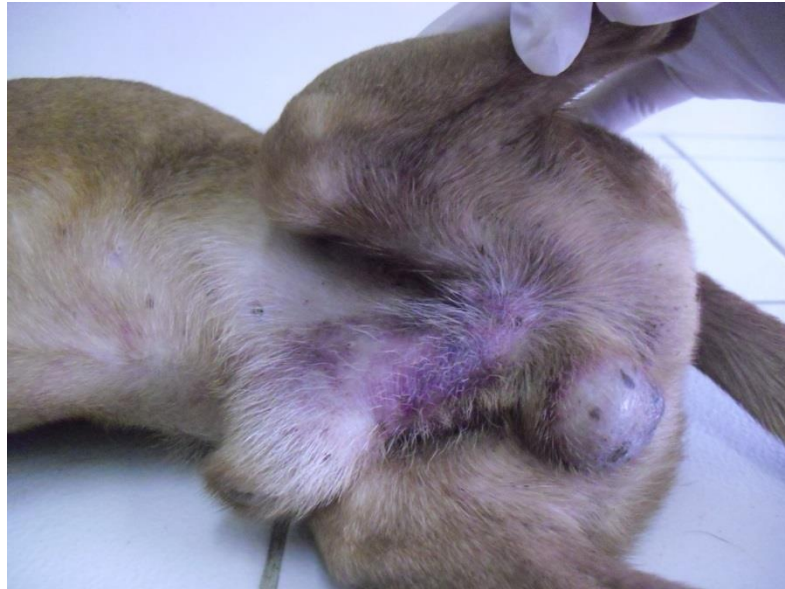
Figura 14: Principais alterações clínicas dos cães portadores de *Babesia canis vogeli* diagnosticados pela PCR convencional, atendidos no HV-UFRPE.



Fonte: Silva (2013).

A *B. canis vogeli* geralmente provoca uma doença subclínica leve ou moderada (UILENBERG et al., 1989; CARRET et al., 1999) que muitas vezes acompanha outras doenças ou afeta cães esplenectomizados. Porém, nesta pesquisa todos os animais positivos para babesiose apresentaram alterações clínicas, sem, no entanto, terem histórico de qualquer condição imunossupressiva. Grave anemia hemolítica pode ser observada em cães jovens e filhotes (SOLANO-GALLEGO et al., 2008). Galgos adultos nos EUA sororeativos para *B. vogeli* são, comumente, clinicamente saudáveis (TABOADA et al., 1992; TABOADA e LOBETTI, 2006).

Figura 15: Cão, macho, 3 anos, Pinscher, PCR positivo para *Babesia canis vogeli*, apresentando hematoma na região prepucial.



Fonte: Silva (2013).

Na Tabela 4 encontram-se as alterações clínicas apresentadas pelos cães positivos para *Babesia canis vogeli* e palidez de mucosa foi o único sinal clínico que apresentou resultado estatisticamente significativo ($p < 0,05$). As demais alterações foram hiporexia (10,7%), apatia (9,8%), conjuntivite (50%), epistaxe (20%), alopecia periocular (16,25%), ataxia (6,9%), blefarite (16,7%), melena (7,1%), dermatite (6,1%), tosse improdutiva (13,3%), tosse produtiva (20%), sufusões (50%), uveíte (20%) e edema periférico (14,3%).

Tabela 4-Alterações clínicas apresentadas pelos cães positivos para *Babesia canis vogeli* diagnosticados pela PCR convencional, atendidos no HV-UFRPE

VARIÁVEIS		<i>Babesia canis</i>			Valor de p
		Positivo	%	N	
HEMATOQUEZIA	Sim	0	0,0	13	0,653
	Não	10	7,5	133	
HIPERQUERATOSE	Sim	1	3,6	28	0,728
	Não	9	7,6	118	
HIPOREXIA	Sim	3	10,7	28	0,628
	Não	7	5,9	118	
MUCOSAS PÁLIDAS	Sim	6	20,0	30	0,005*
	Não	4	3,4	116	
APATIA	Sim	9	9,8	92	0,136
	Não	1	1,9	54	
CONJUNTIVITE	Sim	1	5,0	20	1,000
	Não	9	7,1	126	
EPISTAXE	Sim	1	20,0	5	0,777
	Não	9	6,4	141	
HEMATÚRIA	Sim	0	0,0	3	1,000
	Não	10	7,0	143	
ALOPECIA PERIOcular	Sim	1	16,7	6	0,883
	Não	9	6,4	140	
LINFOADENOPATIA	Sim	0	0,0	9	0,874
	Não	10	7,3	137	
MUCOSAS CONGESTAS	Sim	1	4,8	21	1,000
	Não	9	7,2	125	
ATAXIA	Sim	2	6,9	29	1,000
	Não	8	6,8	117	
CONVULSÃO	Sim	0	0,0	9	0,874
	Não	10	7,3	137	
GLAUCOMA	Sim	0	0,0	4	1,000
	Não	10	7,0	142	
HIFEMA	Sim	0	0,0	1	1,000
	Não	10	6,9	145	
BLEFARITE	Sim	2	16,7	12	0,419
	Não	8	6,0	134	
MELENA	Sim	1	7,1	14	1,000
	Não	9	6,8	132	
DERMATITE	Sim	3	6,1	49	1,000
	Não	7	7,2	97	
ICTERÍCIA	Sim	0	0,0	5	1,000
	Não	10	7,1	141	
PARALISIA DOS MPS	Sim	0	0,0	2	1,000
	Não	10	6,9	144	
PARESIA MPS	Sim	0	0,0	11	0,753
	Não	10	7,4	135	
PULGAS	Sim	2	6,7	30	1,000
	Não	8	6,9	116	
SECREÇÃO OCULAR	Sim	3	6,1	49	1,000
	Não	7	7,2	97	
TOSSE IMPRODUTIVA	Sim	2	13,3	15	0,610
	Não	8	6,1	131	
TOSSE PRODUTIVA	Sim	1	20,0	5	0,777
	Não	9	6,4	141	
POLIARTRITE	Sim	0	0,0	2	1,000
	Não	10	6,9	144	
SECREÇÃO NASAL	Sim	3	18,8	16	0,141
	Não	7	5,4	130	
SUFUSÕES	Sim	1	50,0	2	0,306
	Não	9	6,3	144	
PETÉQUIAS	Sim	1	20,0	5	0,777
	Não	9	6,4	141	
UVEÍTE	Sim	1	20,0	5	0,777
	Não	9	6,4	141	
ATROFIA MUSCULAR	Sim	0	0,0	5	1,000
	Não	10	7,1	141	
EDEMA PERIFÉRICO	Sim	1	14,3	7	0,975
	Não	9	6,5	139	
VÔMITO	Sim	0	0,0	30	0,207
	Não	10	8,6	116	

TETRAPARESIA	Sim	0	0,0	10	0,810
	Não	10	7,4	136	
DESIDRATAÇÃO	Sim	1	4,3	23	0,946
	Não	9	7,3	123	
FEBRE	Sim	2	18,2	11	0,354
	Não	8	5,9	135	

Valor de p através do teste Qui-quadrado de Pearson com correção de continuidade.

* Significativo ($p < 0,05$).

Fonte: Silva (2013).

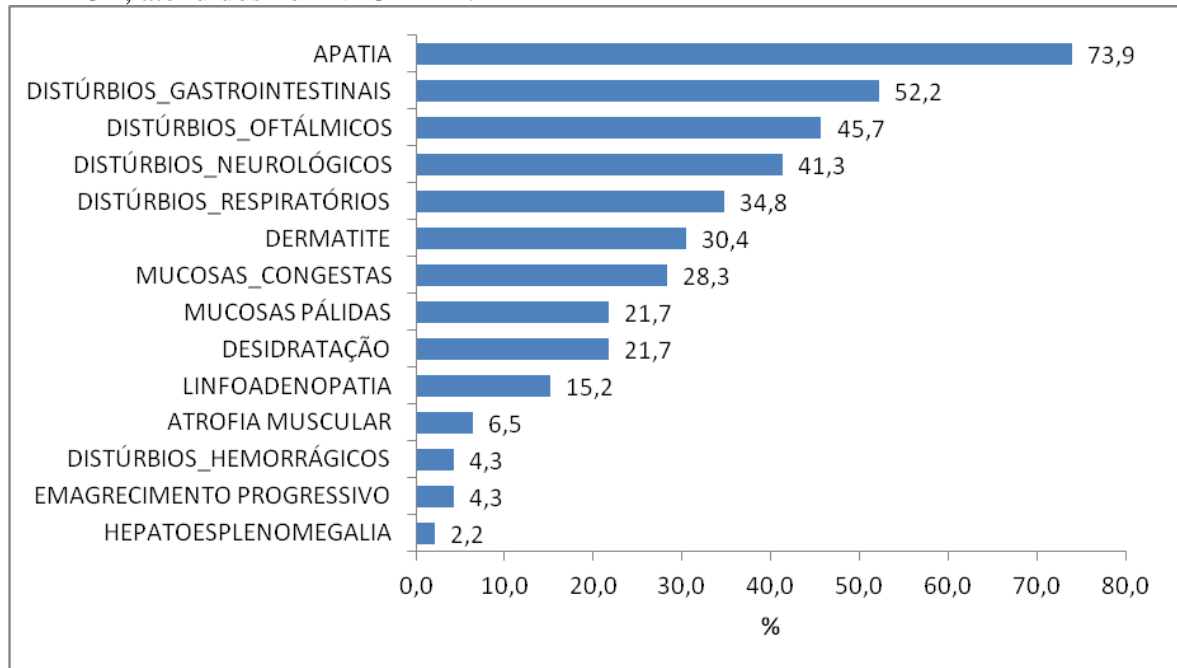
Mucosas pálidas, distúrbios respiratórios, distúrbios gastrointestinais, distúrbios neurológicos, e distúrbios hemorrágicos verificados nesta pesquisa, a maior parte deles é relatado na literatura (TABOADA, 1995; GUIMARÃES et al., 2002; BASTOS et al., 2004; IRWIN, 2010), com exceção de dermatite, que não é citada como sinal clínico comum nesta afecção, e os problemas oftálmicos, que são considerados como alterações clínicas atípicas (TABOADA, 1995). As alterações patológicas que a *Babesia* spp. causa nos hospedeiros variam consideravelmente com as diferentes espécies e sub-espécies envolvidas, e também com o estado imunológico do indivíduo, idade, doenças infecciosas concomitantes e a resposta à infecção (IRWIN, 2009).

Na infecção pela *Babesia canis vogeli*, os animais subclínicos, podem apresentar alterações clínicas nos casos de esplenectomia, imunossupressão, devido ao uso de corticosteróides, quimioterapia ou doenças graves concomitantes (TABOADA e LOBETTI, 2006; SOLANO-GALLEGO et al., 2008). Não se sabe se alguns indivíduos são mais suscetíveis à *Babesia* spp. ou se a parasitemia é resultante de uma recrudescência da infecção crônica.

Além do risco de doença para os cães pela infecção assintomática da *Babesia* spp. a persistência crônica da parasitemia facilita a transmissão de parasitas no ambiente, uma vez que constitui fonte de infecção em longo prazo para os carrapatos (WELC-FALECIAK et al., 2007). Assim, existe uma necessidade de identificação e melhor tratamento de infecções por *Babesia* spp. em animais assintomáticos com a utilização de exames diagnósticos apropriados, associados aos achados clínicos e epidemiológicos.

Nos animais com cinomose, as alterações clínicas mais frequentes estão representadas na Figura 16 e destacou-se apatia (73,9%), distúrbios gastrointestinais (52,2%), distúrbios oftálmicos (45,7%) (Figura 17), distúrbios neurológicos (41,3%), distúrbios respiratórios (34,8%), dermatites (30,4%), mucosas congestionadas (28,3%) e, em menor proporção, desidratação (21,7%), linfadenopatia (21,7%), atrofia muscular (6,5%) e emagrecimento progressivo (4,3%).

Figura 16: Principais alterações clínicas dos cães portadores do CDV diagnosticados pela RT-PCR, atendidos no HV-UFRPE.



Fonte: Silva (2013).

Figura 17: Canina, fêmea, 8 anos, SRD, RT-PCR positiva para o CDV, apresentando opacidade e úlcera de córnea (seta branca) em decorrência de ceratoconjuntivite seca.



Fonte: Silva (2013).

Na Tabela 5 encontram-se as alterações clínicas apresentadas pelos cães positivos para o CDV e destacaram-se linfadenopatia, mucosas congestas, ataxia e secreção nasal com resultados estatisticamente significativos ($p < 0,05$). As demais alterações foram hematoquezia (46,2%), hiperqueratose (32,1%), hiporexia (42,9%), mucosa pálidas (33,3%), apatia (37%),

conjuntivite (45%), alopecia periocular (66,7%), convulsão (44,4%), blefarite (41,2%), melena (50%), dermatite (28,6%), paresia dos membros posteriores (40%), atrofia muscular (60%), vômito (36,7%), tetraparesia (30%) e mioclonia (50%).

Tabela 5-Alterações clínicas apresentadas pelos cães positivos para o CDV diagnosticados pela RT-PCR convencional, atendidos no HV-UFRPE

VARIÁVEIS		CDV			Valor de p
		Positivo	%	N	
HEMATOQUEZIA	Sim	6	46,2	13	0,380
	Não	40	30,1	133	
HIPERQUERATOSE	Sim	9	32,1	28	1,000
	Não	37	31,4	118	
HIPOREXIA	Sim	12	42,9	28	0,226
	Não	34	28,8	118	
MUCOSAS PÁLIDAS	Sim	10	33,3	30	0,983
	Não	36	31,0	116	
APATIA	Sim	34	37,0	92	0,096
	Não	12	22,2	54	
CONJUNTIVITE	Sim	9	45,0	20	0,255
	Não	37	29,4	126	
EPISTAXE	Sim	0	0,0	5	0,292
	Não	46	32,6	141	
HEMATÚRIA	Sim	1	33,3	3	1,000
	Não	45	31,5	143	
ALOPECIA PERIOULAR	Sim	4	66,7	6	0,149
	Não	42	30,0	140	
LINFOADENOPATIA	Sim	7	77,8	9	0,007*
	Não	39	28,5	137	
MUCOSAS CONGESTAS	Sim	13	61,9	21	0,003*
	Não	33	26,4	125	
ATAXIA	Sim	14	48,3	29	0,030*
	Não	32	27,4	117	
CONVULSÃO	Sim	4	44,4	9	0,623
	Não	42	30,7	137	
GLAUCOMA	Sim	1	25,0	4	1,000
	Não	45	31,7	142	
HIFEMA	Sim	0	0,0	1	1,000
	Não	46	31,7	145	
BLEFARITE	Sim	5	41,7	12	0,641
	Não	41	30,6	134	
MELENA	Sim	7	50,0	14	0,206
	Não	39	29,5	132	
DERMATITE	Sim	14	28,6	49	0,723
	Não	32	33,0	97	
ICTERÍCIA	Sim	2	40,0	5	1,000
	Não	44	31,2	141	
PARALISIA DOS MPS	Sim	0	0,0	2	0,842
	Não	46	31,9	144	
PARESIA MPS	Sim	4	36,4	11	0,982
	Não	42	31,1	135	
PULGAS	Sim	10	33,3	30	0,983
	Não	36	31,0	116	
SECREÇÃO OCULAR	Sim	17	34,7	49	0,689
	Não	29	29,9	97	
TOSSE IMPRODUTIVA	Sim	5	33,3	15	1,000
	Não	41	31,3	131	
TOSSE PRODUTIVA	Sim	2	40,0	5	1,000
	Não	44	31,2	141	
POLIARTRITE	Sim	1	50,0	2	1,000
	Não	45	31,3	144	
SECREÇÃO NASAL	Sim	9	56,3	16	0,049*
	Não	37	28,5	130	
SUFUSÕES	Sim	0	0,0	2	0,842
	Não	46	31,9	144	
PETÉQUIAS	Sim	2	40,0	5	1,000
	Não	44	31,2	141	
UVEÍTE	Sim	2	40,0	5	1,000

	Não	44	31,2	141	
ATROFIA MUSCULAR	Sim	3	60,0	5	0,365
	Não	43	30,5	141	
EDEMA PERIFÉRICO	Sim	2	28,6	7	1,000
	Não	44	31,7	139	
VÔMITO	Sim	11	36,7	30	0,644
	Não	35	30,2	116	
TETRAPARESIA	Sim	3	30,0	10	1,000
	Não	43	31,6	136	
DESIDRATAÇÃO	Sim	10	43,5	23	0,270
	Não	36	29,3	123	
FEBRE	Sim	6	54,5	11	0,170
	Não	40	29,6	135	
MIOCLONIA	Sim	3	50,0	6	0,584
	Não	43	30,7	140	

Valor de p através do teste Qui-quadrado de Pearson com correção de continuidade.

* Significativo ($p < 0,05$).

Fonte: Silva (2013).

A manifestação clínica da cinomose varia dependendo da virulência da cepa, da idade e do perfil imunológico do cão (FENNER, 2004; AMUDE et al., 2006; GREENE e APPEL, 2006). Mais de 50% das infecções pelo CDV são subclínicas ou com sinais clínicos moderados, como apatia, diminuição do apetite, febre, desidratação, secreção oculonasal serosa a mucopurulenta, tosse, estertor pulmonar, vômito e diarreia que podem ser as primeiras alterações observadas nos cães infectados (APPEL e SUMMERS, 1999; GREENE e APPEL, 2006). Apesar de nenhum sinal clínico ser patognomônico na cinomose, a ocorrência simultânea de um grupo deles facilita o diagnóstico da doença (APPEL e CARMICHAEL, 1979).

Tudury et al. (1997) pesquisando cães com cinomose detectaram diminuição da secreção lacrimal, conjuntivite mucopurulenta, sinais de lesão retinal e hiperqueratose nasodigital em mais da metade dos animais. Em relação aos sinais neurológicos, perda de reações posturais, mioclonias e a ocorrência de paresias foram os sinais clínicos mais prevalentes, sendo estes resultados similares aos encontrados nesta pesquisa, principalmente as alterações neurológicas.

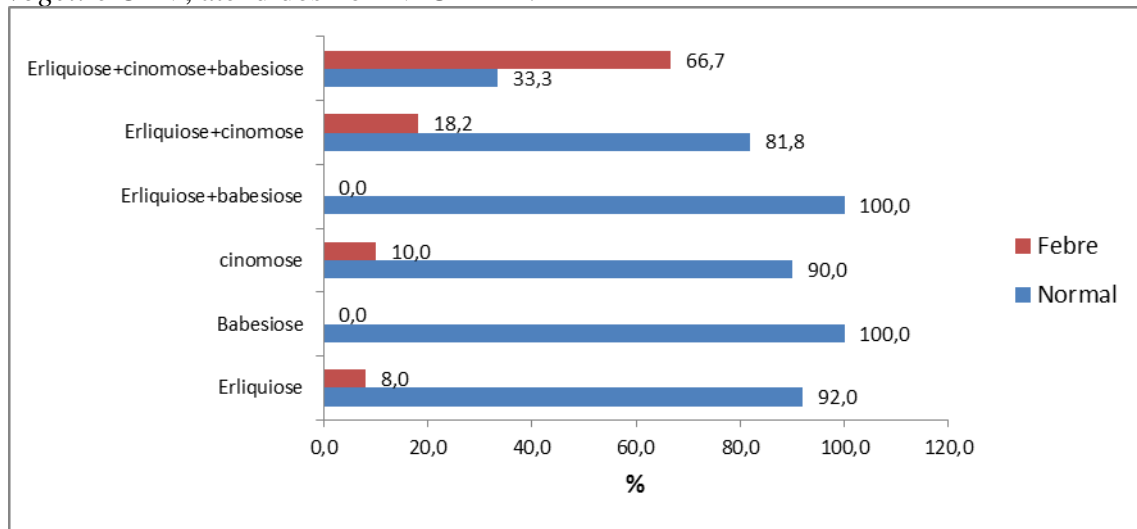
A palidez de mucosas e os distúrbios hemorrágicos encontrados em alguns dos cães infectados pelo CDV, não são sinais clínicos típicos desta infecção (GREENE e APPEL, 2006) e eles podem ter ocorrido devido à co-infecções pela *Ehrlichia canis* ou por outras hemoparasitoses ou até mesmo por causa de outra afecção. Infecção de cães com o CDV tem sido considerada um fator imunossupressor importante ligado à infecção por agentes oportunistas (TIPOLD, 1992). As infecções bacterianas secundárias decorrentes dos efeitos imunossupressores do vírus da cinomose, em geral são responsáveis pelos sinais clínicos associados com a forma aguda (HOSKINS, 2004).

O diagnóstico clínico da cinomose canina, mesmo quando amparado por exames complementares, é um desafio para o clínico. Em algumas situações, como aquelas onde é observada a associação de sinais clínicos sistêmicos e neurológicos, e também na presença de mioclonia, a probabilidade da realização de diagnóstico clínico conclusivo aumenta consideravelmente (GEBARA et al., 2004). Ressalta-se que quando os animais apresentarem apenas sinais clínicos inespecíficos e/ou alterações neurológicas deve-se realizar exames laboratoriais específicos para determinar o diagnóstico, pois inúmeras doenças podem provocar estas alterações.

Na Figura 18 encontra-se a frequência de febre nas infecções pela *Ehrlichia canis*, *Babesia canis vogeli* e CDV e das co-infecções com estes agentes patogênicos. Observou-se febre em 8,0% dos cães com *Ehrlichia canis*, 10% nos cães infectados pelo CDV, 66,7% na co-infecção pelos três agentes infecciosos, 18,2% na co-infecção pela *E. canis* com o CDV e em nenhum animal infectado pela *Babesia canis vogeli* ou na infecção simultânea pela *E.canis* com a *Babesia canis vogeli*.

A febre não foi uma alteração clínica expressiva nos animais positivos para os agentes estudados nesta pesquisa. A maior parte dos cães positivos estava em diferentes fases de infecção, pois a febre é uma reação sistêmica que ocorre na fase aguda das doenças infecciosas, em decorrência da liberação de pirógenos endógenos e substâncias antigênicas pelos agentes infecciosos, ou devido à possibilidade de liberação aumentada da interleucina-1 (IL-1), produzida pelas células apresentadoras de antígenos e linfócitos B (CASTRO, 1997). Para Harrus et al. (2001a) o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e a interleucina-6 (IL-6) também poderia estar envolvida com a indução da febre.

Figura 18: Frequência de febre nos cães infectados e co-infectados por *E. canis*, *B. canis vogeli* e CDV, atendidos no HV-UFRPE.



Fonte: Silva (2013).

As principais alterações clínicas observadas na co-infecção pela *E.canis* com a *Babesia canis vogeli* foram apatia, mucosas pálidas, distúrbios neurológicos e respiratórios. Apesar da literatura citar que é comum a co-infecção da *E. canis* com a *Babesia canis vogeli* (BOOZER e MACINTIRE, 2003; COHN, 2003), apenas um animal neste estudo apresentou a co-infecção por estes agentes. No caso de infecção simultânea por estes dois agentes, existe aumento da probabilidade de ocorrência de hemorragias (TENÓRIO et al., 2007), no entanto, esta condição não foi observada.

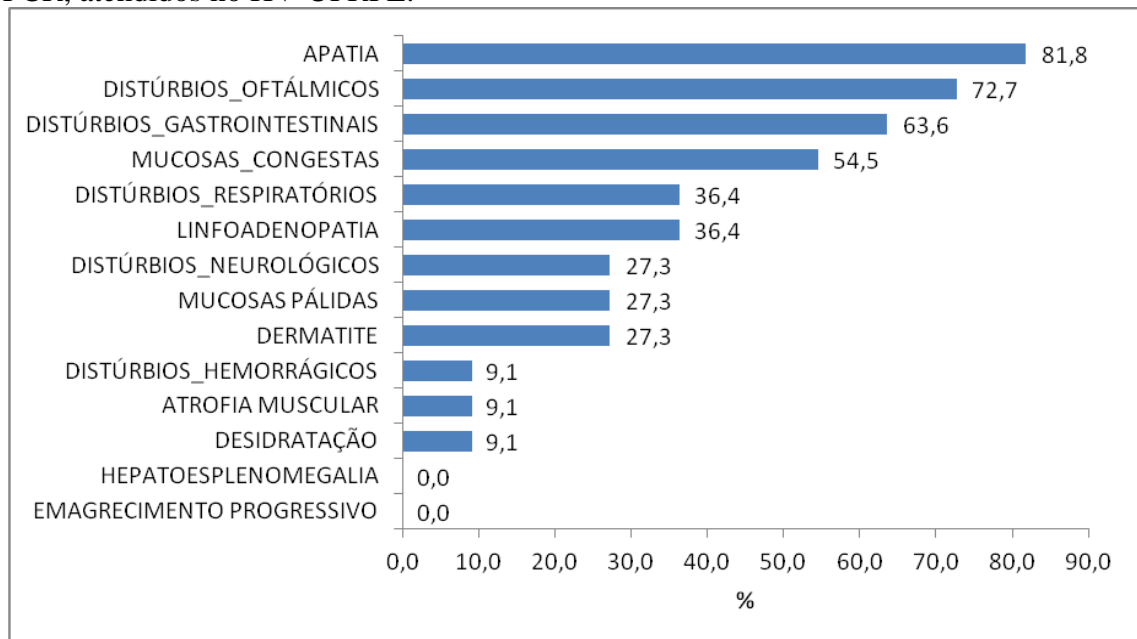
Casos de co-infecções por *E. canis* e *B. canis* são frequentemente encontrados devido ao vetor, o *Rhipicephalus sanguineus* ser comum entre os cães brasileiros (DAGNONE et al., 2003; DAGNONE, 2006; NAKAGHI et al., 2008; OLIVEIRA et al., 2008). Quando a babesiose é confirmada, o veterinário deve considerar a possibilidade de infecções concomitantes com outros patógenos transmitidos por vetores, incluindo *Ehrlichia* spp., *Anaplasma* spp., *Bartonella* spp., *Rickettsia* spp. e *Leishmania* spp. (KORDICK et al., 1999; YABSLEY et al., 2008) e deve-se utilizar os testes de diagnóstico apropriados (IRWIN, 2010).

Trapp et al. (2006) avaliaram cães, em uma população hospitalar em Londrina no Paraná, pela RIFI e verificaram soroprevalência de 36% de anticorpos anti-*Babesia canis vogeli*, 23% para anti-*Ehrlichia canis* e 14% dos cães foram sororeagentes para ambos os agentes. Nas infecções pela *Ehrlichia canis* os sinais neurológicos podem ser as únicas alterações observadas em cães com erliquiose em algumas populações hospitalares. Num estudo retrospectivo nos Estados Unidos, 5 de 62 cães com erliquiose apresentaram sinais

neuroológicos (FRANK e BREITSCHWERDT, 1999). Sinais neurológicos também podem ocorrer em cães com babesiose. Isto indica que cães co-infectados pela *E. canis* e *Babesia canis* apresentam maior fator de risco de apresentar alterações neurológicas (TRAPP et al., 2006), sendo condizente com a observação na co-infecção pela *E. canis* com a *Babesia canis vogeli* nesta pesquisa.

Na Figura 19 verificam-se as principais alterações orgânicas dos 11 cães co-infectados por *E. canis* com CDV. Apatia representou 81,8%, distúrbios oftálmicos (72,7%) (Figura 20), distúrbios gastrointestinais (63,6%), mucosas congestas (54,5%), distúrbios respiratórios e linfadenopatia (36,4%), distúrbios neurológicos, mucosas pálidas e dermatite em 27,3%, distúrbios hemorrágicos, atrofia muscular e desidratação em 9,1%.

Figura 19: Principais alterações clínicas dos cães portadores de co-infecção por *Ehrlichia canis* com o CDV, diagnosticados respectivamente pela PCR convencional e pela RT-PCR, atendidos no HV-UFRPE.



Fonte: Silva (2013).

Figura 20: Canina, fêmea, 4 anos, SRD, PCR positiva para a *Ehrlichia canis* e RT-PCR para o CDV, apresentando buftalmia no olho direito em decorrência de glaucoma.



Fonte: Silva (2013).

A infecção de cães com o CDV tem sido considerado um fator imunossupressor importante ligado à infecção por agentes oportunistas (TIPOLD, 1992). As alterações clínicas observadas na infecção simultânea por *Ehrlichia canis* e o CDV foram condizentes com os sinais clínicos observados nestas doenças (GREENE e APPEL, 2006; UENO et al., 2009). Embora na rotina clínica o diagnóstico em geral seja fundamentado na evolução dos achados laboratoriais, no curso inicial de várias enfermidades, os animais apresentam sinais clínicos inespecíficos como apatia, anorexia, febre evoluindo com alterações respiratórias, gastrointestinais e neurológicas (HOMEM et al., 1999; HEADLEY e GRAÇA, 2000; GAMA et al., 2007). Em geral estas alterações estão relacionadas pelos agentes do gênero *Ehrlichia* spp. e pelo vírus da cinomose canina (SANTOS, 2008).

Quanto aos três animais portadores das infecções simultâneas pelos três agentes infecciosos, todos apresentaram alterações oftálmicas, apatia e mucosas pálidas; distúrbios gastrointestinais (66,7%); distúrbios respiratórios (33,3%); distúrbios neurológicos (33,3%);

dermatite (33,3%); desidratação (33,3%) e hepatoesplenomegalia (33,3%). Os sinais clínicos comuns a todos os animais foram relatados por Aquino et al. (2011) e as demais alterações clínicas foram similares as observadas por Miranda et al. (2011). A babesiose, erliquiose e cinomose são doenças infecciosas que comumente acometem cães em Recife. Infecções por esses agentes podem ocorrer de forma concomitante, levando a sintomas atípicos, dificultando o diagnóstico e agravando o quadro clínico do paciente (AQUINO et al., 2011; MIRANDA et al., 2011).

As alterações clínicas verificadas por Aquino et al. (2011) em uma cadela Mastin Napolitano de 7 meses, co-infectada pela *Ehrlichia* spp., *Babesia* spp. e CDV, foram mucosas pálidas, febre, linfadenopatia, depressão da consciência, emagrecimento e, ao exame oftálmico, uveíte e ceratite bilateral. Miranda et al. (2011) também relataram um caso clínico de co-infecção por estes três agentes infecciosos em uma cadela sem raça definida, com 8 meses e verificaram tosse, secreção ocular, hiporexia, tremores, além da falta de vacinação polivalente, e concluíram, após avaliação clínica, que o quadro era crítico.

Boozer et al. (2003) apontaram que a *E. canis* tem um importante papel como uma fonte de imunossupressão. Infecções experimentais com *Ehrlichia canis* e em cães portadores de babesiose e assintomáticos fizeram com que ocorresse a manifestação clínica da doença (VAN HEERDEN et al., 1983; COLLETT, 2000). Possivelmente 3,44% dos cães portadores de erliquiose também estão parasitados por outros hemoparasitas (MOREIRA et al., 2003, MENDONÇA et al., 2005), sendo que a co-infecção é capaz de agravar a condição clínica, devido à ação patogênica dos parasitos (HARIKRISHNAN et al., 2005).

Na Tabela 6 encontram-se as associações entre os diagnósticos de erliquiose e babesiose, a infestação de carrapatos e utilização de medicamentos parasiticidas. De acordo com análise estatística não houve diferenças significativas entre as associações ($p > 0,05$). No entanto, a infestação de carrapatos foi observada em 35 (25,9%) dos cães com erliquiose e 10 (7,4%) com babesiose. Segundo Trapp et al. (2006) e Aguiar et al. (2007), o parasitismo pelo *R. sanguineus* tem sido apontado como principal fator de risco para a EMC.

Em relação à infestação por carrapatos, os dados obtidos nesta pesquisa são similares aos de Silva et al. (2010) que avaliando cães em Cuiabá, por imunoflorescência indireta, para *E. canis*, apenas 29,63% dos cães soropositivos estavam infestados por este artrópode. Em relação à utilização de carrapaticidas, 32 (24,4%) dos cães com erliquiose e 8 (6,1%) com babesiose utilizam medicamentos para controle de carrapatos. A mudança constante de produtos parasiticidas foi verificada em 27,3% e 9,1% dos animais com erliquiose e babesiose, respectivamente.

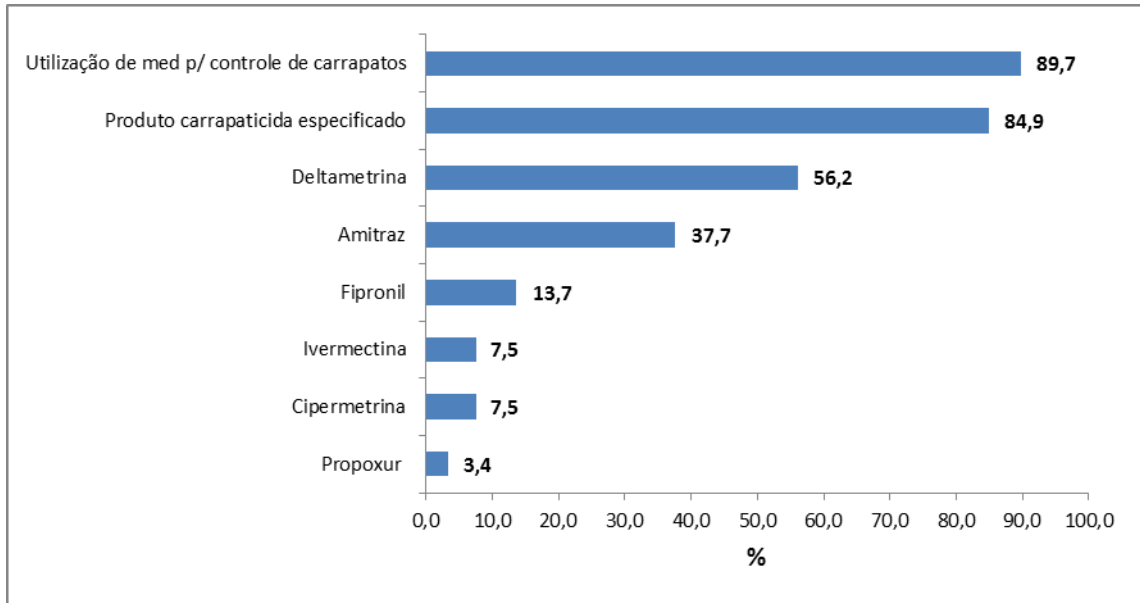
Tabela 6—Associações entre os diagnósticos de erliquiose, babesiose e a infestação de carrapatos e utilização de medicamentos parasiticidas de cães atendidos no HV-UFRPE

Variáveis		N	PCR (<i>E. canis</i>)		PCR (<i>B. c. vogeli</i>)	
			Positivo(%)	p-valor	Positivo(%)	p-valor
Infestação de carrapatos	Sim	135	35 (25,9%)	0,378	10 (7,4%)	0,753
	Não	11	1 (9,1%)		0 (0,0%)	
Utilização de medicamentos para controle de carrapatos	Sim	131	32 (24,4%)	1,000	8 (6,1%)	0,610
	Não	15	4 (26,7%)		2 (13,3%)	
Muda de medicamentos para controle de carrapatos	Sim	11	3 (27,3%)	1,000	1 (9,1%)	1,000
	Não	135	33 (24,4%)		9 (6,7%)	
Cipermetrina	Sim	11	1 (9,1%)	0,378	0 (0,0%)	0,753
	Não	135	35 (25,9%)		10 (7,4%)	
Deltametrina	Sim	82	21 (25,6%)	0,913	7 (8,5%)	0,560
	Não	64	15 (23,4%)		3 (4,7%)	
Amitraz	Sim	55	12 (21,8%)	0,674	3 (5,5%)	0,857
	Não	91	24 (26,4%)		7 (7,7%)	
Propoxur	Sim	5	1 (20,0%)	1,000	0 (0,0%)	1,000
	Não	141	35 (24,8%)		10 (7,1%)	
Fipronil	Sim	20	6 (30,0%)	0,751	1 (5,0%)	1,000
	Não	126	30 (23,8%)		9 (7,1%)	
Produto carrapaticida especificado	Sim	124	29 (23,4%)	0,564	8 (6,5%)	1,000
	Não	22	7 (31,8%)		2 (9,1%)	
Ivermectina	Sim	11	3 (27,3%)	1,000	0 (0,0%)	0,753
	Não	135	33 (24,4%)		10 (7,4%)	

Fonte: Silva (2013).

A Figura 21 mostra que 89,7% dos tutores dos animais utilizam medicamentos no controle de carrapatos nos seus cães e 84,9% especificaram o produto carrapaticida utilizado. A deltametrina foi o parasiticida mais utilizado, com 56,2%, seguido por amitraz (37,7%), fipronil (13,7%), ivermectina (7,5%), cipermetrina (7,5%) e propoxur (3,4%). O uso de parasiticidas em cães é geralmente eficaz para eliminar infestações de carrapatos e para prevenir reinfestações durante certo período de tempo. A frequência do tratamento vai depender do grau de infestação e a duração do efeito residual do medicamento (DANTAS-TORRES, 2008).

Figura 21: Representação gráfica da utilização de medicamentos no controle de carrapatos e os produtos parasiticidas utilizados em cães atendidos no HV-UFRPE.



Fonte: Silva (2013).

Os produtos utilizados para controle de carrapatos pelos proprietários dos animais desta pesquisa, a maior parte deles é recomendado para utilização no controle de ectoparasitas. Os cães podem ser tratados com uma gama diversificada de produtos veterinários, como formulações spot-on, coleiras impregnadas, xampus, sprays e talcos (GARRIS, 1991). Fipronil, amitraz, carbaril e piretróides (deltametrina, permetrina e cipermetrina) estão entre os acaricidas mais frequentemente utilizados para controlar o carrapato *R. sanguineus* (ALCAÍNO et al., 1995; FRANC e CADIERGUES, 1999; JERNIGAN et al., 2000; OTRANTO et al., 2005).

A utilização de maneira inapropriada dos acaricidas em longo prazo é um problema grave que pode resultar em poluição ambiental e causar resistência nos carrapatos (LABARTHE, 1994) e, com isso, pode haver aumento da possibilidade de parasitismo nos animais e nos seres humanos também, o que pode ser um fator de risco para transmissão de agentes infecciosos zoonóticos.

A Tabela 7 apresenta a associação entre os achados dos exames hematológicos dos cães com erliquiose, babesiose e cinomose com os resultados da PCR e da RT-PCR. Foram observadas diferenças estatísticas significativas ($p < 0,05$) para hemácias, hemoglobina, hematócrito, CHCM, RDW-CV, plaquetas, eosinófilos e linfócitos na erliquiose. Na babesiose houve diferença significativa quanto às plaquetas e os segmentados, e na cinomose, apenas para os eosinófilos. As demais variáveis hematológicas não apresentaram resultados estatisticamente significativos ($p > 0,05$).

Tabela 7–Associações entre os achados do hemograma com os resultados da PCR e RT-PCR de cães com erliquiose, babesiose e cinomose atendidos no HV-UFRPE

	N	Erliquiose		Babesiose		Cinomose	
		Positivos (%)	p-valor	Positivos (%)	p-valor	Positivos (%)	p-valor
*Hemácias (x10⁶/mm³)							
<5,5	104	32 (30,8%)	0,013*	10 (9,6%)	0,085	33 (31,7%)	1,000
>5,5	42	4 (9,5%)		0 (0,0%)		13 (31,0%)	
*Hemoglobina (g%)							
<12	107	33 (30,8%)	0,008*	10 (9,3%)	0,108	35 (32,7%)	0,751
>12	39	3 (7,7%)		0 (0,0%)		11 (28,2%)	
*Hematócrito (%)							
<37	115	34 (29,6%)	0,016*	10 (8,7%)	0,193	37 (32,2%)	0,907
>37	31	2 (6,5%)		0 (0,0%)		9 (29,0%)	
*VCM (fL)							
<60	40	8 (20,0%)	0,557	4 (10,0%)	0,576	11 (27,5%)	0,660
>60	106	28 (26,4%)		6 (5,7%)		35 (33,0%)	
*CHCM (%)							
<32	27	13 (48,1%)	0,004*	2 (7,4%)	1,000	8 (29,6%)	0,997
>32	119	23 (19,3%)		8 (6,7%)		38 (31,9%)	
¹RDW-CV (%)							
<11,5	33	3 (9,1%)	0,033*	0 (0,0%)	0,168	8 (24,2%)	0,419
>11,5	113	33 (29,2%)		10 (8,8%)		38 (33,6%)	
²Plaquetas (/mm³)							
<175.000	93	33 (35,5%)	0,000*	10 (10,8%)	0,047*	29 (31,2%)	0,800
>175.000	53	3 (5,6%)		0 (0,0%)		17 (32,0%)	
*Leucócitos (x10³/mm³)							
<6.0	23	9 (39,1%)	0,078	3 (13,0%)	0,396	9 (39,1%)	0,592
6.-17	81	21 (25,9%)		4 (4,9%)		23 (28,4%)	
>17	42	6 (14,3%)		3 (7,1%)		14 (33,3%)	
*Bastonetes (/mm³)							
0-300	99	26 (26,3%)	0,654	7 (7,1%)	1,000	31 (31,3%)	1,000
>300	47	10 (21,3%)		3 (6,4%)		15 (31,9%)	
*Segmentados (/mm³)							
<3.000	22	6 (27,3%)	0,664	4 (18,2%)	0,023*	9 (40,9%)	0,560
3.000-11.500	83	22 (26,5%)		2 (2,4%)		24 (28,9%)	
>11.500	41	8 (19,5%)		4 (9,8%)		13 (31,7%)	
*Eosinófilos (/mm³)							
<100	45	18 (40,0%)	0,008*	4 (8,9%)	0,478	19 (42,2%)	0,049*
100-1.250	85	17 (20,0%)		6 (7,1%)		20 (23,5%)	
>1.250	16	1 (6,3%)		0 (0,0%)		7 (43,8%)	
*Linfócitos (/mm³)							
<1.000	51	19 (37,3%)	0,034*	4 (7,8%)	0,177	17 (33,3%)	0,935
1.000-4.800	76	14 (18,4%)		3 (3,9%)		23 (30,3%)	
>4.800	19	3 (15,8%)		3 (15,8%)		6 (31,6%)	
*Monócitos (/mm³)							
<150	69	22 (31,9%)	0,072	3 (4,3%)	0,295	23 (33,3%)	0,861
150-1.350	69	14 (20,3%)		7 (10,1%)		21 (30,4%)	
>1.350	8	0 (0,0%)		0 (0,0%)		2 (25,0%)	

(p-valor do teste qui-quadrado de Pearson;* Estatisticamente significante).

*Jain (1993).

1. Laboratório de Patologia Clínica do DMV-UFRPE.

2. Meinkorth e Clinkenbeard (2000).

Fonte: Silva (2013).

A média dos hematócritos dos cães com erliquiose foi de 25%, com valor mínimo de 10% e máximo de 48%. Foi observada anemia, trombocitopenia, eosinopenia e linfopenia nos cães com EMC. Estes dados são similares aos de Meneses et al. (2008) que também verificaram anemia, leucopenia, neutropenia, eosinopenia, linfopenia e trombocitopenia nos cães com *E. canis*. Na erliquiose pode ocorrer imunossupressão e outras alterações hematológicas (ANDEREG e PASSOS, 1999; NEER e HARRUS, 2006; NAKAGHI et al., 2008; UENO et al., 2009; SOUZA et al., 2010). A trombocitopenia foi uma das alterações hematológicas mais frequentes e está em concordância com estudos realizados no Brasil, que também destacaram esta alteração como um achado importante nas infecções pela *E. canis* (DAGNONE et al., 2003; BULLA et al., 2004; MACIEIRA et al., 2005; NAKAGHI et al., 2008).

A *Anaplasma platys* e *Babesia canis* também podem acarretar trombocitopenia em cães (MACIEIRA et al., 2005), o que reforça a necessidade do diagnóstico destes hemoparasitas e de outras causas de diminuição de plaquetas em cães. Estes resultados demonstram que tanto a série eritrocitária, como as plaquetas, eosinófilos e os linfócitos são afetados nesta afecção e em caso crônico pode ocorrer depressão da atividade medular, resultante da patogênese da *Ehrlichia canis*. A eosinopenia e a linfopenia podem caracterizar o envolvimento do estresse da doença na fase aguda.

As alterações hematológicas da EMC estão associadas com processos inflamatórios e imunomediados desencadeados pela infecção. A trombocitopenia na fase aguda pode ocorrer por aumento no consumo de plaquetas pela vasculite, aumento no sequestro esplênico e destruição imunomediada ou por diminuição da vida média das plaquetas (HARRUS et al., 1999).

Foi proposto que a infecção pela *E. canis* altera o sistema imunológico, resultando em um excesso de anticorpos anti-plaquetas, o que seria uma das principais causas de trombocitopenia, embora outros mecanismos não mediados imunologicamente também possam estar envolvidos (HARRUS et al., 1996). Ocorre também alteração na função das plaquetas, trombocitopatia, com muitos animais apresentando sangramento superficial, mesmo com o número de plaquetas e perfil de coagulação normal (HARRUS et al., 1999; ALMOSNY e MASSARD, 2002; ACCETTA, 2008).

Na fase subclínica, geralmente só ocorre trombocitopenia, mas pode verificar-se uma diminuição discreta do hematócrito e da contagem leucocitária, bem como hipergamaglobulinemia (VARELA, 2003). Embora a leucopenia seja referida como uma

alteração hematológica característica da infecção por *E. canis* (OLIVEIRA et al., 2000; MOREIRA et al., 2003), neste estudo, não foram observados resultados estatísticos significantes quanto aos leucócitos totais. A eosinopenia e linfopenia foram alterações importantes na série leucocitária, discordando de Neer e Harrus (2006); Sousa et al. (2010) e concordando com Barr (2008), o qual cita que a leucopenia deve-se a linfopenia, eosinopenia e a leucocitose e monocitose podem ocorrer à medida que a doença se torna crônica. Castro et al. (2004) relataram eosinopenia como característica hematológica importante da erliquiose canina, particularmente na fase aguda, semelhantemente aos resultados desta pesquisa.

A fase crônica da erliquiose pode se tornar complicada pela diminuição da produção de elementos sanguíneos na medula óssea, resultando em pancitopenia. Acredita-se que o baço tem um papel importante na patogênese e expressão da doença, sequestrando as bactérias durante a fase subclínica da infecção. Os fatores que levam ao desenvolvimento da fase crônica da EMC permanecem desconhecidos (SHAW e DAY, 2005).

Sousa et al. (2010) avaliando 47 cães com diagnóstico parasitológico para erliquiose não observaram diferenças estatísticas significantes quanto a análise hematológica, identificaram anemia em 20 cães, e em 11 havia sinais de regeneração medular e verificaram desvio à esquerda. Em contrapartida, Ueno et al. (2009) detectaram anemia em 89, 28% ($<5,5 \times 10^6$ eritrócitos. μL) dos cães positivos pela PCR para *E. canis*, 100% dos animais positivos tiveram trombocitopenia (plaquetas $<175 \times 10^3$. μL) e 28 (57%) apresentaram leucopenia ($<5,5 \times 10^3$ leucócitos. μL).

Borin et al. (2009) avaliaram 4407 cães, destes 203 positivos no parasitológico para *Ehrlichia* spp., 167 cães (82,3%) apresentaram anemia, como alteração mais frequente no eritrograma, 36 (17,7%) não apresentaram alterações relativas à contagem eritrocitária e anemia em 21 (10,3%), do tipo normocítica hipocrômica. De acordo com os valores do volume corpuscular médio (VCM) e da concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) dos cães que apresentaram anemia, 118 animais (58,2%) apresentaram anemia do tipo normocítica normocrômica. Quanto à contagem diferencial de leucócitos, o resultado mais expressivo foi o desvio nuclear de neutrófilos para a esquerda, observado em 136 animais (67%).

A média dos hematócritos dos cães com babesiose foi de 20%, com valor mínimo de 8% e máximo de 34%. As alterações hematológicas verificadas na babesiose neste estudo foram anemia, leucopenia, leucocitose, assim como leucócitos dentro dos valores de referência e linfocitose; entretanto, apenas a trombocitopenia e neutropenia apresentaram significância estatística ($p < 0,05$). Anemia e trombocitopenia são as anormalidades

hematológicas primárias na babesiose canina (HAGIWARA e YAMAGA, 1987; ABDULLAHI et al., 1990; JOJIMA et al., 2008). De acordo com Almosny (2002), os achados mais consistentes no hemograma de cães com babesiose é a anemia hemolítica do tipo regenerativa e trombocitopenia.

Em um estudo no Rio de Janeiro com 500 cães, as alterações laboratoriais na babesiose foram anemia normocítica hipocrômica, policromasia, anisocitose, leucocitose neutrofílica, monocitose, linfopenia e trombocitopenia (GUIMARÃES et al., 2004). Jojima et al. (2008), pesquisando uma população hospitalar em Londrina com cães com diagnóstico para *Babesia canis vogeli* e *Babesia gibsoni* verificaram que as alterações hematológicas mais evidentes foram anemia e trombocitopenia.

As anormalidades leucocitárias são variáveis na babesiose, podendo a contagem de leucócitos estar aumentada ou diminuída (HAGIWARA e HOLZCHUH, 1987; DELL'PORTO et al., 1993). Isso se confirma pelos relatos de leucocitose com neutrofilia, monocitose; linfopenia (GUIMARÃES et al., 2002); linfocitose e eosinofilia (TABOADA e MERCHANT, 1997) e leucopenia (SCHETTERS et al., 2009) com neutropenia; monocitopenia e linfopenia (FURLANELLO et al., 2005). Segundo Gelfi e Candebatt (1998) estas alterações ocorrem em diferentes estágios da babesiose, entretanto, Baric Rafaj et al. (2007) relataram leucopenia na fase aguda da doença. Sendo estas alterações leucocitárias compatíveis com resultados verificados neste experimento, o que sugere que os cães deveriam estar em diferentes fases de infecção.

Em estudo conduzido por Costa-Júnior et al. (2009) em cães saudáveis, hematócrito abaixo de 30% não constituiu um fator de risco relacionado à soroprevalência de *B. canis vogeli*. É importante ressaltar que os cães com contagem de hemácias e hematócrito abaixo da normalidade, a maior parte deles apresentou amplificação do DNA da *Babesia canis vogeli* nesta pesquisa, entretanto, ressalta-se que animais com estes parâmetros normais, não devem ser excluídos da possibilidade de infecção por este agente infeccioso.

O tipo de anemia dos animais com babesiose neste experimento foi do tipo macrocítica regenerativa, diferentemente de Vasconcelos (2010), o qual observou anemia microcítica normocrômica. A anemia hemolítica imunomediada regenerativa é observada e é um achado comum nas infecções pela *B. canis vogeli*, mas não é uma alteração clínica-patológica padrão (CARLI et al., 2009). Entretanto, Abdullahi et al. (1990) e O'dewer e Massard (2002) relataram anemia normocítica normocrômica. Os cães infectados por *B. canis* podem apresentar anemia que varia de normocítica normocrômica (FURLANELLO et al., 2005) a hipocrômica (GUIMARÃES et al., 2002), sendo a primeira comumente de baixa

intensidade nos primeiros dias após a infecção, podendo tornar-se macrocítica e hipocrômica à medida que a moléstia progride (TABOADA e MERCHANT, 1997).

Estudos recentes revelaram que cães infectados pela *B. canis vogeli* apresentaram anemia regenerativa (CARLI et al., 2009). Pode-se observar ainda policromasia e anisocitose e a reticulocitose, a qual é proporcional à gravidade da anemia (GUIMARÃES et al., 2002). A lise das hemácias produz mediadores inflamatórios de ação sistêmica que, em processos hemolíticos graves, causam vasodilatação periférica e hipotensão (BRANDÃO e HAGIWARA, 2002), o que facilita interação entre eritrócitos infectados e o tecido endotelial (SCHETTERS et al., 1998), levando à agregação de eritrócitos (VALLI, 2007).

O mecanismo da trombocitopenia não é suficientemente claro, mas tem sido atribuída à coagulação intravascular disseminada (CID) que pode ter como causas predisponentes hemólise, vasculite, acidose, hipóxia, dentre outros, sendo estas alterações observadas na babesiose (CAMPOS et al., 2002).

Na cinomose as alterações hematológicas foram muito variadas, em 31% as hemácias estavam dentro dos valores de normalidade, observou-se que a média dos hematócitos dos cães positivos foi de 30%, com valor mínimo de 11% e máximo de 51%. Anemia ocorreu em 31,7%, plaquetas dentro dos valores de referência (30,4%), trombocitopenia (31,2%), leucócitos dentro da normalidade (28,4%), leucopenia (39,1%), leucocitose (33,3%) e eosinopenia em 42,2% dos hemogramas, a qual foi estatisticamente significativa ($p < 0,05$).

A anemia foi um achado laboratorial compatível com vários estudos (MARCONDES, 1992; TUDURY et al., 1997; AMUDE et al., 2006; MONTEIRO et al., 2008; BARBOSA et al., 2011). No entanto, não parece haver fundamentação biológica com a infecção pelo CDV, uma vez que o vírus não tem tropismo por eritrócitos ou por seus precursores nucleados intramedulares (GREENE e APPEL, 2006). Pode-se levar em consideração que os animais que são levados a atendimento hospitalar se encontram em condições clínicas desfavoráveis (AMUDE et al., 2006), podem ter outras doenças concomitantes ou alterações imunomediadas causada pelo CDV.

Entretanto, outros pesquisadores citam que nos casos de infecção pelo CDV a anemia observada pode ser atribuída ao aumento da destruição das hemácias, determinada pela presença do vírus no eritrócito ou pela deposição de imunocomplexos na membrana eritrocitária (MENDONÇA et al., 2000), pode ocorrer redução da eritropoiese por falência da medula óssea devido à ação direta do vírus nesse tecido (MEYER et al., 1995) ou a apoptose; portanto, pode estar envolvida na patogênese das alterações hematológicas observadas na cinomose canina (APPEL, 1969).

Diferentemente aos achados de Marcondes (1992), Tudury et al. (1997), Gebara et al. (2004), Amude et al. (2007), Monteiro et al. (2008) e Barbosa et al. (2011) em que, respectivamente, 81,8% (18/22), 51,9% (40/77), 55,6 % (5/9), 37,5% (3/8), 82,3% (14/17) e 76% (19/25) dos animais portadores da cinomose apresentaram linfopenia, sendo esta alteração leucocitária mais frequente nestas pesquisas. Neste experimento, a alteração leucocitária mais expressiva foi eosinopenia e este achado ocorre no estresse agudo ou crônico, infecções e inflamações agudas (KEER, 2003; BUSH, 2004).

A linfopenia é considerada uma característica marcante da infecção pelo CDV, entretanto, não é um achado específico (GEBARA et al., 2004). A linfopenia é atribuída à destruição dos linfócitos T e B e necrose dos tecidos linfóides causada pelo CDV (APPEL e SUMMERS, 1995). Segundo Jain (1993), a linfopenia está relacionada com atrofia e necrose de tecido linfóide produzida pela ação do vírus.

Quanto ao número total de leucócitos verificou-se que 28,4% dos cães com cinomose apresentaram valores dentro da faixa de normalidade, enquanto Marcondes (1992) constatou normalidade em 40,9% dos animais, Amude et al. (2006) verificaram em 33,3%, e Barbosa et al. (2011) em 72%. Em relação aos 39,1% dos cães que apresentaram leucopenia não foi verificada semelhança com os resultados encontrados por Tudury et al. (1997), em que 11 dos 77 cães (14,2%) apresentaram esta alteração, enquanto Marcondes (1992) encontrou em apenas 9%, Barbosa et al. (2011) em 16% e Monteiro et al. (2008) verificaram em 29,4%.

A leucocitose foi observada em 33,3% dos animais deste estudo e apresentou-se em menor proporção do que a observada por Marcondes (1992) com 40,9% e semelhantemente aos resultados de Tudury et al. (1997), que verificaram em 33,7% dos cães e maiores do que os resultados de Barbosa et al. (2011), que detectaram essa alteração em apenas 12% dos cães. A leucocitose foi descrita por Gebara et al. (2004) como a alteração hematológica mais frequente.

A resposta hematológica varia também de um indivíduo a outro, bem como com a fase da infecção viral (FENNER et al., 1993). Neste experimento observou-se tanto trombocitopenia, como plaquetas dentro dos valores de referência e acima também. O mecanismo responsável pela trombocitopenia associada a infecções virais na veterinária ainda é pouco conhecido. Sabe-se, apenas, que para o gênero *Morbillivirus* já se observou aumento de anticorpos anti-plaquetas. A trombocitopenia é do tipo provavelmente imunomediada com remoção das plaquetas pelo sistema mononuclear fagocitário (ETTINGER e FELDMAN, 2004).

Barbosa et al. (2011) ratificam que a realização do diagnóstico diferencial apenas pelos achados hematológicos não são suficientes para a determinação do diagnóstico da cinomose canina, uma vez que estas alterações são muito variadas e variam de acordo com fase da doença.

A Tabela 8 apresenta a frequência absoluta e relativa das variáveis hematológicas e correlação entre a PCR e RT-PCR com as co-infecções pela *Ehrlichia canis*, *Babesia canis vogeli* e pelo CDV. Em relação às hemácias, hemoglobina e hematócrito foram constatados valores abaixo da referência em todos os cães com co-infecções. O volume corpuscular médio (VCM) foi maior do que 60 na maioria das co-infecções, na infecção múltipla pela *E. canis* com o CDV e dos três agentes infecciosos, a concentração da hemoglobina corpuscular média (CHCM) foi maior que 32.

O RDW-CV maior do que 11,5 em todas as co-infecções e a trombocitopenia foi observada na maioria das co-infecções. Os leucócitos estavam dentro dos valores de referência nas co-infecções pela *Ehrlichia canis* com a *Babesia canis vogeli* e na *E. canis* com o CDV. Constatou-se que 13% dos animais co-infectados pela *E. canis* com o CDV apresentaram leucopenia e leucocitose na maior parte dos cães co-infectados pelos três agentes infecciosos. Linfopenia e eosinopenia foram verificadas na maioria dos cães com co-infecções.

Tabela 8—Associação entre as frequências absoluta e relativa das variáveis hematológicas e os resultados da PCR e RT-PCR das co-infecções pela *Ehrlichia canis*, *Babesia canis vogeli* e pelo CDV de cães atendidos no HV-UFRPE

	N	Positivo (%)		
		Erliquiose+babesiose	Erliquiose+cinomose	Erliquiose+cinomose+babesiose
*Hemácias (x10⁶/mm³)				
<5,5	104	1 (1,0%)	10 (9,6%)	3 (2,9%)
>5,5	42	0 (0,0%)	1 (2,4%)	0 (0,0%)
*Hemoglobina (g%)				
<12	107	1 (0,9%)	10 (9,3%)	3 (2,8%)
>12	39	0 (0,0%)	1 (2,6%)	0 (0,0%)
*Hematócrito (%)				
<37	115	1 (0,9%)	11 (9,6%)	3 (2,6%)
>37	31	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
*VCM (fL)				
<60	40	0 (0,0%)	1 (2,5%)	1 (2,5%)
>60	106	1 (0,9%)	10 (9,4%)	2 (1,9%)
*CHCM (%)				
<32	27	1 (3,7%)	3 (11,1%)	0 (0,0%)
>32	119	0 (0,0%)	8 (6,7%)	3 (2,5%)
¹RDW-CV (%)				
<11,5	33	0 (0,0%)	1 (3,0%)	0 (0,0%)

>11,5	113	1 (0,9%)	10 (8,8%)	3 (2,7%)
² Plaquetas (/mm ³)				
<175.000	93	1 (1,1%)	10 (10,8%)	3 (3,2%)
>175.000	53	0 (0,0%)	1 (1,8%)	0 (0,0%)
*Leucócitos (x10 ³ /mm ³)				
<6,0	23	0 (0,0%)	3 (13,0%)	1 (4,3%)
6.0-17.000	81	1 (1,2%)	5 (6,2%)	0 (0,0%)
>17.000	42	0 (0,0%)	3 (7,1%)	2 (4,8%)
*Bastonetes (/mm ³)				
0-300	99	1 (1,0%)	9 (9,1%)	1 (1,0%)
>300	47	0 (0,0%)	2 (4,3%)	2 (4,3%)
*Segmentados (/mm ³)				
<3.000	22	0 (0,0%)	2 (9,1%)	1 (4,5%)
3.000-11.500	83	1 (1,2%)	6 (7,2%)	0 (0,0%)
>11.500	41	0 (0,0%)	3 (7,3%)	2 (4,9%)
*Eosinófilos (/mm ³)				
<100	45	1 (2,2%)	7 (15,6%)	2 (4,4%)
100-1.250	85	0 (0,0%)	4 (4,7%)	1 (1,2%)
>1.250	16	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
*Linfócitos (/mm ³)				
<1.000	51	1 (2,0%)	6 (11,8%)	2 (3,9%)
1.000-4.800	76	0 (0,0%)	3 (3,9%)	1 (1,3%)
>4.800	19	0 (0,0%)	2 (10,5%)	0 (0,0%)
*Monócitos (/mm ³)				
<150	69	0 (0,0%)	8 (11,6%)	1 (1,4%)
150-1.350	69	1 (1,4%)	3 (4,3%)	2 (2,9%)
>1.350	8	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)

*Jain (1993).

1. Laboratório de Patologia Clínica do DMV-UFRPE.

2. Meinkoth e Linkenbeard (2000).

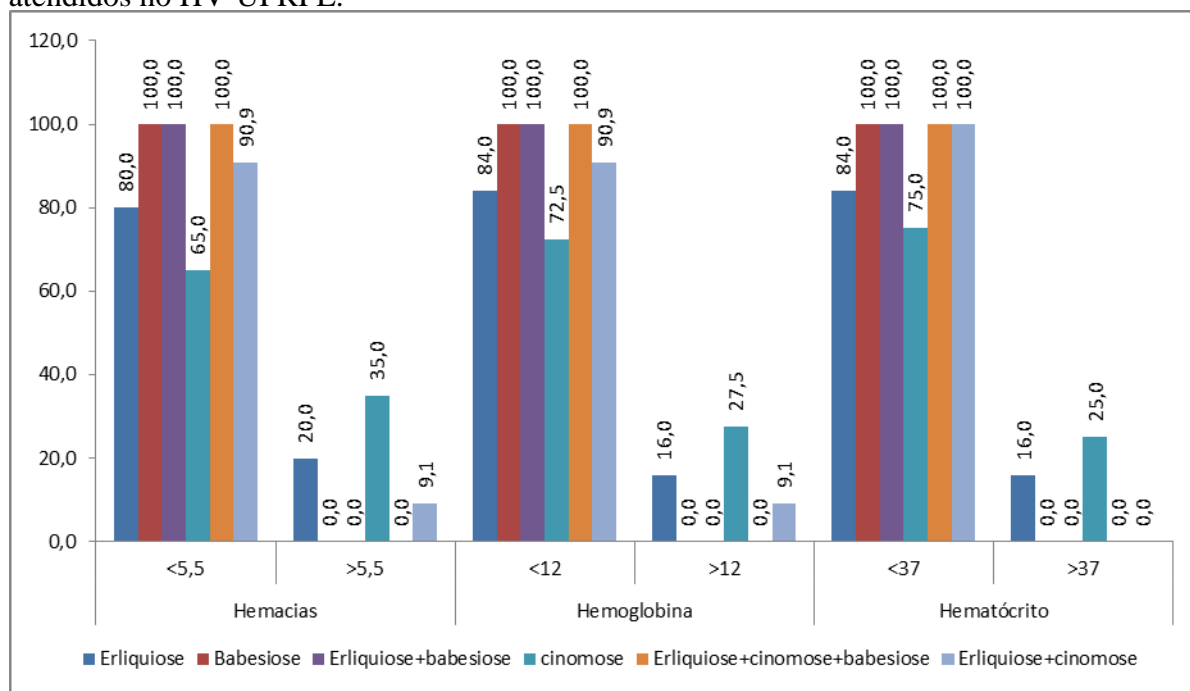
Fonte: Silva (2013).

As alterações hematológicas observadas nas co-infecções pelos três agentes infecciosos foram similares as de Aquino et al. (2011), porém o tipo de anemia verificada foi macrocítica regenerativa e apenas a linfocitopenia e a trombocitopenia foram similares aos do relato de Miranda et al. (2011). Os achados hematológicos observados nesta co-infecção são comuns na erliquiose, com agravamento do quadro até hipoplasia medular, gerando pancitopenia no caso de cronificações.

As Figuras 22, 23 e 24 apresentam a frequência de alterações hematológicas de cães com infecções simples por *E.canis*, *B.canis vogeli*, CDV e nas suas co-infecções. Na Figura 22, observou-se anemia com diminuição das hemácias em 80% dos cães com erliquiose, 100% dos com babesiose, 65% dos com cinomose, 90,9% na co-infecção *Ehrlichia canis* com o CDV, 100% na co-infecção pela *E. canis* com a *B. canis vogeli* e na co-infecção pelos três agentes patogênicos. Apenas 9,1% dos cães co-infectados pela *E. canis* com o CDV estavam com o número de hemácias dentro dos valores de referência. A maior parte dos cães com

infecções simples e co-infecções apresentaram hemácias, hemoglobina e hematócrito abaixo dos valores de referência.

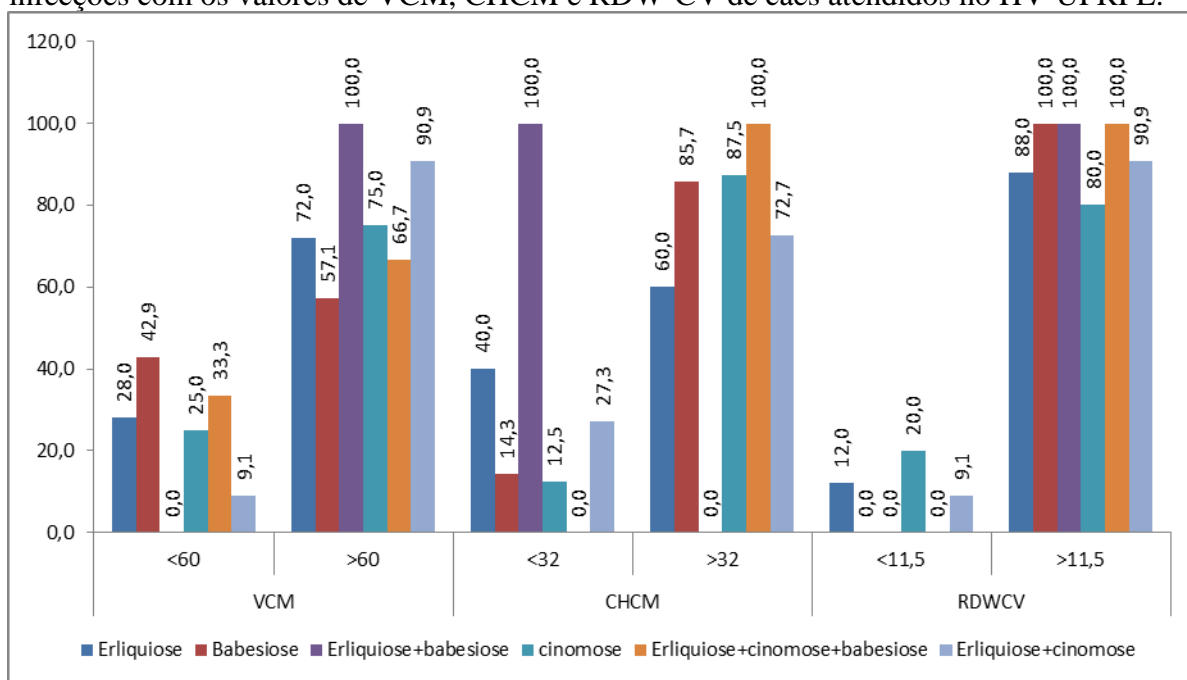
Figura 22 – Associação entre os diagnósticos de *E. canis*, *B. canis vogeli*, CDV e suas co-infecções com os percentuais de alterações nas hemácias, hemoglobina e hematócrito de cães atendidos no HV-UFRPE.



Fonte: Silva (2013).

Na Figura 23 verificou-se que na maioria das infecções únicas pela *E. canis*, *B. canis vogeli* e pelo CDV e nas infecções simultâneas o VCM estavam maior do que 60, o CHCM maior do que 32 e RDW-CV maior do que 11,5. Esses dados permitem sugerir que o tipo de anemia da maioria dos cães foi do tipo macrocítica e regenerativa, pois o aumento do RDW sugere uma anisocitose eritrocitária, o que indica a ocorrência de resposta medular. O aumento do CHCM pode ter ocorrido em consequência de um processo de hemólise imunomediada conforme mencionado por alguns autores como causa mais comum de anemia nas infecções pelos agentes da erliquiose e babesiose (BOURDEAU e GUELFY, 1995; NEER e HARRUS, 2006; CARLI et al., 2009).

Figura 23—Associação entre os diagnósticos de *E. canis*, *B. canis vogeli*, CDV e suas co-infecções com os valores de VCM, CHCM e RDW-CV de cães atendidos no HV-UFRPE.

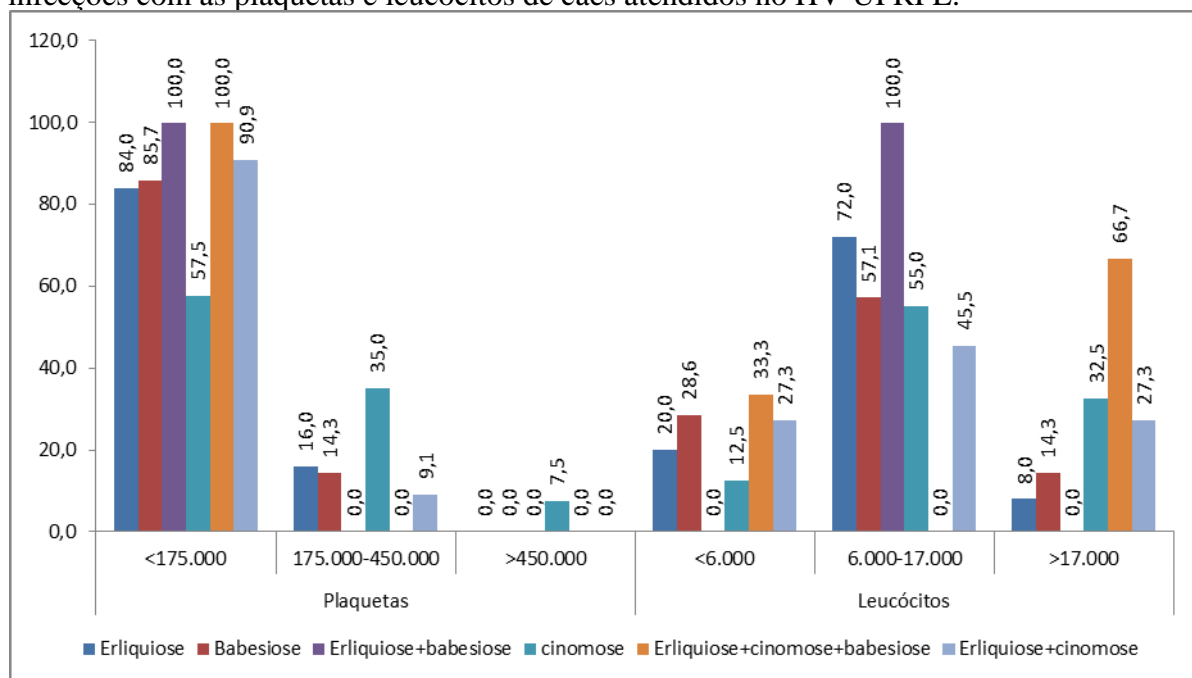


Fonte: Silva, (2013).

Na Figura 24 pode-se constatar que a maior parte dos cães infectados pelos agentes infecciosos pesquisados apresentou trombocitopenia, em menor proporção, plaquetas dentro dos valores de referências. Inúmeras doenças podem causar trombocitopenia e os clínicos devem incluir outros diagnósticos diferenciais, mesmo quando os animais sejam procedentes de áreas endêmicas para as hemoparasitoses, pois essa alteração não é exclusiva destas afecções.

Em relação aos leucócitos, a maioria dos infectados pelos agentes infecciosos estudados estavam com os leucócitos dentro dos valores de referência, leucopenia foi verificada em 20% dos cães com erliquiose, 28,6% na babesiose e em 33,3% na co-infecção, erliquiose, babesiose e cinomose. Leucocitose em 66,7% na co-infecção pelos três agentes patogênicos e em 32,5% dos animais com cinomose.

Figura 24–Associação entre os diagnósticos de *E. canis*, *B. canis vogeli*, CDV e suas co-infecções com as plaquetas e leucócitos de cães atendidos no HV-UFRPE.



Fonte: Silva (2013).

Botsch et al. (2009) avaliaram 871 cães com trombocitopenia de uma população hospitalar e detectaram a incidência dessa alteração em 6,7% dos animais e verificaram como causas mais frequentes, intoxicação (2,2%), endocrinopatias (1,7%), nefropatias (4,9%), hepatopatias (3,9%), cardiopatias (2,8%), neuropatias (2,9%), quimioterapia (2,2%), outras causas (4,9%), neoplasias (24,4%), e dentre as causas inflamatórias e infecciosas, destacaram-se erliquiose (8,6%), babesiose (5,3%), leishmaniose (1,6%), sepse (2,9%), outras inflamações (13,4%), infecção viral (2,2%) e parasitoses gastrointestinais (0,9%).

Sinais clínicos atípicos associados com anormalidades hematológicas severas são descritas em cães co-infectados por vários agentes patogênicos, sendo importante a realização do diagnóstico microscópico, sorologia e PCR, principalmente em regiões endêmicas para as doenças transmitidas por vetores (TOMMASI et al., 2013).

De Caprariis et al. (2011) enfatizaram em sua pesquisa a dificuldade para os clínicos atribuir sinais clínicos específicos ou anormalidades hematológicas para as doenças caninas transmitidas por vetores. Ao cuidar de cães que vivem em áreas endêmicas para essas afecções, o clínico deve ter cautela ao interpretar o quadro clínico geral e os resultados hematológicos, de modo a evitar o risco de realizar um diagnóstico etiológico incorreto e prescrever terapia ineficaz.

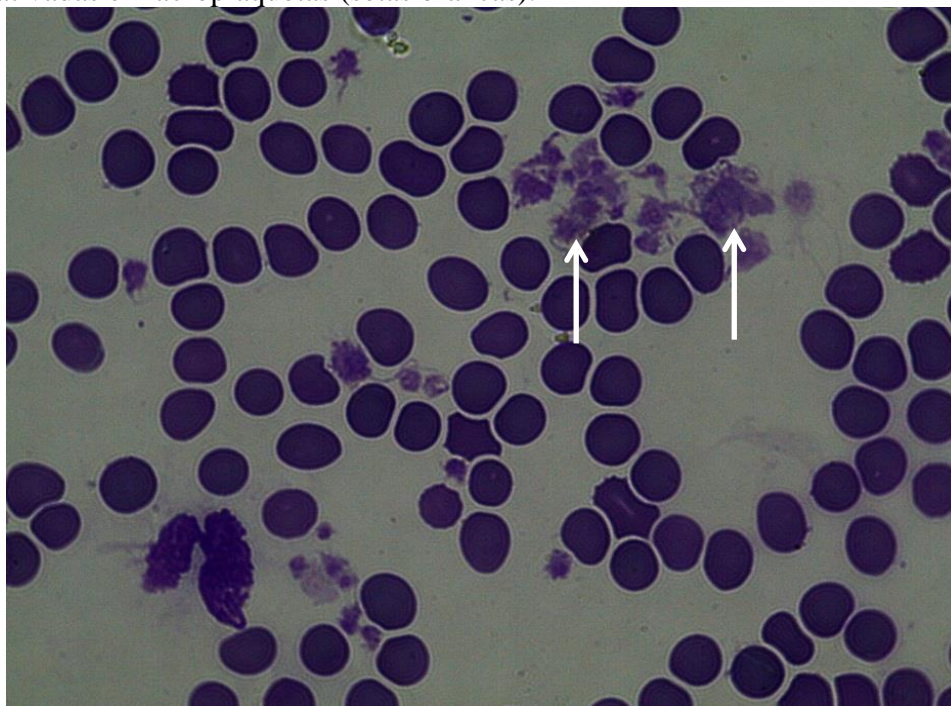
Associado a isso pode ser gerado um problema com a resistência dos agentes infecciosos aos antibióticos, sendo essa problemática considerada de relevância mundial e constituem ameaça para a atenção aos pacientes e para o controle das doenças em todo o mundo. É um fenômeno biológico natural que se seguiu à introdução de agentes antimicrobianos na prática clínica e as suas taxas variam na dependência do consumo local desses medicamentos (OLIVEIRA et al., 2011). A carência de recursos de diagnóstico laboratorial ou a não utilização deste recurso quando disponível agravam ainda mais essa situação, pois muitas vezes os profissionais da área cometem equívocos de conduta ao prescreverem antibióticos sem necessidade (MOTA et al., 2005).

Na Tabela 9 encontram-se os resultados das frequências absoluta e relativa de variáveis qualitativas de hemogramas de cães naturalmente infectados por *E. canis*, *B. canis vogeli* e CDV. Constatou-se anisocitose eritrocitária em 20 (41,7%) nas infecções pelo CDV, em 15 (31,3%) na infecção pela *E. canis* e em 5 (10,4%) na *Babesia canis vogeli* e policromasia eritrocitária em 11 (45,8%) nos diagnósticos de cinomose, 7 (29,2%) na erliquiose e em 3 (12,5%) na babesiose. Neutrófilos tóxicos em 5 (31,3%) dos cães com infecção pelo CDV, em 4 (25%) na *E. canis* e 1 (6,3%) na *Babesia canis vogeli*. Linfócitos reativos, macroplaquetas e plaquetas ativadas (Figura 25) foram observados com maior frequência nos hemogramas de cães positivos para o CDV, seguidos pelos animais com diagnóstico para *E. canis* e pela *B. canis vogeli*.

Tabela 9—Associação entre as frequências absoluta e relativa das variáveis hematológicas qualitativas de cães com diagnóstico para *E. canis*, *B. canis* e CDV atendidos no HV-UFRPE

Variáveis qualitativas	N	Erliquiose Positivo (%)	Babesiose Positivo (%)	Cinomose Positivo (%)	
Anisocitose	Sim	48	15 (31,3%)	5 (10,4%)	20 (41,7%)
	Não	98	21 (21,4%)	5 (5,1%)	26 (26,5%)
Policromasia	Sim	24	7 (29,2%)	3 (12,5%)	11 (45,8%)
	Não	122	29 (23,8%)	7 (5,7%)	35 (28,7%)
Metarrubricitos	Sim	18	4 (22,2%)	2 (11,1%)	7 (38,9%)
	Não	128	32 (25,0%)	8 (6,3%)	39 (30,5%)
Neutrófilos tóxicos	Sim	16	4 (25,0%)	1 (6,3%)	5 (31,3%)
	Não	130	32 (24,6%)	9 (6,9%)	41 (31,5%)
Linfócitos reativos	Sim	12	1 (8,3%)	1 (8,3%)	6 (50,0%)
	Não	134	35 (26,1%)	9 (6,7%)	40 (29,9%)
Macroplaquetas	Sim	45	12 (26,7%)	2 (4,4%)	15 (33,3%)
	Não	101	24 (23,8%)	8 (7,9%)	31 (30,7%)
Plaquetas ativadas	Sim	31	8 (25,8%)	3 (9,7%)	14 (45,2%)
	Não	115	28 (24,3%)	7 (6,1%)	32 (27,8%)
Plasma ictérico	Sim	3	1 (33,3%)	0 (0,0%)	1 (33,3%)
	Não	143	35 (24,5%)	10 (7,0%)	45 (31,5%)

Figura 25–Esfregaço sanguíneo de um cão com presença de plaquetas ativadas e macroplaquetas (setas brancas).



Fonte: Silva (2013).

Na Tabela 10 encontram-se a associação as infecções pela *Ehrlichia canis*, *Babesia canis vogeli*, CDV e co-infecções com os valores de proteínas plasmáticas totais (PPT). Verificou-se que a maioria dos animais com erliquiose (56%) e cinomose (57,5%) encontrava-se com os valores de PPT dentro dos valores de referência (6 a 8g/dL) no plasma conforme referência de Kaneko (1997). Dos cães com babesiose, 71,4% estavam com hiperproteinemia e o único animal com infecção simultânea pela *Ehrlichia canis* com a *Babesia canis vogeli* também. Em 45,5% dos cães co-infectados pela *E. canis* com o CDV estavam com os níveis de PPT dentro dos valores de referência e 66,7% dos animais com a infecção múltipla pelos três agentes infecciosos estavam com hipoproteinemia.

Tabela 10—Associação entre a infecção pela *Ehrlichia canis*, *Babesia canis vogeli*, CDV e co-infecções diagnosticados pela PCR e RT-PCR com os valores de proteínas plasmáticas totais de cães atendidos no HV-UFRPE

Diagnósticos	Proteínas Totais						Total	
	Menos de 6g/dL		De 6 a 8 g/dL		Acima de 8g/dL			
	n	%	n	%	n	%	n	%
Erliquiose	4	16,0	14	56,0	7	28,0	25	100,0
Babesiose	0	0,0	2	28,6	5	71,4	7	100,0
Cinomose	2	5,0	23	57,5	15	37,5	40	100,0
Erliquiose+babesiose	0	0,0	0	0,0	1	100,0	1	100,0
Erliquiose+cinomose	3	27,3	5	45,5	3	27,3	11	100,0
Erliquiose+cinomose+babesiose	2	66,7	1	33,3	0	0,0	3	100,0

Fonte: Silva (2013).

Valores concomitantemente elevados para as proteínas plasmáticas totais (PPT) e hematócrito indicam desidratação ou no caso de hipoproteïnemia, refletem estados nutricionais deficientes ou perdas aumentadas através dos tratos digestório ou urinário, principalmente (BUSH, 2004). Entre os animais com valores elevados, a maioria apresentava volume globular e hemoglobina reduzidos, o que indica anemia, mas não elimina a possibilidade de desidratação, embora não evidenciada ao exame físico, o que implicaria em uma anemia ainda mais intensa (KANEKO et al., 1997), fato observado nos cães com erliquiose, pois a maior parte deles tinha anemia também.

Harrus et al. (1998) e Varela (2003) comentaram que pode haver uma leve hiperproteinemia em animais com infecção pela *Anaplasma platys* e por outros agentes infecciosos, em decorrência da hiperglobulinemia. Essa hipótese é reforçada pelas observações de Almonson e Massard (2002), que citaram que na fase crônica da infecção pela *Ehrlichia canis* a hipoalbuminemia se contrapõe à hipergamaglobulinemia, levando a níveis normais de proteínas plasmáticas totais, o que justificaria os resultados da maior parte dos animais com erliquiose neste experimento estar com os níveis de PPT dentro dos valores de referência.

Em todas as fases da erliquiose, o cão pode apresentar hipoalbuminemia, resultante da anorexia, o que leva à diminuição da ingestão de proteínas, perda de peso e de fluidos inflamatórios, como consequência de vasculite, decréscimo da produção de proteínas, devido a doenças hepáticas concomitantes e proteinúria (OLICHESKI, 2003). A hiperproteinemia também pode ocorrer na erliquiose em função do aumento das imunoglobulinas. Cães com severa babesiose apresentam baixos níveis séricos de proteínas e albumina, e na relação albumina/globulinas, e nos níveis de α globulinas (TABOADA e LOBETTI, 2006).

Diferentemente do que a literatura cita a maior parte dos cães com babesiose neste experimento apresentou hiperproteinemia, provavelmente, devido ao aumento dos níveis séricos das imunoglobulinas.

Na co-infecção *Ehrlichia canis* com a *Babesia canis vogeli*, o único animal co-infectado apresentou hiperproteinemia o que é esperado, porque a hiperglobulinemia ocorre quando os cães são co-infectados por estes dois agentes infecciosos (MATTHEWMAN et al., 1993). A hipoproteinemia verificada em alguns cães com cinomose são provocadas por lesões no epitélio intestinal causadas pelo vírus, com conseqüente diarreia, além da própria apatia determinada pela doença que levam o animal a recusar o alimento.

Desta forma, a diminuição da ingestão protéica, bem como o comprometimento intestinal são fatores determinantes na redução dos níveis séricos da albumina na cinomose (KANEKO et al., 1997) e, com isso, há diminuição nos níveis das proteínas plasmáticas totais. A cinomose, a análise da proteína total inclui o decréscimo da albumina e acréscimo da alfa (α) e gama (γ) globulinas nos neonatos. Em alguns filhotes, infectados no período pré-natal ou na infecção neonatal com o CDV, pode ser observada marcada hipoglobulinemia pela persistente imunossupressão causada pelo vírus (GREENE e APPEL, 2006).

10 CONCLUSÕES

Baseados nos resultados obtidos, conclui-se que:

- Os cães atendidos no Hospital Veterinário com erliquiose, babesiose e cinomose, domiciliados, vacinados com raça definida foram mais acometidos por estas doenças e o acesso à rua pode ser responsabilizado como um importante fator de risco para a infecção em cães com o CDV.
- As alterações clínicas hiporexia, alopecia periocular, linfadenopatia e tosse improdutiva devem ser consideradas na caracterização da erliquiose; mucosas pálidas para babesiose; linfadenopatia, mucosas congestionadas, ataxia e secreção nasal para a cinomose.
- Anemia, trombocitopenia, eosinofilia e linfocitopenia devem ser consideradas como fonte de variação na caracterização da erliquiose; trombocitopenia e neutropenia para babesiose e eosinofilia para a cinomose.
- Na co-infecção pela *Ehrlichia canis* com o CDV destacam-se os distúrbios oftálmicos, gastrointestinais, anemia, trombocitopenia, leucopenia, eosinopenia e linfocitopenia.
- O número de animais co-infectados pela *Ehrlichia canis* e *Babesia canis vogeli*; *E. canis*, *B. canis vogeli* e CDV foram insuficientes para caracterização das alterações clínicas e laboratoriais, sugerindo-se que novos estudos sejam realizados neste sentido.
- Houve baixa concordância entre a PCR quando comparada com os exames parasitológicos sanguíneos e nenhuma concordância entre a RT-PCR e a pesquisa de inclusão viral, portanto sugere-se que o clínico solicite a PCR, uma vez que este exame é mais específico e sensível na detecção de agentes infecciosos.
- A possibilidade de co-infecções é alta em regiões endêmicas e sugere-se que mais estudos sejam realizados a fim de elucidar outras possibilidades de infecções simultâneas na clínica médica de pequenos animais, uma vez que este tema é pouco estudado no Brasil.

11 REFERÊNCIAS

ABDULLAHI, S.U.; MOHAMMED, A.A.; TRIMNELL, A.R. Clinical and haematological findings in 70 naturally occurring cases of canine Babesiosis. **Journal of Small Animal Practice**, v. 31, p. 145-147, 1990.

ACCETTA, E. M. T. *Ehrlichia canis* e *Anaplasma platys* em cães (*Canis familiaris*, Linnaeus, 1758) trombocitopênicos da região dos lagos do Rio de Janeiro. 2008. 61f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Curso de Pós- Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ.

ACOSTA-JAMETT ,G.; CLEAVELAND ,S.; CUNNINGHAM A.A.; BRONSVOORT, B.M. Demography of domestic dogs in rural and urban areas of the Coquimbo region of Chile and implications for disease transmission. **Preventive Veterinary Medicine**, v.94, n. (3-4), p.272– 281, May, 2010.

ACOSTA-JAMETT, G.; CHALMERS, W.S.; CUNNINGHAM, A.A.; et al. Urban domestic dog populations as a source of canine distemper virus for wild carnivores in the Coquimbo region of Chile. **Veterinary Microbiology**, v.152, n. (3-4), p.247-257, Sep, 2011.

AGUIAR, D. M.; CAVALCANTE, G.T.; PINTER, A.; GENNARI, S.M.; CAMARGO, LM.; LABRUNA, M.B. Prevalence of *Ehrlichia canis* (Rickettsiales: Anaplasmataceae) in dogs and *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) ticks from Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v. 44, n. 1, p. 126-132, 2007.

ALCAÍÑO, H.; GORMAN, T.; ACOSTA, P.; FREDES, F. 1995. Evaluación de cinco esquemas de control con cipermetrina del *Rhipicephalus sanguineus* en la Región Metropolitana de Chile. **Archivos de Medicina Veterinaria**, v.27, p.45–51, 1995.

ALECRIM, I.; PINTO, B.; ÁVILA, T.; COSTA, R.; PESSOA, I. Registro do primeiro caso de infecção humana por *Babesia* sp., no Brasil. **Revista de Patologia Tropical**, Goiânia, v. 12, n. 1, p. 11-29, 1983.

ALLEMAN, A. R.; MCSHERRY, L.J.; BARBET, A. F.; BREITSCHWERDT, E. B.; SORENSON, H. L.; BOWIE, M. V.; BÉLANGER, M. Recombinant Major Antigenic Protein 2 of *Ehrlichia canis*: a Potential Diagnostic Tool. **Journal Clinical Microbiology**. v. 39, n.7, p. 2494- 2499. 2001.

ALLEMAN, A.R.; CHRISTOPHER, M.M.; STEINER, D.A.; HOMER, B.L. Identification of intracytoplasmic inclusion bodies in mononuclear cells from the cerebrospinal fluid of dog with canine distemper. **Veterinary Pathology**, v.29, n. 1, p.84-85, 1992.

ALMEIDA, R.K., VASCONCELOS, A.C., CARNEIRO, R.A., PAES, P.R.O., MORO, L. Alterações citológicas do sangue periférico e da medula óssea de cães com cinomose. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.61, n.6, p.1255 –1260, 2009.

ALMONSNY, N.R.P. **Hemoparasitoses em Pequenos Animais Domésticos e como zoonoses**. Rio de Janeiro: ND-L. F.Livros, 2002.

ALMOSNY N.R.P.; MASSARD C.L. Erliquiose em pequenos animais domésticos e como zoonose, p.14-56. In: Ibid. (Eds), **Hemoparasitoses em Pequenos Animais Domésticos e como Zoonoses**. L.F. Livros, Rio de Janeiro, 2002.

ALVES, L.M.; CHAVES, N.S.T.; LINHARES, G.F.C.; CORREA, W.G.; MARTINS, A.P.; MENDONÇA, A.C. Comparação das técnicas da reação em cadeia da polimerase (PCR) e do esfregaço sanguíneo para o diagnóstico de Ehrlichia canis. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 29, Gramado. **Anais...Gramado**, 2002. 1CD-Rom.

AMARAL, M. T. Cinomose. Disponível em: <<http://www.homeopatiaveterinaria.com.br/cinomose>. 2005. Htm>. Acesso em 24 abril 2011.

AMUDE, A. M.; ALFIERI, A. A.; ALFIERI, A. F. Antemortem diagnosis of CDV infection by RT-PCR in distemper dogs with neurological deficits without the typical clinical presentation. **Veterinary Research ,Communication**, Netherlands, v. 30, n. 6, p. 679-687, 2006 (a).

AMUDE, A.M.; CARVALHO, G.A.; BALARIN, A.R.S.; ARIAS, M.V.B.; REIS, A.C.F.; ALFIERI A.A.; ALFIERI, A.F. Encefalomielite pelo vírus da cinomose canina em cães sem sinais sistêmicos da doença - estudos preliminares em três casos. **Clínica Veterinária**, São Paulo, v.60, p.60-66, 2006.

AMYX, H.L.; HUXSOLL, D.L.; ZEILER, D.C.; HILDEBRANDT, PK. Therapeutic and prophylactic value of tetracycline in dogs infected with the agent of tropical canine pancytopenia. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.159, n.11, p.1428-1432, 1971.

ANDEREG, P.I.; PASSOS, L.M.F. Erliquiose canina: a revisão. **Clínica Veterinária**, v.4, n. 19, p. 31-38, 1999.

ANDERSON, B. E.; DAWSON, J. E.; JONES, D. C.; WILSON, K. H. *Ehrlichia chaffeensis*, a new species associated with human ehrlichiosis. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 29, n. 12, p. 2838-2842, 1991.

ANDRADE, S.F.; SANTARÉM, V.A. Endoparasitocidas e ectoparasitocidas. In: ANDRADE, S.F. **Manual de terapêutica veterinária**. 2.ed. São Paulo: Roca, 2002. p.437-476.

ANTONIO, N.S.; OLIVEIRA, A.C.; ZAPPA, V. Babesia canis: relato de caso. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, ano VII, n.12, Janeiro de 2009.

APPEL, M.J., CARMICHAEL, L.E. Systemic viral diseases. In: CATCOTT, E.J. **Canine Medicine**. 4. ed. Santa Barbara: **American Veterinary Publications**, p. 17-48, 1979.

APPEL, M.J.; SHEK, W.R.; SUMMERS, B.A. Lymphocyte-mediated immune cytotoxicity in dogs infected with virulent canine distemper virus. **Infection and Immunity**, v.37, v.2, p.592-600, 1982.

APPEL, M.J.G. Cinomose. In: TILLEY, L.P.; SMITH, F.W.K. **Consulta Veterinária em 5 minutos-espécies canina e felina**. Barueri, São Paulo: Manole, 3ed, p.224-225, 2008, 1550p.

APPEL, M.J.G. Pathogenesis of canine distemper. **American Journal of Veterinary Research**, Chicago, v.30, n.7, p.1167-1182, 1969.

APPEL, M.J.G.; SUMMERS, B. A. Pathogenicity of morbilliviruses for terrestrial carnivores. **Veterinary Microbiology**, v. 44, p. 187-191, 1995.

APPEL, M.J.G.; SUMMERS, B.A. Canine distemper: current status. In: CARMICHAEL, L.E. Recent advances in canine infectious diseases. Ithaca, NY: **International Veterinary Information Service**, p. 6, 1999.

AQUINO, M.C.C.; ALMEIDA, B.F.M.; ZUCATTO, A.S.; FERREIRA, V.B.C.; SOUZA, J.C.; BOMFIM, S.R.M. Co-infecção por babesiose, erliquiose e cinomose diagnosticadas em esfregaço sanguíneo de um cão – Relato de caso. **Veterinária e Zootecnia**, v.18, Supl. 1, p.17, Botucatu, São Paulo, 2011.

AROCH, I.; HARRUS, S. The use of hematopoietic growth factors: recombinant human granulocyte colony stimulating factor and recombinant human erythropoietin in severe pancytopenia due to canine monocytic ehrlichiosis. **Israel Journal of Veterinary Medicine**, v. 56, p.65-69, 2001.

AYOUB, A.L.; KACKNER, S.G.; PRITTIE, J. Clinical management of canine Babesiosis. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, v. 20, p. 77–89, 2010.

BABES, V. Sur l'hémoglobulinurie bactérienne du boeuf. **Comptes Rendus Hebdomadaires des Seances de l'Académie des Sciences**, Paris, v.107, p.692-694, 1888.

BANETH, G.; WANER, T.; KOPLAH, A.; WEINSTEIN, S.; KEYSARY, A. Survey of *Ehrlichia canis* antibodies among dogs in Israel. **Veterinary Record**, v.138, n.11, p.257-259, 1996.

BANETH, G.; HARRUS, S.; OHNONA, F.S.; SCHLESINGER, Y. Longitudinal quantification of *Ehrlichia canis* in experimental infection with comparison to natural infection. **Veterinary Microbiology**, v.136, p.321–325, 2009.

BANETH, G.; BOURDEAU, P. BOURDOISEAU, G.; BOWMAN, D.; BREITSCHWERDT, E.; CAPELLI, G.; CARDOSO, L.; DANTAS-TORRES, F.; DAY, M.; DEDET, J.P.; DOBLER, G.; FERRER, L.; IRWIN, P.; KEMPF, V.; KOHN, B.; LAPPIN, M.; LITTLE, S.; MAGGI, R.; MIRÓ, G.; NAUCKE, T.; OLIVA, G.; OTRANTO, D.; PENZHORN, B.; PFEFFER, M.; ROURA, X.; SAINZ, A.; SHAW, S.; SHIN, S.S.; SOLANO-GALLEGU, L.; STRAUBINGER, R.; TRAUB, R.; TREES, A.; TRUYEN, U.; DEMONCEAU, T.; FITZGERALD, R.; GATTI, D.; JOE HOSTETLER, J.; KILMER, B.; KRIEGER, K.; MENCKE, N.; MENDÃO, C.; MOTTIER, L.; PACHNICKE, S.; REES, B.; SIEBERT, S.; STANNECK, D.; MINGOTE, M.T.; SIMSON, C. V.; WESTON, S. Vector-Borne Diseases - constant challenge for practicing veterinarians: recommendations from the CVBD World Forum. **Parasites & Vectors**, v.5, n.55, p.1-3, 2012.

BARBOSA, J. M.; PASSOS, R. F. B. Análise dos casos de cinomose no H. V. São Francisco de Assis da Faculdade Latino Americana. *Ensaios e Ciência: C. Biológicas, Agrárias e da Saúde*. Goiás, v.XII, n.1, p.139-150, nov. 2008.

BARBOSA, T. S.; VIEIRA, R. F.C.; VIOL, M.A.; SOEIRO, C.S.S.; BOMFI M, S.R.M.; CIARLINI, P.C. Avaliação laboratorial da cinomose canina – estudo retrospectivo de 25 casos no município de Araçatuba, SP. *Revista de Ciências Agroveterinárias*, Lages, v.10, n.2, p.113-118, 2011.

BARIĆ RAFAJ, R.; MRLJAK, V.; KUČER, N.; BRKLJAČIĆ, M.; MATIJATKO, V. Protein C activity in babesiosis of dogs. *Veterinarski arhi*, v. 77, p.1-8, 2007.

BARR, S.C. Erliquiose. In: TILLEY, L.P.; SMITH, F.W.K. **Consulta Veterinária em 5 minutos-espécies canina e felina**. São Paulo: Manole, 3ed, p.542-543, 2008, 1550p.

BASTOS, C. V.; MOREIRA, S. M.; PASSOS, L. M. Retrospective study (1998–2001) on canine babesiosis in Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil. *Annals of the New York Academy of Sciences*, v. 1026, p. 158-160, 2004.

BATHEN-NORTHEN, A.; STEIN, V.M.; PUFF, C.; BAUMGAERTNER, W.; TIPOLD, A. Magnetic resonance imaging findings in acute canine distemper virus infection. *Journal of Small Animal Practice*, v.49, p.460-467, September, 2008.

BATISTA, V.S.; MOURA, M.A.; REIS, R.R.R. et al. Ocorrência de corpúsculos de Sinegaglia-Lentz em esfregaços sanguíneos de 70 cães com suspeita clínica de cinomose. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*, v.7, p.115, 2000. Suplemento.

BAUMANN, G. Enfermidades virais: paramyxovírus. In: BEER, J. **Doenças infecciosas em animais domésticos**. 1.ed. São Paulo: Roca, 1999. 457p. Ortomixovírus e Paramixovírus. In: BEER, J. **Doenças infecciosas em animais Domésticos-vírus-clamídias-richettsias-micoplasmose**, 1a ed. São Paulo: Roca, 1988. Cap. 9, p. 120-166.

BAUMGARTNER, W.; BOYCE, RW.; ALLDINGER, S.; AXTHELM, M.K.; WEISBRODE, S.E.; KRAKOWKA, S.; GAEDKE, K. Metaphyseal bone lesions in Young dogs with systemic canine distemper virus infection. *Veterinary Microbiology*, v.44, n.2–4,p.201–209, 1995.

BECKER, C.A.M.; BOUJU-ALBERT, A.; JOUGLIN, M.; CHAUVIN, A.; MALANDRIN, L. Natural transmission of zoonotic *Babesia* spp. By *Ixodes ricinus* ticks. *Emerging Infectious Diseases journal*, v.15, p.320-322, 2009.

BEINEKE, A.; PUFF, C.; SEEHUSEN, F.; BAUMGÄRTNER, W. Pathogenesis and immunopathology of systemic and nervous canine distemper. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, v.127, n.1–2, p.1–18, 2009.

BENTUBO, H.D. L.; TOMAZ, M.A.; BONDAN, E.F.; LALLO, M.A. Expectativa de vida e causas de morte em cães na área metropolitana de São Paulo (Brasil). *Ciência Rural*, v.37, n.4, p.1021-1026, jul-ago, 2007.

BERRADA, Z.L.; TELFORD, S.R. Burden of tick-borne infections on American companion animals. **Topics in Companion Animal Medicine - Journal**, v.24, n.4, p.175–181, Nov, 2009.

BIRKENHEUER, A. J.; LEVY, M. G.; SAVARY, K. C. M.; GAGER, R. B.; BREITSCHWERDT, E. B. *Babesia gibsoni* infections in dogs from North Carolina. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 35, n. 2, p. 125-128, 1999.

BIRKENHEUER, A.J. Babesiose. In: TILLEY, L.P.; SMITH JR, F.W.K. **Consulta Veterinária em 5 minutos-Espécies canina e felina**, 3ª edição, Barueri, São Paulo: Manole, 2008, p. 146-147,1550p.

BIRKENHEUER, A.J. Babesiose. In: TILLEY, L.P.; SMITH, F.W.K. **Consulta Veterinária em 5 minutos-espécies canina e felina**. São Paulo: Manole, 3ed, p.146-147, 2008, 1550p.

BIRKENHEUER, A.J.; CORREA, M.T.; LEVY, M.G.; BREITSCHWERDT, E.B. Geographic distribution of babesiosis among dogs in the United States and association with dog bites: 150 cases (2000–2003). **Journal of the American Veterinary Association**, v. 277, p.942–947, 2005.

BIRKENHEUER, A.J.; LEVY, M.G.; BREITSCHWERDT, E.B. Development and evaluation of a seminested PCR for detection and differentiation of *Babesia gibsoni* (Asian genotype) and *B. canis* DNA in canine blood samples. **Journal of Clinical Microbiology**, v.41, p.4172-4177, 2003.

BIRKENHEUER, A.J.; NEEL, J.; RUSLANDER, D.; LEVY, M.G, BREITSCHWERDT, E.B. Detection and molecular characterization of a novel large *Babesia* species in a dog. **Veterinary Parasitology**, v.124, p.151-160, 2004.

BOLT, G.; JENSEN, T.D.; GOTTSCHALCK, E.; ARCTANDER, P.; APPEL, M.J.; BUCKLAND, R.; BLIXENKRONE-MØLLER, M. Genetic diversity of the attachment (H) protein gene of current field isolates of canine distemper virus. **Journal of General Virology**, v.78, (Pt. 2), p.367–372, 1997.

BOOZER, A. L.; MACINTIRE, D. K. Canine babesiosis. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal**, v. 33, n.4, p. 885-904, 2003.

BOOZER, L.; MACINTIRE, D. *Babesia gibsoni*: an emerging pathogen in dogs. **Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, v. 27, p.33–41, 2005.

BORBA, T.R., MANNIGEL, R.C., FRAPORTI, C.K.; HEADLEY, S.A.; SAITO, T.B. Cinomose: dados epidemiológicos Maringá – PR, (1998-2001), **Cesumar**, v.4, P.53-56, 2002.

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.

BORJERSSON, D. Ehrlichiosis: new perspectives on pathogenesis and diagnosis. **Proceedings 18th ACVIM**, Seattle, may, 2000.

BOTSCH, V.; KÜCHENHOFF, H.; HARTMANN, K.; HIRSCHBERGER, J. Retrospective study of 871 dogs with thrombocytopenia. **Veterinary Record**, v.164, p.647-651, 2009.

BOURDEAU, P.; GUELFY, J. F. La babesiose canine à *Babesia canis*. **Point Vétérinaire**, v.27, p.11-24, 1995.

BOURDOISEAU, G. Canine babesiosis in France. **Veterinary Parasitology**, v.138, p.118–125, 2006.

BRACCINI, G. L., E. L. CHAPLIN, N. S. STOBBE, F. A. P. ARAUJO, AND N. R. SANTOS. Protozoology and rickettsial findings of the laboratory of the Veterinary Faculty of the Federal University of Rio Grande Do Sul, Brazil, 1986-1990. **Arquivos da Faculdade de Veterinária**, UFRGS, v. 20, p.134-149, 1992.

BRANDÃO, L P.; HAGIWARA, M. K. Babesiose Canina – Revisão. **Clínica Veterinária**, v.41, p.50-59, 2002.

BRANDÃO, L. A cinomose canina pode ser controlada com vacinação e higiene. 2005. Disponível em: <<http://www.petbr.com.br/infor26.asp>>. Acesso em: 24 abril 2012.

BREITSCHWERDT, E. B. As riquetsioses. In: ETTINGER, S. J.; ; FELDMAN, E. C. **Tratado de Medicina Interna Veterinária**. 4 ed. São Paulo: Manole, 1997. Cap. 67. p. 543-553.

BREITSCHWERDT, E.B.; HEGARTY, B.C.; HANCOCK, S.I. Sequential evaluation of dogs naturally infected with *Ehrlichia canis*, *Ehrlichia chaffeensis*, *Ehrlichia equi*, *Ehrlichia ewingii* or *Bartonella vinsonii*. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 36, n. 9, p. 2645-2651, 1998.

BREMER, W. G.; SCHAEFER, J.J.; WAGNER, E.R.; EWING, S.A.; RIKIHISA, Y.; NEEDHAM, G.R.; JITTAPALAPONG, S.; MOORE, D.L.; STICH, R.W. Transstadial and intrastadial experimental transmission of *Ehrlichia canis* by male *Rhipicephalus sanguineus*. **Veterinary Parasitology**, v. 131, n. 1-2, p. 95-105, 2005.

BRIANTI, E.; PENNISI, M.G.; BRUCATO, G.; RISITANO, A.L.; GAGLIO, G.; LOMBARDO, G.; MALARA, D.; FOGLIAZZA, A.; GIANNETTO, S. Efficacy of the fipronil 10% + (S)-methoprene 9% combination against *Rhipicephalus sanguineus* in naturally infested dogs: speed of kill, persistent efficacy on immature and adult stages and effect of water. **Veterinary Parasitology**, v.170, p.96–103, 2010.

BROWMAN, D.D. **Georgis-Parasitologia Veterinária**. 9.ed, Cap.2, p.52 e 57, Elsevier: Rio de Janeiro, 2010.

BROWN, G.K.; CANFIELD, P.J.; DUNSTAN RH.; ROBERTS, T.K.; MARTIN, AR.; BROWN CS.; IRVING, R. Detection of *Anaplasma platys* and *Babesia canis vogeli* and their impact on platelet numbers in free-roaming dogs associated with remote Aboriginal communities in Australia. **Australian Veterinary Journal**, v.84, n.9, p.321-325, sep, 2006.

BULLA, C.; TAKAHIRA, R. K.; ARAUJO, JR. J. P.; CUSTODIO, M.; LOPES, R. S. Associação de *Ehrlichia platys* com *E. canis* em cães de regiões endêmicas. In: **Mostra Científica da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia- Unesp/Botucatu**, 6^o, p.31, 2002.

BULLA, C.; KIOMI, T. R.; PESSOA, A.J.JR.; APARECIDA, T.L.; SOUZA, L. R.; WIEDMEYER, C.E. The relationship between the degree of thrombocytopenia and infection with *Ehrlichia canis* in an endemic area. **Veterinary Research**, v. 35, n. 1, p. 141-146, 2004.

BUSH, B.M. **Interpretação de resultados laboratoriais para clínicos de pequenos animais**. São Paulo: Roca, 2004. 376p.

CACCIO, S.M.; ANTUNOVIC, B.; MORETTI, A, et al: Molecular characterisation of *Babesia canis canis* and *Babesia canis vogeli* from naturally infected European dogs. **Veterinary Parasitology**, v.106, p.285-292, 2002.

CALIC, S. B.; GALVÃO, M.A.; BACELLAR, F.; ROCHA, C.M.; MAFRA, C.L.; LEITE, R.C.; WALKER, D.H. Human ehrlichioses in Brazil: First suspect cases. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 8, n. 3, p. 259-262, 2004.

CAMPOS, K.C.H.; MACHADO, L.P.; SANTOS K.R.; TAKAHIRA, R.K.; LOPES, R.S.; SILVEIRA, V.F.; MATTOSO, C.R.S. Incidência de trombocitopenia em cães naturalmente infectados por *Babesia canis*. In **6^a Mostra Científica da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia-UNESP**. Botucatu. FMV-UNESP- Botucatu, p.56, 2002.

CARDOSO, L.; COSTA, A.; TUNA, J.; VIEIRA, L.; EYAL, O.; YISASCHAR-MEKUZAS, Y.; BANETH, G. 2008. *Babesia canis canis* and *Babesia canis vogeli* infections in dogs from northern Portugal. **Veterinary Parasitology**. v.156, p.199–204, 2008.

CARLI, E.; TASCA, S., TROTTA, M.; FURLANELLO, T.; CALDIN, M.; SOLANO-GALLEGO, L. 2009. Detection of erythrocyte binding IgM and IgG by flow cytometry in sick dogs with *Babesia canis canis* or *Babesia canis vogeli* infection. **Veterinary Parasitology**, v.162, p.51–57.

CARLOS, R.S.A.; MUNIZ NETA, E.S.; SPAGNOL, F.H.; OLIVEIRA, L.S.; BRITO, R.L.L.; ALBUQUERQUE, G.R.; ALMONSNY, N.R.P. Frequência de anticorpos anti-*Ehrlichia canis*, *Borrelia burgdoferi* e antígenos de *Dirofilaria immitis* em cães da microrregião de Ilhéus- Itabuana, Bahia, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 16, p. 117-120, 2007.

CARRÉ, H. On the disease of young dogs. **Comp. Rev. Acad. Sci.** v.140, p. 689-690, 1905.
 CARRET, C.; WALAS, F.; CARCY, B.; CARCY, B.; GRANDE, N.; PRÉCIGOUT, E.; MOUBRI, K.; SCHETTERS, T.P.; GORENFLOT, A. *Babesia canis canis*, *Babesia canis vogeli*, *Babesia canis rossi*: differentiation of the three subspecies by a restriction fragment length polymorphism analysis on amplified small subunit ribosomal RNA genes. **Journal of Eukaryotic Microbiology**, v.46, p.298-303, 1999.

CARRILO, B. J.; REZENDE, H. E. B.; MASSARD, C. L. Ehrlichiose canina no Estado do Rio de Janeiro, Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, v. 15, 1976. **Anais...** Rio de Janeiro: Tipografia Baptista de Souza - Editores, 1978. p. 162.

CARTWRIGHT, E.J.; GORDON, M.T.; FREEMONT, A.J.; ANDERSON, D.C.; SHARPE, P.T. Paramyxovirus and Paget's disease. **Journal of Medicine Virology**, v.40, p.133-141, 1993.

CARVALHO, F. S.; WENCESLAU, A.A.; CARLOS, R.S.; ALBUQUERQUE, G.R. Epidemiological and molecular study of *Ehrlichia canis* in dogs in Bahia, Brazil. **Genetic and Molecular Research**, v. 7, n. 3, p. 657-662, 2008.

CASTRO, M.B. **Alterações clínicas, anatomopatológicas e imunopatológicas na erliquiose aguda experimental em cães.** 1997. 97f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP.

CASTRO, M.B.; MACHADO, R.Z.; AQUINO, L.P.C.T.; ALESSI, A.C.; COSTA, M.T. Experimental acute canine monocytic ehrlichiosis: clinicopathological and immunopathological findings. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 119, p. 73-86, 2004.

CATROXO, M. H. B. **Biológico**, v.65, n.1/2, p.1-2, jan./dez., São Paulo, 2003.

CFSPH [Center for Food Security and Public Health]. Iowa State University. College of Veterinary Medicine. (2005a). *Animal Disease Factsheets: Ehrlichiosis*. Ames, Iowa: Iowa State University. Acedido em Fev. 1, 2013, disponível em: http://www.ivis.org/advances/Disease_Factsheets/ehrlichiosis.pdf

CHAUVIN, A.; MOREAU, E.; MALANDRIN, L. *Babesia* and its hosts: adaptation to long-lasting interactions as a way to achieve efficient transmission. **Veterinary Research**, v.40, p.37, 2009.

CHRISMAN, C.L. Cerebrospinal fluid analysis. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v.22, p.781-807, 1992.

CODNER, E. C., ROBERTS, R. E. & AINSWORTH, A. G. Atypical findings in 16 cases of canine ehrlichiosis. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 186, p.166-169, 1985.

COHN, L.A. Ehrlichiosis and related infections. **The Veterinary Clinics – Small Animal Practice**, v.33, p.863-884, 2003.

COLLETT, M. G. Survey of canine babesiosis in South Africa. **Journal of the South African Veterinary Association**, v. 71, n. 3, p. 180-186, 2000.

COOK, S. D.; DOWLING, P. C.; RUSSELL, W. C. Multiple sclerosis and canine distemper. **Lancet**, London, v. 1, p. 605-606, 1978.

CORNWELL, H.J.C.; VANTSIS; J.T; CAMPBELL, R.S.F. et al. Studies in experimental canine distemper. II. Virology, inclusion body studies and haematology **Journal of Comparative Pathology**, v.75, p.19-35, 1965.

CORREA, W. M.; CORREA, C. M. **Enfermidades infecciosas dos mamíferos domésticos**. 2. ed. Rio de Janeiro: MEDSI, 1992.

COSTA JR, L.M.; REMBECK, K.; RIBEIRO, MF.; BEELITZ, P.; PFISTER, K.; PASSOS, LM. Sero-prevalence and risk indicators for canine ehrlichiosis in three rural areas of Brazil. **The Veterinary Journal**, v. 174, n. 3, p. 673-6, 2007.

COSTA, J. O.; BATISTA JÚNIOR, J.A.; SILVA, M.; GUIMARÃES, P.M. *Ehrlichia canis* infection in dog in Belo Horizonte, Brazil. **Arquivos da Escola de Veterinária da UFMG**, v. 25, p. 199-200, 1973.

COSTA, P. S. G.; VALLE, L.M.; BRIGATTE, M.E.; GRECO, D.B. More about human monocytotropic ehrlichiosis in Brazil: serological evidence of nine new cases. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 10, n. 1, p. 7-10, 2006.

COSTA, P. S. G.; BRIGATTE, M. E.; GRECO, D. B. Antibodies to *Rickettsia rickettsii*, *Rickettsia typhi*, *Coxiella burnetii*, *Bartonella henselae*, *Bartonella quintana*, and *Ehrlichia chaffeensis* among healthy population in Minas Gerais, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 100, n. 8, p. 853-859, 2005.

COSTA-JÚNIOR, L. M., RIBEIRO, M. F. B., REMBECK, K., RABELO, E. M. L., ZAHLER-RINDER, M., HIRZMANN, J., PFISTER, K., PASSOS, L. M. F. Factors associated with seroprevalence of canine babesiosis caused by *Babesia vogeli* in rural areas of the State of Minas Gerais, Brazil. **Research in Veterinary Science**, v.86, p.257–260, 2009.

CURTI, M.C.; ARIAS, M.V.B.; ZANUTTO, M.S. Avaliação de um *kit* de imunoenensaio cromatográfico para detecção do antígeno do vírus da cinomose em cães com sinais sistêmicos ou neurológicos da doença. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 33, n. 6, p. 2383-2390, nov./dez. 2012.

D'AGNONE, A.S. **Caracterização molecular de espécies da Família Anaplasmataceae em leucócitos e plaquetas de cães de Jaboticabal-SP e de Campo Grande-MS**. Tese de Doutorado, Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2006,118p.

DAGNONE, A. S.; BRUM, A. M.; SEIKI, M. C.; PASCON, J. P. E.; FARIA, J. L. M.; SILVA, V. L. D.; SANTANA, A. E.; TINUCCI-COSTA, ; R.Z. MACHADO. Diagnóstico molecular da erliquiose canina. In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA E I SIMPÓSIO LATINO- AMERICANO DE RICKETTSIOSES**, Ouro Preto, MG, 2004.

DAGNONE, A. S.; MORAIS, H. S. A.; 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**, v. 117, n. 4, p. 285-290, 2003.

DAGNONE, A.S.; MORAIS, H. A.; VIDOTTO, M.C. Erliquiose nos animais e no homem. **Ciências Agrárias**, v. 22, p. 191-201, 2001.

DANTAS-TORRES, F. The brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae): from taxonomy to control. **Veterinary Parasitology**, v.152, p.173-185, 2008.

DANTAS-TORRES, F.; FAUSTINO, M. A. G.; ALVES, L. C.; Coinfection by *Anaplasma platys*, *Babesia canis* and *Ehrlichia canis* in a dog from Recife, Pernambuco, Brazil: case report. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 13, n. 1, p. 371, 2004a.

DANTAS-TORRES, F.; FIGUEREDO, L. A.; BRANDÃO-FILHO, S.P. *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae), the Brown dog tick, parasitizing humans in Brazil. **Revista Brasileira da Sociedade Brasileira de medicina Tropical**, v. 39, n.1, p.64-67, 2006.

DANTAS-TORRES.; F.; FIGUEREDO, L.A (2006) Canine babesiosis: a Brazilian perspective. **Veterinary Parasitology**, v. 141, p.197-203, 2006a.

DANTAS-TORRES.; FIGUEREDO, L.A.; FAUSTINO, M.A.G. Ectoparasitos de cães provenientes de alguns municípios da região metropolitana do Recife, Pernambuco, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária.**, v.13, n.4, p.151-154, 2004.

DAWSON, J.E.; ANDERSON, B.E.; FISHBEIN, D.B.; SANCHEZ, J.L.; GOLDSMITH, C. S.; WILSON, K.H.; DUNTLEY, C.W. Isolation and characterization of an *Ehrlichia* sp. from a patient diagnosed with human ehrlichiosis. **Journal of Clinical Microbiology**, v.29, n.12, p. 2741-2745, Dec. 1991.

DE CAPRARIIS, D.; DANTAS-TORRES, F.; CAPELLI, G.; MENCHE, N.; STANNECK, D.; BREITSCHWERDT, E.B.; OTRANTO, D. Evolution of clinical, haematological and biochemical findings in young dogs naturally infected by vector-borne pathogens. **Veterinary Microbiology**, v. 149, p. 206–212, 2011.

DEEM, S. L.; SPELMAN, L. H.; YATES R. A.; MANTOLI, R. J. Canine distemper in terrestrial carnivores: a review. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**. Lawrence, v. 31, n. 4, p. 441-451, dez. 2000.

DELL'PORTO, A.; OLIVEIRA, M.R.; MIGUEL, O. *Babesia canis* in stray dogs from the city of São Paulo comparative studies between the clinical and hematological aspects and the indirect fluorescence antibody test. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 2, p. 37-40, 1993.

DEPLAZES, P.; STAEBLER, S.; GOTTSTEIN, B. Travel medicine of parasitic diseases in the dog. **Schweiz Arch Tierheilkd**, v. 148, n.9, p.447-461, 2006.

DEZENGRINI, R.; WEIBLEN, R.; FLORES, E. F. Soroprevalência das infecções por parvovírus, adenovírus, coronavírus canino e pelo vírus da cinomose em cães de Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 37, n. 1, p. 183-189, 2007.

DONATIEN, A.; LESTOQUARD, F. Existente in Algérie d'une *Rickettsia* du chien. **Bulletin de la Societe de pathologie exotique**, v. 28, p. 418-419, 1935.

DORAN, T.I.; PARMLEY R.T.; LOGAS P.C.; CHAMBLIN, S. Infection with *Ehrlichia canis* in a child. **The Journal of Pediatrics**, v.114, n.05, p.809-812, 1989.

DUARTE, S.C.; LOULY, C. C.B.; NETO, O. J. S.; ROMANOWSKI, T.N.A.; JUNIOR, R.S.L.; LINHARES, G.F.C. Diagnóstico parasitológico e molecular da babesiose canina na cidade de Goiânia-Go. **Revista de Patologia Tropical**, v. 37, n. 3, p. 229-236. jul.-set. 2008.

DUBIELZIG, R.; HIGGINS, R.J.; KRAKOWKA, S. Lesions of the enamel organ of developing dog teeth following experimental inoculation of ginotobiotic puppies with canine distemper virus. **Veterinary Pathology**, v.18, n.5, p.684-689, sep,1981.

DUH, D.; PETROVEC, A.; BIDOVEC, T.; AVSIC-ZUPANC. Cervids as *Babesiae* hosts, Slovenia. **Emerging Infectious Diseases journal**, v.11, p. 1121-1123, 2005.

DUMLER, J. S.; BARBET, A. F.; BEKKER, C.P.; DASCH, G. A.; PALMER, G. H.; RAY, S. C.; RIKIHISA, Y.; RURANGIRWA, F. R. Reorganization of genera in the families Rickettsiaceae and Anaplasmataceae in the order Rickettsiales: unification of some species of *Ehrlichia* with *Anaplasma*, *Cowdria* with *Ehrlichia* and *Ehrlichia* with *Neorickettsia*, descriptions of six new species combinations and designation of *Ehrlichia equi* and 'HE agent' as subjective synonyms of *Ehrlichia phagocytophila*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 51, n. 6, p. 2145-2165, 2001.

EK-KOMMONEN, C.; SIHVONEN, L.; PEKKANEN, K.; RIKULA, U.; NUOTIO, L. Outbreak off canine distemper in vaccinated dogs in Finland. **Veterinary Records**, London, v. 141, n. 15, p. 380-383, 1997.

ELIA, G.; BELLOLI, C.; CIRONE, F.; LUCENTE, M. S.; CARUSO, M.; MARTELLA, V.; DECARO, N.; BUONAVOGLIA, C.; ORMAS, P. In vitro efficacy of ribavirin against canine distemper virus. **Antiviral Research**, 2008. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com.html> >. Acesso em: novembro, 2013.

ELIAS, E. Diagnosis of ehrlichiosis from the presence of inclusion bodies or morulae of *E. canis*. **Journal of Small Animal Practice**, v. 3, p.540-543, 1992.

ENG, T.R.; HARKESS, J.R.; FISHBEIN, D.B.; DAWSON, J.E.; GREENE, C.N.; REDUS, M.A.; SATALOWICH, F.T. Epidemiologic, Clinical, and Laboratory Findings of Human Ehrlichiosis in The United States, 1988. **Journal of American Medical Association**, v.264, n.17, p.2251-2258, 1990.

ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. **Tratado de Medicina Interna Veterinária - moléstias do cão e do gato**. 4a Ed. São Paulo: Manole, 1997. Cap. 82, p. 819-889.

ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. **Tratado de Medicina Interna Veterinária - Moléstias do cão e do gato**. 5.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. 2156p.

EWING, S. A. Canine ehrlichiosis, **Advances in Veterinary Science and Comparative Medicine**, v. 13, p. 331-353, 1969.

FARIA, J. L. M.; DAGNONE, A.S.; MUNHOZ, T.D.; JOÃO, C.F.; PEREIRA, W.A.; MACHADO, R.Z.; TINUCCI-COSTA, M. *Ehrlichia canis* morulae and DNA detection in whole blood and spleen aspiration samples. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 19, n. 2, p. 98-102, 2010.

FARROW, B.R.H., LOVE, D.N. Bacterial, viral and other infectious problems. In: ETTINGER, S.J. **Textbook of veterinary internal medicine. Diseases of the dog and cat.** 2. ed. Philadelphia: Saunders, 1983. Cap. 27. p. 269-319.

FELDMAN, B.F.; ZINKL, J.G.; JAIN, N.C. **Schalm's veterinary hematology.** 5.ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2000. 787p.

FENNER, F.J.; GIBBS, E.P.J.; MURPHY, F.A. **Veterinary virology.** 2.ed. Califórnia: Academic, 1993.

FENNER, W. R. Moléstias do cérebro. In: ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. **Tratado de Medicina Interna Veterinária - moléstias do cão e do gato.** 4a Ed. São Paulo: Manole, 1997. Cap. 82, p. 819-889.

FENNER, W.R. Doenças do cérebro, p.586-638. In: Ettinger S.J. & Feldman E.C. (ed.), **Tratado de Medicina Interna Veterinária: doenças do cão e do gato.** 5ª ed. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 2004, 2156p.

FERNANDES, E.K.; BITTENCOURT, V.R. Entomopathogenic fungi against South American tick species. **Experimental and Applied Acarology**, v.46, p.71–93, 2008.

FERNÁNDEZ, V. L.; BERNARDINI, M. **Neurologia em cães e gatos.** São Paulo: Medvet, 2010.

FIGHERA, R.A.; SOUZA, T.M.; SILVA, M.C.; BRUM, J. S.; GRAÇA, D. L.; KOMMERS, G. D.; IRIGOYEN, L. F.; BARROS, C. S. L. Causas de morte e razões para eutanásia de cães da Mesorregião do Centro Ocidental Rio-Grandense (1965-2004). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v.28, n.4, p. 223-230, 2008.

FISHBEIN, D.B.; KEMP, A.; DAWSON, J.E.; GREENE, N.R.; REDUS, M.A.; FIELDS, D. H. Human Ehrlichiosis: Prospective Active Surveillance in Febrile Hospitalized Patients. **The Journal of Infectious Diseases**, v.160, n.5, p.803-809, 1989.

FISHBEIN, D.B.; SAWYER LA.; HOLLAND, C.J.; HAYES, E.B.; OKOROANYANWU, W.; WILLIAMS, D.; SIKES, K.; RISTIC, M.; MCDADE, J.E. Unexplained febrile illnesses after exposure to ticks. Infection with an Ehrlichia? **Journal of American Medical Association**, v.257, n. 22, p.3100–3104, Jun,1987.

FISHER, C. A.; JONES, G. T. Optic neuritis in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v 160, n.1, p.68-79, Jan, 1972.

FLORES, E.F. **Virologia Veterinária.** 1ed, Cap. 11, p.297, 298, 300, Universidade de Santa Maria: Santa Maria, 2007.

FOURIE, J.J.; OLLAGNIER, C.; BEUGNET, F.; HERMAN G. LUUS, H.G.; JONGEJAN, F. Prevention of transmission of *Ehrlichia canis* by *Rhipicephalus sanguineus* ticks to dogs treated with a combination of fipronil, amitraz and (S)-methoprene (CERTIFECT®). **Veterinary Parasitology**, v.193, p. 223– 228, 2013.

FRANC, M.; CADIERGUES, M.C. Activity of a deltamethrin shampoo against *Ctenocephalides felis* and *Rhipicephalus sanguineus* in dogs. **Veterinary Parasitology**, v. 81, p.341–346, 1999.

FRANK, J.R.; BREITSCHWERDT, E.B. A retrospective study of ehrlichiosis in 62 dogs from North Carolina and Virginia. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.13, p.194–201, 1999.

FRISK, A.L.; KONIG, M.; MORITZ, A.; BAUMGARTNER, W. Detection of canine distemper virus nucleoprotein RNA by reverse transcription-PCR using serum, whole blood, and cerebrospinal fluid from dogs with distemper. **Journal of Clinical Microbiology**, v.37, p.3634-3643, 1999.

FUKUMOTO, S.; SUZUKI, H.; IGARASHI, I.; XUAN, X. Fatal experimental transplacental *Babesia gibsoni* infections in dogs. **International Journal for Parasitology**, v. 35, p.1031–1035, 2005.

FUKUMOTO, S.; XUAN, S.X.; SHIGENO, E.S.; KIMBITA, I.; IGARASHI, H.; NAGASAWA, K.; FUJISAKI, T.; MIKAMI, T.; XUAN, X. Development of a polymerase chain reaction method for diagnosing *Babesia gibsoni* infection in dogs. **Journal of Veterinary Medical Science**, v.63, n. 9, p.977-981, 2001.

FURLANELLO, T.; FIORIO, F.; CALDIN, M.; LUBAS, G.; SOLANO-GALLEGO, L. Clinicopathological findings in naturally occurring cases of babesiosis caused by large form *Babesia* from dogs of northeastern Italy. **Veterinary Parasitology**, v.134, p.77–85, 2005

FURUTA, P.I.; OLIVEIRA, T.M.F.S.; TEIXEIRA, M.C.A.; ROCHA, A.G.; MACHADO, R.Z.; TINUCCI-COSTA, M. Comparison between a soluble antigen-based ELISA and IFAT in detecting antibodies against *Babesia canis* in dogs. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.18, n.3, p.41-45, 2009.

GAL, A.; HARRUS, S.; ARCOH, I.; LAVY, E.; AIZENBERG, I.; MEKUZAS-ISASCHAR, Y.; BANETH, G. Coinfection with multiple tick-borne and intestinal parasites in a 6-week-old dog. **Canadian Veterinary Journal**, v. 48, p. 619-622, 2007.

GAL, A.; LOEB, E.; YISASCHAR-MEKUZAS, Y.; BANETH, G. Detection of *Ehrlichia canis* by PCR in different tissues obtained during necropsy from dogs surveyed for naturally occurring canine monocytic ehrlichiosis. **The Veterinary Journal**, v. 175, p. 212–217, 2008.

GALVÃO, M.A.M.; LAMOUNIER, J.A.; BONOMO, E.; TROPIA, M.S.; REZENDE, E.G.; CALIC, S.B.; CHAMONE, C.B.; MACHADO, M.C.; OTONI, M.E.A.; LEITE, R.C.; CARAM, C.; MAFRA, C.L.; WALKER, D.H. Rickettsioses emergentes e reemergentes numa região endêmica do Estado de Minas Gerais, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 18, n. 6, p. 1593-1597, 2002.

GAMA, F.G.V.; NISHIMORI, C.T.; SOBREIRA, M.R.; SANTANA, A.E. Evaluation of electrophoretic profile and albumin quota in the cerebrospinal fluid of dogs with distemper showing or not nervous signs. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.59, n.1, p.77-80, 2007.

GARDNER, S. L.; HOLMAN, R.C.; KREBS, J.W.; BERKELMAN, R.; CHILDS, J.E. National surveillance for the human ehrlichioses in the United States, 1997-2001, and

proposed methods forevaluation of data quality. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 990,p. 80-89, 2003.

GARRIS, G.I. Control of ticks. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v.21, p.173–183, 1991.

GAUNT, S.D.; CORSTVET, R.E.; BERRY, C.M.; BRENNAN, B. Isolation of *Ehrlichia canis* from dogs following subcutaneous inoculation. **Journal of Clinical Microbiology**, v.34, n.6, p. 1429-1432, Jun, 1996.

GEBARA, C.M.S. **Achados clínicos e histopatológicos em cães com diagnóstico molecular do vírus da cinomose canina**. 2002. 94f. Dissertação (Mestrado em Sanidade Animal). Centro de Ciências Agrárias, UEL – Londrina, PR, 2002.

GEBARA, C.M.S.; WOSLACKI, S.R.; NEGRÃO, F.J.; ALFIERI, A.A.; ALFIERI, A.F. Lesões histológicas no sistema nervoso central de cães com encefalite e diagnóstico molecular da infecção pelo vírus da cinomose canina. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.56, 2, p.168 –174, 2004.

GENCHI, C. Ecology and epidemiology of tick-borne diseases: which role for the control?. **Parassitologia**, v.48, n. (1-2), p.137-138, 2006.

GLASER, B.; GOTHE, R. Imported arthropod-borne parasites and parasitic arthropods in dogs. Species spectrum and epidemiologic analysis of the cases diagnosed in 1995/96. **Tierärztliche Praxis Ausgaber K Kleintiere/ Heimtiere**, v. 26, n. 1, p.40-46, 1998.

GOLDEN, S.E.; SPRINGFIELD, M.O. Aseptic meningitis associated with *Ehrlichia canis* infection. **The Pediatric Infectious Diseases Journal**, v. 8, n. 5, p.335-337, 1989.

GORDON, M.T.; BELL, S.C.; MEE, A.P.; MERCER, S.; CARTER, S.D.; SHARPE, P.T. Prevalence of canine distemper antibodies in the Pagetic population. **Journal of Medicine Virology**, v.40, p. 313-317, 1993.

GORENFLOT, A.; MOUBRI, K.; PRECIGOUT, E.; CARCY, B.; SCHETTERS, T. P. M “Human babesiosis,” **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, v. 92, n. 4, p. 489–501, 1998.

GOSSETT, K.A.; MACWILLIAMS, P.S.; FULTON, R.W. Viral inclusions in hematopoietic precursors in a dog with distemper. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.181, p.387-388, 1982.

GOUVEIA, A. M. G.; MAGALHÃES, H. H.; RIBEIRO, A. L. Cinomose canina: ocorrência em animais vacinados e distribuição por faixa etária. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 39, n. 4, p. 539-545, 1987.

GRAY, J.; A. ZINTL, A.; HILDEBRANDT, A.; HUNFELD, K.P.; WEISS, L. Zoonotic babesiosis: overview of the disease and novel aspects of pathogen identity **Ticks and Tick-borne Diseases Journal**, v. 1, p. 3–10, 2010.

GREENE ,C.E.; SCHULTZ , R.D. Immunoprophylaxis, p.1069-1119. In: Greene C.E. (ed.), **Infectious Diseases of the Dog and Cat**. 3rd ed. Saunders Elsevier, St Louis, 2006, 1387p.

GREENE, C. E.; HARVEY, J. W. Canine ehrlichiosis. In: GREENE, C. E. **Clinical Microbiology and Infectious Diseases of the Dog and Cat**. Philadelphia: W.B. Saunders, p. 545–561, 1990.

GREENE, C.E. **Clinical microbiology and infectious disease of the dog and cat**. Philadelphia: Saunders, 1984, 967p.

GREENE, C.E.; APPEL, M.J.. Canine Distemper, p.25-41. In: Greene C.E. (ed.), **Infectious Diseases of the Dog and Cat**. 3th ed. Elsevier, St Louis, 2006, 1387p.

GRINDEM, C.B.; NEEL, J.A.; JUOPPERI, T.A. Citology of Bone Marrow. **The Veterinary Clinics of Small Animal Practice**, v.32, n.6, p.1313-1374, 2002.

GRÖNE, A.; ENGELHARDT, P.; ZURBRIGGEN, A. Canine distemper virus infection: Proliferation of canine footpad keratinocytes. **Veterinary Pathology**, v. 40, p.574-578, 2003.

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

GUELFY, J. F.; CANDEBAT, D. Variations de l' hémogramme en fonction de l' ancienneté des symptômes chez les chiens adultes atteints de babesiose äigue spontanée. **Revue de Médecine Vétérinaire**, v.149, p.65-68, 1998.

GUILLAUME, B.; HEYMAN, P.; LAFONTAINE, S.; VANDENVELDE, C.; DELMÉE, M.; BIGAIGNON, G. Seroprevalence of human granulocytic ehrlichiosis infection in Belgium. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, v. 21, n. 5, p. 397-400, 2002.

GUIMARÃES, A. M.; OLIVEIRA, T. M. F. S.; SANTA ROSA, I. C. A. Babesiose canina: uma visão dos clínicos veterinários de Minas Gerais. **Clínica Veterinária**, ano 8, n. 41, p. 60-68, 2002.

GUIMARÃES, J. C.; ALBERNAZ, A. P.; MACHADO, J. A.; JUNIOR, O. A. M.; GARCIA, L. N. N. Aspectos clínico-laboratoriais da babesiose canina na cidade de Campos do Goytacazes, RJ. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.13, (Supl.1), p.229, 2004.

HAGIWARA M. K.; YAMAGA, A. S. Infecção experimental de cães por *Babesia canis*. II. Estudo das alterações da coagulação sanguínea. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 39, n.5757-770, 1987.

HAGIWARA, M. K.; HOLZCHUH, M. P. Infecção experimental de cães por *Babesia canis*. I. Avaliação de leucograma durante a evolução da doença. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 39, n.5, p. 745-755, 1987.

HARIKRISHNAN, T.; PAZHANIVEL, N.; CHELLAPPA, J. Concomitant *Babesia gibsoni* and *Ehrlichia canis* infection in a dog. **Journal Veterinarski Arhiv**, Chennai, v. 75, n. 6, p. 513-520, 2005.

HARKESS, J. Ehrlichiosis: a cause of bone marrow hypoplasia in humans. **American Journal of Hematology**, v. 30, p. 265-267, 1989.

HARRUS, S.; DAY, M.J.; WANER, T.; BARK, H. Presence of immune-complexes, and absence of antinuclear antibodies, in sera of dogs naturally and experimentally infected with *Ehrlichia canis*. **Veterinary Microbiology**, v.83, n.4, p.343-349, 2001.

HARRUS, S.; KENNY, M.; MIARA, L.; AIZENBERG, I.; WANER, T.; SHAW, S. Comparison of simultaneous splenic sample PCR with blood sample PCR for diagnosis and treatment of experimental *Ehrlichia canis* infection. **Antimicrobial agents and chemotherapy**. Online ISSN 1098-6596., v. 48, n.11, p.4488–4490, 2004.

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

HARRUS, S.; WANER, T.; BARK, H. Canine monocytic ehrlichiosis update. **Compendium for Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, v.19, p. 431–444, 1997.

HARRUS, S.; WANER, T.; BARK, H.; JONGEJAN, F.; CORNELISSEN, A.W. Recent advances in determining the pathogenesis of canine monocytic ehrlichiosis. **Journal Clinical Microbiology**, v.37, p.2745–2749, 1999.

HARRUS, S.; WANER, T.; KEYSARY, A.; AROCH, I.; VOET, H.; BARK, H. Investigation of splenic functions in canine monocytic ehrlichiosis. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 62, n.1, p.15-27, 1998.

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

HASS, R.; JOHANN, J. M.; CAETANO, C. F.; FISCHER, G., VARGAS, G. D.; VIDOR, T.; HÜBNER, S. O. Níveis de anticorpos contra o vírus da cinomose canina e o parvovírus canino em cães não vacinados e vacinados. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.60, n. 1, Belo Horizonte, fev. 2008.

HATCHER, J.C.; GREENBERG, P.D.; ANTIQUE, J.; JIMENEZ- LUCHO, V.E. “Severe babesiosis in Long Island: review of 34 cases and their complications,” **Clinical Infectious Diseases**, v. 32, n. 8, p. 1117–1125, 2001.

HAWKINS, E. C. Afecções do sistema respiratório inferior. In: ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. **Tratado de Medicina Interna Veterinária – Moléstia do cão e gato**. 4a Ed. São Paulo: Manole, 1997. Cap. 89. p. 1080 –1142.

HEADLEY, S. A.; ALFIERI, A. A.; FRITZEN, J. T. T.; GARCIA, J. L.; WEISSENBOCK, H.; SILVA, A. P.; BODNAR, L.; OKANO, W.; ALFIERI, A. F. Concomitant canine distemper, infectious canine hepatitis, canine parvoviral enteritis, canine infectious tracheobronchitis, and toxoplasmosis in a puppy. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.25, n.1, p.120-135, 2013.

HEADLEY, S.A.; AMUDE, A.M.; ALFIERI, A.F.; BRACARENSE, A.P.F.R.L.; ALFIERI, A.A. Epidemiological features and the neuropathological manifestations of canine distemper virus-induced infections in Brazil: a review. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 33, n. 5, p. 1945-1978, set/out. 2012.

HEADLEY, S.A.; GRAÇA, D.L. Canine distemper: epidemiological findings of 250 cases. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 37, p.136-140, 2000.

HIGGINS, R. J.; KRAKOWKA, S.; METZLER, A.E.; KOESTNER, A. Canine distemper virus – associated cardiac necrosis in the dog. **Veterinary Pathology**, v. 18, p. 472-486, 1981.

HOMEM, V.S.F.; MENDES, Y.G.; LINHARES, A.C. Gastreenterite canina - agentes virais nas fezes de cães diarreicos e não diarreicos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.51, p.531-536, 1999.

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

HOSKINS, J.D. Doenças virais caninas. In: ETTINGER, S.J. **Tratado de Medicina Interna Veterinária: doenças do cão e do gato**. 5.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. 2156p.

HOSKINS, J.D. **Veterinary clinics of North America**. Philadelphia: Saunders Company, 1991, v.21, n.1, 201p.

HUA P.; YUHAI, M.; SHIDE, T.; YANG, S.; BOHAI, W.; XIANGRUI, C. Canine ehrlichiosis caused simultaneously by *Ehrlichia canis* and *Ehrlichia platys*. **Microbiology and Immunology**, v. 44, p.737–739, 2000.

HUNFELD, K.P.; HILDEBRANDT, A.; GRAY, J.S. Babesiosis: recent insights into an ancient disease. **International journal for parasitology**, v. 38, n.11, p.1219-1237, 2008.

HUNTER, J.S.; BAGGOTT, D.; EVERETT, W. R.; FOURIE, J.J.; CRAMER, L.G.; STEPHEN S. YOON.; NADIA COLLIDOR.; MALLOUK, Y.; LEE, L.; BLAIR, J.; PRULLAGE, J. B. Efficacy of a novel topical combination of fipronil, amitraz and (S)-methoprene for treatment and control of induced infestations of brown dog ticks (*Rhipicephalus sanguineus*) on dogs. **Veterinary Parasitology**, v. 179, p.318-323, 2011.

HUXSOLL, D. L.; HILDEBRANDT, P. K.; NIMS, R. M.; WALKER, T. S. Tropical canine pancytopenia. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 157, n. 11, p. 1627-1632, 1970.

INOKUMA, H.; OHASHI M.; JILINTAI.; TANABE, S.; MIYAHARA, K. Prevalence of tick-borne *Rickettsia* and *Ehrlichia* in *Ixodes persulcatus* and *Ixodes ovatus* in Tokachi district, Eastern Hokkaido, Japan. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 69, n. 6, p. 661-664, 2007.

INOKUMA, H.; OKADA, M.; YOSHIZAKI, Y.; HIRAOKA, H.; MIYAMA, T.; ITAMOTO, K.; UNE, S.; NAKAICHI, M.; TAURA, Y. Clinical observation of *Babesia gibsoni* infection

with low parasitaemia confirmed by PCR in dogs. **Veterinary Record**, v.156, n.1, p. 116 – 118, 2005.

INOKUMA, H.; RAOULT, D.; BROUQUI, P. Detection of *Ehrlichia platys* DNA in brown dog ticks (*Rhipicephalus sanguineus*) in Okinawa Island, Japan. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 38, n. 11, p. 4219-4221, 2000.

IONITA, M.; MITREA, I.L.; PFISTER, K.; HAMEL, D.; BUTATU, C.M.; SILAGHI. Canine babesiosis in Romania due to *Babesia canis* and *Babesia vogeli*: a molecular approach. **Parasitology Research**, v. 110, p. 1659-1664, 2012.

IQBAL, Z.; CHAICHANASIRIWITHAYA, W.; RIKIHISA, Y. Comparison of PCR with other test for early diagnosis of canine ehrlichiosis. **Journal of Clinical Microbiology**, v.32, n. 7, p.1658-63, 1994.

IQBAL, Z.; RIKIHISA, Y. Application of the polymerase chain reaction for the detection of *Ehrlichia canis* in tissues of dogs. **Veterinary Microbiology**, v. 42, n. 4, p. 281-287, 1994.

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

IRWIN, P. J. Canine babesiosis. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v.40, p.1141-1156, 2010.

IRWIN, P.J. Canine babesiosis: from molecular taxonomy to control. **Parasites & Vectors**, v. 2 (Suppl. 1), S4, p. 1-9, 2009.

IRWIN, P.J.; JEFFERIES, R. Arthropod-transmitted diseases of companion animals in Southeast Asia. **Trends Parasitol**, v.20, p.27-34, 2004.

IWATSUKI, K.; OKITA, M.; OCHIKUBO, F.; GEMMA, T.; SHIN, Y.S.; MIYASHITA, N.; MIKAMI, T.; KAI, C. Immunohistochemical analysis of the lymphoid organs of dogs naturally infected with canine distemper virus. **Journal of Comparative Pathology**, v.113, n.2, p.185–190, 1995.

JACOBSON, L. S.; CLARK, I. A. The pathophysiology of canine babesiosis: new approaches to an old puzzle. **Journal of South African Veterinary Association**, Petroria, v. 65, n. 3, p. 134-145, September 1994.

JAIN, N.C. (Ed.). **Essentials of veterinary hematology**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. 417p.

JEFFERIES, R.; RYAN, U.M.; JARDINE, J.; BROUGHTON, D.K.; ROBERTSON, I.D.; IRWIN, P.J. Blood, Bull Terriers and Babesiosis: further evidence for direct transmission of *Babesia gibsoni* in dogs. **Australian Veterinary Journal**, v.85, p.459–463, 2007.

JEFFERIES, R.; RYAN, U.M.; MUHLNICKEL, C.J.; IRWIN, P.J. Two species of canine *Babesia* in Australia: detection and characterization by PCR. **Journal Parasitology**, v.89, p.409-412, 2003.

JERNIGAN, A.D.; MCTIER, T.L.; CHIEFFO, C.; THOMAS, C.A.; KRAUTMANN, M.J.; HAIR, J.A.; YOUNG, D.R.; WANG, C.; ROWAN, T.G. Efficacy of selamectin against experimentally induced tick (*Rhipicephalus sanguineus* and *Dermacentor variabilis*) infestations on dogs. **Veterinary Parasitology**, v.91, p.359–375, 2000.

JOHNSON, E. M.; EWING, S. A.; BARKER, R. W.; FOX, J. C.; CROW, D. W.; KOCAN, K. M. Experimental transmission of *Ehrlichia canis* (Rickettsiales: Ehrlichieae) by *Dermacentor variabilis* (Acari: Ixodidae). **Veterinary Parasitology**, v. 74, n. 2-4, p. 277-288, 1998.

JOJIMA, F.S.; GARCIA, J.L.; VIDOTTO, M. C.; BALARIN, M.R.S.; FABRETTI, A.K.; GASPARINI, M.R.; COELHO, A.L.M.; VIDOTTO, O. Ocorrência e aracterização molecular de espécies de *Babesia* em cães de uma população hospitalar da região de Londrina, PR. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 17, supl. 1, p. 277-283, 2008.

JONES, K.E.; PATEL, N.G.; LEVY, M.A.; STOREYGARD, A.; BALK, D.; GITTLEMAN, J.L.; DASZAK, P. Global trends in emerging infectious diseases. **Nature**, v. 451, p.990–993, 2008.

KAKALACHEVA, K.; MÜNZ, C.; LÜNEMANN, J. D. Viral triggers of multiple sclerosis. **Biochimica et Biophysica Acta: Molecular Basis of Disease**, Amsterdam, v. 1812, n. 2, p. 132-40, 2011.

KANEKO, J.J. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5.ed. San Diego: Academic, 1997. 932p.

KAPIL, S.; YEARY, T. J. Canine Distemper Spillover in domestic dogs from Urban Wildlife. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 41, p.1069–1086, 2011.

KELCH, W. J. The canine ehrlichiosis (tropical canine pancytopenia) epizootic in Vietnam and its implications for the veterinary care of military working dogs. **Military Medicine**, v. 149, p. 327-331, 1984.

KERR, M. G. **Exames Laboratoriais em Medicina Veterinária. Bioquímica clínica e hematologia**. 2. ed. São Paulo: Roca, 2003.

KJEMTRUP, A. M.; KOCAN, A. A.; WHITWORTH, J.; MEINKOTH, A. J.; BIRKENHEUER, A.J.; CUMMINGS, J.; BOUDREAUX, M. K.; STOCKHAM, S.L.; IRIZARRY-ROVIRA, A.; CONRAD, P.A..There are at least three genetically distinct small piroplasms from dogs. **International Journal for Parasitology**, v, 30, n.14, p.1501-1505, 2000.

KJEMTRUP, A.M.; WAINWRIGHT, K.; MILLER, M.; PENZHORN, B.L.; CARRENO, R.A. *Babesia conradae*, sp. Nov., a small canine *Babesia*, identified in California. **Veterinary Parasitology**, v.138, n.1-2, p. 103 – 111, 2006.

KLEDMANEE, K.; SUWANPAKDEE, S.; KRAJANGWONG, S.; CHATSIRIWECH, J.; SUKSAI, P.; SUWANNACHAT, P.; SARIYA, L.; BUDDHIRONGAWATR, R.; CHAROONRUT, P.; CHAICHOUN, K. Development of multiplex polymerase chain reaction for detection of *Ehrlichia canis*, *Babesia* spp and *Hepatozoon canis* in canine blood.

The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health, v. 40, n. 1, p.35-39, January 2009.

KOESTNER, A. Animal model of human disease: subacute sclerosing panencephalitis, multiple sclerosis; animal model: distemper-associated demyelinating encephalomyelitis. **American Journal of Pathology**, Bethesda, v. 78, n. 2, p. 361-364, 1975.

KONTOS, V.I.; ATHANASIOU, L.V. Use of enrofloxacin in the treatment of acute canine ehrlichiosis. **Canine Practice**, v. 23, p.10-14, 1998.

KORDICK, S.K.; BREITSCHWERDT, E.B.; HEGARTY, B.C.; SOUTHWICK, K.L.; COLITZ, C.M.; HANCOCK, S.I.; BRADLEY, J.M.; RUMBOUGH, R.; MCPHERSON, J.T.; MACCORMACK, J.N. Coinfection with Multiple Tick-Borne Pathogens in a Walker Hound Kennel in North Carolina. **Journal of Clinical Microbiology**, v.37, n.8, p. 2631–2638. 1999.

KOUTINAS, A. F.; POLIZOPOULOU, Z. S.; BAUMGAERTNER, W.; LEKKAS, S.; KONTOS, V. Relation of clinical signs to pathological changes in 19 cases of canine distemper encephalomyelitis. **Journal of Comparative Pathology**, v. 126, n. 1, p. 47-56, 2002.

KRAKOWKA, S.; AXTHELM, M.K.; JOHNSON, G.C. Canine distemper virus. In: OLSEN, R.G., KRAKOWKA, S., BLAKESLEE, J.R. (Ed.). **Comparative pathobiology of viral diseases**. Boca Raton: CRC, p.137-164, 1985.

KRAKOWKA, S.; CORK, L.C.; WINKESLSTEIN, J.A.; AXTHELM, M.K. Establishment of central nervous system infection by canine distemper virus: breach of the blood-brain barrier and facilitation by antiviral antibody. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.17, 1-4, p. 471-482, dez, 1987.

KUO, C.H.; WARES, J.P.; KISSINGER, J.C. The Apicomplexan wholegenome phylogeny: an analysis of incongruence among gene trees. **Molecular Biology and Evolution**, v. 25, p.2689–2698, 2008.

KUTTLER, K.L. World-wide impact of babesiosis. In **Babesiosis of Domestic Animals and Man** (Ristic, M., ed.), p. 1–22, 1988.

LABARTHE, L. Biological control of tick populations: review and reflections. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 10, p.47–52, 1994.

LABARTHE, N.; CAMPOS PEREIRA, M.; BARRARINI, O.; MCKEE, W.; COIMBRA CA.; HOSKINS, J. Serologic prevalence of *Dirofilaria immitis*, *Ehrlichia canis*, and *Borrelia burgdorferi* infections in Brazil. **Veterinary Therapeutics**, v.4, n. 1, p.67-75, 2003.

LABRUNA, M. B.; MCBRIDE, J.W.; CAMARGO, L.M.; AGUIAR, D.M.; YABSLEY, M.J.; DAVIDSON, W.R.; STROMDAHL, EY.; WILLIAMSON, P.C.; STICH RW.; LONG SW.; CAMARGO EP.; WALKER, D.H. A preliminary investigation of *Ehrlichia* species in ticks, humans, dogs, and capybaras from Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 143, n. 2, p. 189-195, 2007.

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

LAIDLAW, P. P.; DUNKIN, F. W. Studies in dog, distemper III. The nature of the virus. **Journal of Comparative Pathology**, v.39, p. 222-230, 1926.

LAU, A.O. An overview of the *Babesia*, Plasmodium and Theileria genomes: a comparative perspective. **Molecular Biochemical Parasitology**, v.164, p.1–8, 2009.

LEHTINEN, L.E.; BIRKENHEUER, A. J.; DROLESKEYC, R. E.; HOLMAN, P. J. *In vitro* cultivation of a newly recognized *Babesia* sp. in dogs in North Carolina. **Veterinary Parasitology**, v.151, p.150–157, 2008.

LEMPEREUR L.; DE CAT, A.; CARON, Y.; MADDER, M.; CLAEREBOUT, E; SAEGERMAN, C.; LOSSON, B. First molecular evidence of potentially zoonotic *Babesia microti* and *Babesia* sp. EU1 in *Ixodes ricinus* ticks in Belgium. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v11, p.125–130, 2011.

LIBERATI, M.N.; ÁLVARES, A.A.A.; BETTINI, C.M. Eficácia do diagnóstico laboratorial na erliquiose canina. **VI Encontro Internacional de Produção Científica Cesumar**, 2009.

LITTLE, S.E. Ehrlichiosis and Anaplasmosis in Dogs and Cats. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 40, p.1121–1140, 2010.

LOBETTI ,R.G: Canine babesiosis. **Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, v.20, p.418-431, 1998.

LOCATELLI, C.; STEFANELLO, D.; RISCAZZI, G.; BORGONOVO, S.; COMAZZI, S. Pulmonary hypertension associated with *Ehrlichia canis* infection in a dog. **Veterinary Record**, v.170, n.26, p.676, jun, 2012.

LOPES JUNIOR, C. G. **Avaliação do perfil hematológico, bioquímico e eletroforese das proteínas séricas de cães com cinomose e atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Federal Rural de Pernambuco**. 2006. 45f. Dissertação (Mestrado em Ciência Veterinária) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2006.

M'GHIRBI ,Y.; BOUATTOUR, A . Detection and molecular characterization of *Babesia canis vogeli* from naturally infected dogs and *Rhipicephalus sanguineus* ticks in Tunisia. **Veterinary Parasitology**, v.152, p.1–7, 2008.

MACHADO, R.Z.; DUARTE, J.M.B.; DAGNONE, A.S.; SZABÓ, M.J.P. Detection of *Ehrlichia chaffeensis* in Brazilian marsh deer (*Blastocerus dichotomus*). **Veterinary Parasitology**, v.139, p.262-266, 2006.

MACIEIRA, D.B.; MESSICK, J.B.; CERQUEIRA, A.M.; FREIRE, I.M.; LINHARES, G.F.; ALMEIDA, N.K.; ALMOSNY, N.R. Prevalence of *Ehrlichia canis* infection in thrombocytopenic dogs from Rio de Janeiro, Brazil. **Veterinary Clinical Pathology**, v.34, n.1, p. 44-8, Santa Bárbara, CA: EUA , 2005.

MACINTIRE, D.K.; BOUDREAUX, M.K.; WEST, G.D.; BOURNE, C.; WRIGHT, J.C.; CONRAD, P.A. *Babesia gibsoni* infection among dogs in the southeastern United States. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 220, n.3, p.325-329, 2002.

MADIGAN, J.E. Questions diagnosis of ehrlichiosis (letter). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.190, p.244-245, 1987.

MAEDA, K.; MARKOWITZ, N.; HAWLEY, R.C.; RISTIC, M.; COX, D.; MCDADE, J.E. Human infection with *Ehrlichia canis*, a leukocytic rickettsia. **The New England Journal of Medicine**, v.316, n.14, p.853–856, Apr, 1987.

MAIA, M.G.; COSTA, R.T.; HADDAD, J.P.; PASSOS, L.M.; RIBEIRO, M.F. Epidemiological aspects of canine babesiosis in the semiarid area of the state of Minas Gerais, Brazil. **Preventive Veterinary Medicine**, 79, 155–162, 2007.

MANGIA, S.H. 2008. **Tratamento experimental de cães naturalmente infectados com o vírus dacinomose na fase neurológica com o uso da Ribavirina e Dimetil-Sulfóxido**. Dissertação (mestrado)– Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2008.

MARCONDES, C. B. Generalidades e Importância das Doenças Relacionadas com Artrópodes. In: MARCONDES, C. B. **Doenças transmitidas e causadas por artrópodes**, p. 1-3, 2009.

MARCONDES, M. **Avaliação física, citológica e bioquímica do líquido cefalorraquidiano de cães normais e de cães jovens portadores de cinomose**. 1992. 84 f. Dissertação (Mestrado) – Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, UNESP, Botucatu, 1992.

MARSAUDON, E.; CAMENEN, J.; TESTOU, D.; BOURREE, P.; SAMSON, P.; LUNEAU, F. Une babesiose humaine a *Babesia canis*, responsable d'une anurie de 40 jours. **Annales Medicinæ Internæ**, Paris, v. 146, n. 6, p. 451-452, 1995.

MARTELLA, V.; CIRONE, F.; ELIA, G.; LORUSSI, E.; DECARO, N.; CAMPOLO, M.; DESARIO, C.; LUCENTE, M.S.; BALLACICCO, A.L.; BLIXENKRONE-MØLLER, M.; CARMICHAEL, L.E.; BUONAVOGLIA, C. Heterogeneity within the hemagglutinin genes of canine distemper virus (CDV) strains detected in Italy. **Veterinary Microbiology**, v.116, n.4, p.301–309, 2006.

MARTELLA, V.; ELIA, G.; BUONAVOGLIA, C. Canine distemper virus. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 38, n.4, p.787–797, 2008.

MASUDA, T. et al. Relapse of canine babesiosis after prednisolone treatment. **Modern Veterinary Practice**, Santa Barbara, v.64, p.931–932, 1983.

MATIJATKO V.; MRLJAK V.; KIS I.; KUCER N.; FORSEK J.; ZIVICNJAK T.; ROMIC Z.; SIMEC Z.; CERON, J.J. Evidence of an acute phase response in dogs naturally infected with *Babesia canis*. **Veterinary Parasitology**, v.144, P.242–250, 2007.

MATIJATKO, V.; TORTI, M.; SCHETTERS, T.P. Canine babesiosis in Europe: How many diseases? **Trends in Parasitology**, v. 28, n. 3, p.99-105, March, 2012.

MATJILA, P.T.; PENZHORN, B.L.; BEKKER, C.P.; NIJHOF, A.M.; JONGEJAN, F. Confirmation of occurrence of *Babesia canis vogeli* in domestic dogs in South Africa. **Veterinary Parasitology**, v.122, p.119-125, 2004.

MATTHEWMAN, L.A.; KELLY, P.J.; BOBADE, P.A.; TAGWIRA, M.; MASON, P.R.; MAJOK, A.; BROUQUI, P.; RAOULT, D. Infections with *Babesia canis* and *Ehrlichia canis* in dogs in Zimbabwe. **Veterinary Record**, v.133, p.344–346, 1993.

MCBRIDE, J. W.; CORSTVET, R.E.; GAUNT, S.D.; CHINSANGARAM, J.; AKITA, G.Y.; OSBURN, B.I. PCR detection of acute *Ehrlichia canis* infection in dogs. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 8, n. 4, p. 441-447, 1996.

MCCARTHY, A.J.; SHAW, M.A.; GOODMAN, S.J. Pathogen evolution and disease emergence in carnivores. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v.274, n.1629, p.3165–3174, 2007.

McDADE, J.E. Ehrlichiosis – a disease of Animals and Humans. **Journal Infectious Disease**, v.161, p.609-617, 1990.

MEINKOTH, J.H.; CLINKENBEARD, K. **Normal hematology of the dog**. In: FELDMAN, B.V. et al. Schalm's veterinary hematology. 5.ed. Lippincott: Williams & Wilkins, 2000, cap.163. 1058p.

MELDRUM, S.C.; BIRKHEAD, G.S.; WHITE, D.J.; BENACH, J.L.; MORSE, L. "Human babesiosis in New York state: an epidemiological description of 136 cases," **Clinical Infectious Diseases**, v. 15, n. 6, p. 1019–1023, 1992.

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.

MENDONÇA, R. B.; PAGANI, F. F.; SOUZA, A. M. Respostas hematológicas em cães naturalmente infectados pelo vírus da cinomose: estudo retrospectivo de casos. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, Niterói, v.7, supl., p. 114-116, 2000.

MENESES, I.D.S.; SOUZA, B.M.P.S.; TEIXEIRA, C.M.M.; GUIMARÃES, J.E. Perfil clínico-laboratorial da erliquiose monocítica canina em cães de Salvador e região metropolitana, Bahia. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.9, n.4, p.770-776, out/dez, 2008.

MENN, B.; LORENTZ, S.; NAUCKE, T.J. Imported and travelling dogs as carriers of canine vector-borne pathogens in Germany. **Parasites & Vectors**, v.3, n.34, p. 3-7, 2010.

MEYER, D.J.; COLES, E.H.; RICH, L.J. **Medicina de Laboratório Veterinário – interpretação e diagnóstico**. São Paulo: Roca, 1995.

MIRANDA, F. J.B.; ALBERNAZ, A. P.; MELO JR, O. A.; MACHADO, J.A. Frequência de cães infectados por *Babesia* Spp. em Campos dos Goytacazes, RJ. **Ciência Animal Brasileira**, v. 9, n. 1, p. 238-241, jan./mar. 2008.

MIRANDA, F.J.B.; ALBERNAZ, A.P.; VIESTEL, A.D.; MELO JR, O.A.; MACHADO, J.A.; ALVES, R.B.M.; CARVALHO, C.B. Infecção simultânea por *Ehrlichia canis*, *Babesia*

canis e pelo vírus da cinomose canina-Relato de caso. **Jornal Brasileiro de Ciência Animal**, v.3, n.6, p.238-246, 2011.

MONTEIRO, M.V.B.; SANTOS, M.P.; FIGUEIREDO, M.J.F.M.; MONTEIRO, F. O. B. Avaliação clínica e hematológica de cães com cinomose em Belém, Pará. **Ciência Animal**, v.18, n.1, p.41-44, 2008.

MOREIRA, S.M.; BASTOS, C.V.; ARAÚJO, R.B; SANTOS, M.; PASSOS, L. M. F. Estudo retrospectivo (1998 a 2001) da erliquiose canina em Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.55, n.2, p.141-147, 2003.

MOREIRA, S.M.; MACHADO, R.Z.; PASSOS, L.M.F. Detection of *Ehrlichia canis* in bone marrow aspirates of infected dogs. In: **Fourth International Conference on Ticks and tickborne pathogens**, 2002, Banff. Proceedings of the Fourth TTP4. University of Alberta , 2002, v.1. p.40-41, 2002.

MORETTI, L.D.; DA SILVA, A.V.; RIBEIRO, M.G.; PAES, A.C.; LANGONI, H. *Toxoplasma gondii* genotyping in a dog co-infected with distemper vírus and ehrlichiosis rickettsia. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 48, n.6,p.359-363, 2006.

MORITZ, A.; FRISK, A. L.; BAUMGARTNER, W. The evaluation of diagnostic procedures for the detection of canine distemper virus infection. *European Journal of Companion Animal Practice*, Paris, v. 10, n. 1, p. 37-47, 2000.

MORO, L. **Apoptose na patogenia da cinomose canina**. 2001. 213f. Tese (Doutorado em Patologia Geral) - Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina, Belo Horizonte, 2001.

MORO, L.; ALVES, C.M.; SANTOS, F.G.A.; MARTINS, A.S.; VASCONCELOS, A.C. Apoptose na desmielinização da cinomose canina (revisão de literatura). **Biociencia Journal**, Uberlândia, v.20, n.2, p.171-178, May/Aug, 2004.

MORO, L.; ALVES, C.M.; SANTOS, F.G.A.; NUNES, J.E.S.; CARNEIRO, R.A.; VASCONCELOS, A.C. Ocorrência de apoptose em leucócitos no esfregaço de sangue periférico e nos sincícios na infecção in vivo pelo vírus da cinomose canina. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.55, n.1, fev, 2003.

MOTA, R.A.; SILVA, K.P.C.; FREITAS, M.F.L.; PORTO, W.J.N.; SILVA, L. B.G. Utilização indiscriminada de antimicrobianos e sua contribuição a multirresistência bacteriana. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 42, n. 6, p. 465-470, 2005.

MUNHOZ,T.D.; FARIA, J.L.; VARGAS-HÉRNANDEZ, G.; FAGLIARI, J.J.; SANTANA, A.E.; MACHADO, R.Z.; TINUCCI-COSTA, M. Experimental *Ehrlichia canis* infection changes acute-phase proteins. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.21, n.3, p.206-212, jul-sep, 2012.

MURASE, T.; IWAI, M.; MAEDE, Y. Direct evidence for preferential multiplication of *Babesia gibsoni* in young erythrocytes. **Parasitology Research**, v. 79, n.4, p.269-71, 1993

MURPHY, F.G.; EPJ; HORZINEK, MC and STUDDERT, **Veterinary Virology**. 3rd ed, ed. A. Press. 1999, San Diego - California. 411-428.

MYLONAKIS, M.E.; BILLINIS, C.; KOUTINAS, A.F. An update on canine ehrlichiosis. **Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society**, v.52, n.3, p.176-186, 2001.

MYLONAKIS, M.E.; KOUTINAS, A.F.; BREITSCHWERDT, E.B.; HEGARTY, B.C.; LEONTIDES, L.S.; KONTOS, V.S. Chronic canine ehrlichiosis (*Ehrlichia canis*): A retrospective study of 19 natural cases. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v.40, p.174-184, 2004.

NAKAGHI, A. C. H.; LABRUNA, M.B.; MACHADO, R.Z.; TINUCCI COSTA, M.; ANDRÉ, M.R.; BALDANI, C.D.; ANDRADE, G.M. Estudo comparativo entre a PCR baseada no gene *dsb* e a nested PCR no diagnóstico da erliquiose canina. In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA E I SIMPÓSIO LATINO-AMERICANO DE RIQUETSIOSES**, 13^o, Ouro Preto, MG, 2004.

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

NAKAGOME, K.; KOSUGI, R.; HIRAKAWA, M. Molecular survey of *Babesia* infection in dogs in Okinawa, Japan. **Veterinary Parasitology**, v. 121, n. 3-4, p. 341-346, 2004.

NAVA, A.F.; CULLEN, L.; SANA, D.A.; NARDI, M.S.; FILHO, J.D.; LIMA, T.F.; ABREU, K.C.; FERREIRA, F. First evidence of canine distemper in Brazilian free-ranging felids. **Ecohealth**, v.5, n.4, p.513-518, 2008.

NEER, M.; HARRUS, S. Ehrlichiosis, Neorickettsiosis, Anaplasmosis and Wolbachia Infection. In Greene: **Infectious Diseases of Dog and Cat**. 3 ed, n. 28, p.203-232, 2006.

NEER, T.M. Canine Monocytic and Granulocytic Ehrlichiosis. In Greene, C.E.; Harvey, J.W. (Ed). **Infectious Diseases of the Dog and Cat**. Philadelphia, W.B. Saunders, 2nd, p.139-147, 1998.

NEGRÃO, F.J.; A.A. ALFIERI, A.A.; A.F. ALFIERI, A.F. Avaliação da urina e de leucócitos como amostras biológicas para a detecção *ante mortem* do vírus da cinomose canina por RT-PCR em cães naturalmente infectados. **Arquivo Brasileiro de medicina Veterinária e Zootecnia**, v.59, n.1, p.253-257, 2007.

NEL M.; LOBETTI RG.; KELLER N.; THOMPSON, PN. Prognostic value of blood lactate, blood glucose and hematocrit in canine babesiosis. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, 18, 471-476, 2004.

NELSON, R.W.; COUTO, C.G. **Medicina interna de pequenos animais**. 4.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, cap. 102, p.1013, 2001, 1084p.

NELSON, R.W.; COUTO, C.G. **Medicina interna de pequenos animais**. 4.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010.

NORRIS, J.M.; KROCKENBERGER, M.B.;BAIRD, A.A.; KNUDSEN, G. Canine distemper: re-emergence of an old enemy. **Australian Veterinary Journal**, v.84, p. 362-363, 2006.

NYINDO, M.; HUXSOLL, D.L.; RISTIC, M.; KAKOMA, I.; BROWN, J.L.; CARSON, C.A.; STEPHENSON, E.H. 1980. Cell-mediated and humoral immune responses of German Shepherd Dogs and Beagles to experimental infection with *Ehrlichia canis*. **American Journal of Veterinary Research**, v.41, p.250–254, 1980.

O'DWER, L.H.O.; MASSARD, C.L. Babesiose em Pequenos Animais Domésticos e como zoonoses, p.57-67. In: **Hemoparasitoses em Pequenos Animais Domésticos e como zoonoses**. L.F Livros de Veterinária, Rio de Janeiro, 2002, 135p.

O'DWYER, L. H.; LOPES, V. V. A.; RUBINI, A, S.; PADUAN, K. S.; RIBOLLA, P. E. M. *Babesia* spp. infection in dogs from rural areas of São Paulo State, Brazil, **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 18, n. 2, p. 23-26, 2009.

O'DWYER, L. H.; MASSARD, C. L.; SOUZA, J. C. P. *Hepatozoon canis* infection associated with dog ticks of rural areas of Rio de Janeiro State, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 94, n. 3, p. 143-150, 2001.

O'DWYER, L. H.;LOPES, V. V. A.; RUBINI, A, S.; PADUAN, K. S.; RIBOLLA, P. E. M. *Babesia* spp. infection in dogs from rural areas of São Paulo State, Brazil, **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinaria**, v. 18, n. 2, p. 23-26, 2009.

O'DWYER, L.H.O. **Diagnóstico de hemoparasitas e carrapatos de cães provenientes de áreas rurais em três mesorregiões do Estado do Rio de Janeiro, Brasil**. 2000. 97f. Tese (Doutorado). Instituto de Biologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2000.

OGLIARI, J.B.; BOSCARIOL, R.L.; CAMARGO, L.E.A. Optimization of PCR amplification of maize microsatellite loci. **Genetics and Molecular Biology**, v. 23, p395–398, 2000.

OHASHI, N.; UNVER, A.; ZHI, N.; RIKIHISA, Y. Cloning and Characterization of Multigenes Encoding the Immunodominant 30-Kilodalton Major Outer Membrane Proteins of *Ehrlichia canis* and Application of the Recombinant Protein for Serodiagnosis. **Journal Clinical Microbiology**. v. 36, n.9, p. 2671–2680, 1998.

OLANO, J. P.; WALKER, D. H. Human ehrlichioses. **The Medical Clinics of North America**, v. 86, n. 2, p. 375-392, 2002.

OLICHESKI, A.T. **Comparação entre os métodos de coloração panótico rápido e Giemsa para diagnóstico de protozoários do gênero *Babesia* (Starcovici, 1893) e de riquetsias do gênero *Ehrlichia* (Ehrlich, 1888) em cães (*Canis familiaris*) no município de Porto Alegre, RS, Brasil**. Dissertação de Mestrado em Medicina Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2003. 30p.

OLIVEIRA, D.; NISHIMORI, C.T.; COSTA, M.T.; MACHADO, R.Z.; CASTRO, M.B. *Ehrlichia canis* antibodies detection by “DOT ELISA” in naturally infected dogs. **Revista**

Brasileira de Parasitologia Veterinária, v. 9, p.1-6, 2000.

OLIVEIRA, F.B.M.; LIMA, L.M.; MOURA, M.E.B.; NUNES, B.M.V.T.; OLIVEIRA, B.M. Uso indiscriminado de antibióticos e resistência microbiana: uma reflexão no tratamento das infecções hospitalares. **Revista Interdisciplinar Novafapi**, v.4, n.4, p.72-77, Out-Nov-Dez. 2011.

OLIVEIRA, L. S.; OLIVEIRA, K.A.; MOURÃO, L.C.; PESCATORE, A.M.; ALMEIDA, M.R.; CONCEIÇÃO, L.G.; GALVÃO, M.A.; MAFRA, C. First report of *Ehrlichia ewingii* detected by molecular investigation in dogs from Brazil. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 15, Supl. 2, p. 55-56, 2009.

OLIVEIRA, T.M.; FURUTA, P.I.; DE CARVALHO, D.; MACHADO, R.Z. A study of cross-reactivity in serum samples from dogs positive for *Leishmania* sp., *Babesia canis* and *Ehrlichia canis* in enzyme-linked immunosorbent assay and indirect fluorescent antibody test. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v.15, n.1, p.7-1, 2008

ORÍ, A.P.; PEREIRA, P.M.; LAUS, J.L. Uveitis in dogs infected with *Ehrlichia canis*. **Ciência Rural**, v. 34, n. 4, p. 1289-1295, 2004.

OTEO, J. A.; BLANCO, J.R.; MARTÍNEZ DE ARTOLA, V.; IBARRA, V. First report of human granulocytic ehrlichiosis from southern Europe (Spain). **Emerging Infectious Diseases**, v. 6, n. 4, p. 430-432, 2000.

OTRANTO, D.; DANTAS-TORRES, F. 2010. Canine and feline vector-borne diseases in Italy: current situation and perspectives. **Parasites & Vectors**, v. 3, n.2 p.1-12, 2010.

OTRANTO, D.; DANTAS-TORRES, F.; BREITSCHWERDT, E.B. Managing canine vector-borne diseases of zoonotic concern: part one. **Trends Parasitology**, v. 25, p.157–163, 2009.

OTRANTO, D.; DE CAPRARIIS, D.; LIA, R.P.; TARALLO, V.; LORUSSO, V.; TESTINI, G.; DANTAS-TORRES, F.; LATROFA, S.; DINIZ, P.P.; MENCKE, N.; MAGGI, R.G.; BREITSCHWERDT, E.; CAPELLI, G.; STANNECK, D. Prevention of endemic canine vector-borne diseases using imidacloprid 10% and permethrin 50% in young dogs: a longitudinal field study. **Veterinary Parasitology**, v.172, p.323–332, 2010 (d).

OTRANTO, D.; LIA, R.P.; CANTACESSI, C.; GALLI, G.; PARADIES, P.; MALLIA, E.; CAPELLI, G. 2005. Efficacy of a combination of imidacloprid 10% permethrin 50% versus fipronil 10%/(S)-methoprene 12%, against ticks in naturally infected dogs. **Veterinary Parasitology**, v.130, p.293–304, 2005.

OTRANTO, D.; PARADIES, P.; TESTINI, G.; LATROFA, M.S.; WEIGL, S.; CANTACESSI, C.; MENCKE, N.; CAPRARIIS, D.; PARISI, A.; CAPELLI, G.; STANNECK, D. Application of 10% imidacloprid/50% permethrin to prevent *Ehrlichia canis* exposure in dogs under natural conditions. **Veterinary Parasitology**, v.153, p.320-328, 2008.

OTRANTO, D.; PARADIES, P.; LIA, R.P.; LATROFA, M.S.; TESTINI, G.; CANTACESSI, C.; MENCKE, N.; GALLI, G.; CAPELLI, G.; STANNECK, D. 2007. Efficacy of a combination of 10% imidacloprid/50% permethrin for the prevention of leishmaniasis in kennelled dogs in an endemic area. **Veterinary Parasitology**, 144, p.270–278, 2007.

PADDOCK, C. D.; CHILDS, J.E. *Ehrlichia chaffeensis*: a Prototypical Emerging Pathogen. **Clinical Microbiology Reviews**, v.16, n.1, p. 37–64, Jan, 2003.

PASSOS, L.M.; GEIGER, S.M.; RIBEIRO, M.F.; PFISTER, K.; ZAHLER-RINDER, M.. 2005. First molecular detection of *Babesia vogeli* in dogs from Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 127, p.81–85, 2005.

PEREZ, M.; BODOR, M.; ZHANG, C.; XIONG, Q.; RIKIHISA, Y. Human infection with *Ehrlichia canis* accompanied by clinical signs in Venezuela. **Annals of the New York Academy of Science**, v. 1078, n. 1, p. 110-117, 2006.

PEREZ, M.; RIKIHISA, Y.; WEN, B. *Ehrlichia canis*-like agent isolated from a man in Venezuela: antigenic and genetic characterization. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 34, n. 9, p. 2133-2139, 1996.

PERSING, D.H.; MATHIESEN, D.; MARSHALL, W.F.; TELFORD, S.R.; SPIELMAN, A.; THOMFORD, J.W.; CONRAD, P.A. Detection of *Babesia microti* by polymerase chain reaction. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 30, n.8, p.2097-2103, 1992.

PETERSEN, L.R.; SAWYER, L.A.; FISHBEIN, D.B.; KELLEY, P.W.; THOMAS, R.J.; MAGNARELLI, L.A.; REDUS M.; DAWSON, J.E. An Outbreak of Ehrlichiosis in members of an Army Reserv Unit Exposed to Ticks. **The Journal of Infectious Diseases**, v.159, n. 3, p.562-568, 1989.

PINTO, R.L. **Babesiose canina – relato de caso**. Monografia de Especialização em Clínica Médica de Pequenos Animais, Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFERSA, Departamento de Ciências Animais, Porto alegre, 2009. 26p.

RALSTON, S. H.; DIGIOVINE, F. S.; GALLACHER, S. J.; BOYLE, I. T.; DUFF, G. W. Failure to detect paramyxovirus sequences in Paget's disease of bone using the polymerase chain reaction. **Journal of Bone and Mineral Research**, Washington, v. 6, n. 11, p. 1243-1248, 1991.

RAMOS, C.A.; RAMOS, R.A.N.; ARAÚJO, F.R.; GUEDES JR, D.S.; SOUZA, I.I.F.; ONO, T.M.; VIEIRA, A.S.; PIMENTEL, D.S.; ROSAS, E.O.; FAUSTINO, M.A.G.; ALVES, L.C. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**. (Online) v.18, supl.1, Jaboticabal, dec. 2009.

RAMOS, R.; RAMOS, C.; ARAÚJO, F.; OLIVEIRA, I.; PIMENTEL, D.; GALINDO, M.; SANTANA, M.; ROSAS, E.; FAUSTINO, M.; ALVES, L. Molecular survey and genetic characterization of tick-borne pathogens in dogs in metropolitan Recife (north-eastern Brazil). **Parasitology Research**, v 107, p. 1115–1120, 2010.

REINE, N. J. Infection and blood transfusion: a guide to donor screening. **Clinical Techniques in Small Animal Practice**, v. 19, p. 68-74, 2004.

REINHARDT, L. W.; KIENER, D.S.; FORSTER, J.L.; SPIESS, B.M. Direct detection of *Ehrlichia canis* by PCR in the conjunctiva of a dog with bilateral anterior uveitis. **Schweizer Archiv fur Tierheilkunde**, v.154, n. 4, p.149-152, 2012.

REYERS, F.; LEISEWITZ, A.L.; LOBETTI, R.G.; MILNER, R.J.; JACOBSON, L.S.; VAN, ZYL. M. Canine babesiosis in South Africa-more than one disease. Does this serve as a model for falciparum malaria? **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, v.92, p.503–511, 1998.

RIBEIRO, M. F. B.; LIMA, J.D.; PASSOS, L.M.F.; GUIMARÃES, A.M. Frequência de anticorpos fluorescentes anti-*Babesia canis* em cães de Belo Horizonte, Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 42, n. 6, p. 511-517, 1990.

RIKIHISA, Y. The Tribe *Ehrlichiae* and ehrlichial diseases. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 4, n. 3, p. 286-308, 1991.

RIKIHISA, Y; EWING, S.A.; FOX, J.C.; SIREGAR, A.G.; PASARIBU, F.H.; MALOLE, M. B. Analyses of Ehrlichia canis and a canine granulocytic Ehrlichia infection. **Journal Clinical Microbiology**. v.30, n.1, p 143-148. 1992.

RIKULA, U.; NUOTIO, L.; SIHVONEN, L. Vaccine coverage, herd immunity and occurrence of canine distemper from 1990-1996 in Finland. **Vaccine**, v.25, n.47, P.7994-7998 2007.

RIPOLL, C. M.; REMONDEGUI ,C.E.; ORDONEZ, G.; ARAZAMENDI, R.; FUSARO, H.; HYMAN, M.J.; PADDOCK, C.D.; ZAKI, S.R.; OLSON, J.G.; SANTOS-BUCH, C.A. Evidence of rickettsial spotted fever and ehrlichial infections in a subtropical territory of Jujuy, Argentina. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 61, n. 2, p. 350-354,1999.

RODRIGUES, D.; DAEMON, E.; RODRIGUES, A.F.S.F.; FELICIANO, E.A.; SOARES, A.O.; SOUZA, A.D. Levantamento de hemoparasitos em cães da área rural de Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 13, suplem. 1, p. 371, 2004.

RUSCIO, M.; CINCO, M. Human granulocytic ehrlichiosis in Italy: first report on two confirmed cases. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 990, p. 350-352, 2003.

SÁ, A. G.; CERQUEIRA, A. M. F.; O'DWYER, L. H.; MACIEIRA, D. B.; ABREU, F. S.; FERREIRA, R. F.; PEREIRA, A. M.; VELHO, P. B.; ALMOSNY, N. R. P. Detection and molecular characterization of *Babesia canis vogeli* form naturally infected Brazilian dogs. **The International Journal of Applied Research in Veterinary Medicine**, v. 4, n. 2, p. 163-168, 2006.

SÁ, A.G. **Babesiose canina**. Monografia de Especialização em Patologia Clínica Veterinária, Universidade Castelo Branco, Rio de Janeiro, 2007. 48p.

SAHIN, Y.; MORI, T.; OKITA, M.; GEMMA, T.; KAI, C.; MIKAMI, T. Detection of canine distemper virus nucleocapsid protein gene in canine peripheral blood mononuclear cells by RT-PCR. **The Journal of Veterinary Medical Science**, v. 57, p. 439-450, 1995.

SAINZ, A.; TESOURO, M.A.; RODRIGUEZ, E.; MAYORAL, I.; MAZZUCHELLI, E. Seroprevalence of *Ehrlichia canis* infections in police dogs in Spain. **Preventive Veterinary Medicine**, v.23, n. 3-4, p.179–182, 1995.

SAITO, M.E. **Isolamento e identificação de *Ehrlichia canis* (Donatien & Lestoquard, 1935) em cultura de monócitos de sangue periférico canino.** 68 p, 2003. Dissertação (Mestrado em Clínica Veterinária). FMVZ-USP, S. Paulo, 2003.

SAITO, T. B. **Padronização da técnica da Reação em Cadeia pela Polimerase (RT-PCR) para o diagnóstico ante e post-mortem do vírus da cinomose canina.** 2001. 100f. Dissertação (Mestrado em Sanidade Animal) - Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, PR.

SAITO, T.B.; ALFIERI, A.A.; WOSIACKI, S.R.; NEGRÃO.; F.J.; MORAIS, H.S.A.; ALFIERI, A.F.;. Detection of canine distemper virus by reverse transcription-polimerase chain reaction in the urine of dogs with clinical signs of distemper encephalitis. **Research in Veterinary Science**, v. 80, 116–119, 2006.

SAITO, T.B.; CUNHA-FILHO, N.A.; PACHECO, R.C.; FERREIRA, F.; PAPPEN, F.G.; FARIAS, N.A.R.; LARSSON, C.E.; LABRUNA, M.B. Canine Infection by Rickettsiae and Ehrlichiae in Southern Brazil. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 79, n. 1, p. 102-108, 2008.

SAKUMA, M.; SETOGUCHI, A.; ENDO, Y. Possible emergence of drug resistant variants of *Babesia gibsoni* in clinical cases treated with atovaquone and azithromycin. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 23, p.493–498, 2009.

SANDERS, S.G.; BAGLEY, R.S. Doenças do cerebelo e síndrome do tremor. In: DEWEY, C.W. **Neurologia de cães e gatos-Guia prático**, cap.8, p.140-162, São Paulo: Roca, 1.ed, 2006.

SANOGO, Y.O.; DAVOUST, B.; INOKUMA, H.; CAMICAS, J.L.; PAROLA, P.; BROUQUI, P. First evidence of *Anaplasma platys* in *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: ixodida) collected from dogs in Africa. The **Onderstepoort Journal of Veterinary Research**, v.70, n.3,p. 205-212, sep, 2003.

SANTOS, F.; COPPEDE, J.S.; PEREIRA, A.L.; OLIVEIRA, L.P.; ROBERTO, P.G.; BENEDETTI, RB.; ZUCOLOTO LB, LUCAS F, SOBREIRA L, MARINS M.Molecular evaluation of the incidence of *Ehrlichia canis*, *Anaplasma platys* and *Babesia* spp. in dogs from Ribeirão Preto, **Veterinary Journal**, v.179, n.1, p.145-148, Jan, 2009.

SANTOS, V. G. **Aspectos clínicos e laboratoriais da cinomose, ehrliquiose e borreliose em cães (*Canis familiaris*, Linnaeus, 1758) naturalmente infectados.** 2008. 60f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, 2008.

SAPOLNIK, R.; LIMA, R. L.; OLIVEIRA, F. G.; GARCIA, L. S. Babesiose humana - Um relato de caso. **36º Congresso Brasileiro de Pediatria**, Curitiba, PR, 2013.

SASANELLI, M.; PARADIES, P.; LUBAS, G.; OTRANTO, D.; DE CAPRARIIS, D. Atypical clinical presentation of coinfection with *Ehrlichia*, *Babesia* and *Hepatozoon* species in a dog. **Veterinary Record**, London, v 3, n. 164 p.22-3, 2009.

SCHEIN, E.; MELHORN, H.; VOIGT, W. Electron microscopical studies on the development of *Babesia canis* (Sporozoa) in the salivary glands of the vector tick *Dermacentor reticulatus*. **Acta Tropical**, v. 36, p. 229-241, September 1979.

SCHETTERS, T. Vaccines against canine babesiosis. **Trends in Parasitology**, v. 21, p.179–184, 2005.

SCHETTERS, T.P.; KLEUSKENS, J.; SCHOLTES, N.; GORENFLOT, A. Parasite localization and dissemination in the *Babesia*-infected host. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, Londres, v.92, p.513–519, 1998.

SCHETTERS, T.P.; KLEUSKENS, J.A.; VAN DE CROMMERT, J.; DE LEEUW, P.W.; FINIZIO, A.L.; GORENFLOT, A. Systemic inflammatory responses in dogs experimentally infected with *Babesia canis*; a haematological study. **Veterinary Parasitology**, v. 162, p. 7–15, 2009.

SCHETTERS, T.P.; MOUBRI, K.; PRECIGOUT, E.; KLEUSKENS, J.; SCHOLTES, N.C.; GORENFLOT, A. Different *Babesia canis* isolates, different diseases. **Parasitology**, v. 115, n. 5, p. 485-93, 1997.

SCHOBESBERGER, M., SUMMERFIELD, A., DOHERR, M.G.; ZURBRIGGEN, A.; GRIOT, C. Canine distemper virus-induced depletion of uninfected lymphocytes is associated with apoptosis. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.104, n. (1-2) p.33-44, Mar, 2005.

SCHOEN, A.M. **Acupuntura veterinária: da arte antiga à medicina moderna**. 2 ed. São Paulo: Roca, 2006.

SEKULIN, K.; HAFNER-MARX, A.; KOLODZIEJEK, J.; JANIK, D.; SCHMIDT, P.; NOWOTNY, N. Emergence of canine distemper in Bavarian wildlife associated with a specific amino acid exchange in the haemagglutinin protein. **The Veterinary Journal**, v.187, n.3, p.399-401, 2011.

SHAW, S.E.; DAY, M.J.; BIRTLES, R.J.; BREITSCHWERDT, E.B. Tick-borne infectious diseases of dogs. **Trends in Parasitology**, v.17, n. 2, p. 74-80, 2001.

SHELL, L.G. Canine distemper. **Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, v.12, p.173-179, 1990.

SIKORSKI, L.E.; BIRKENHEUER, A.J.; HOLOWAYCHUK, M.K.; MCCLEARY-WHEELER, A.L.; DAVIS, J.M.; LITTMAN, M.P. Babesiosis caused by a large *Babesia* species in 7 immunocompromised dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine American College of Veterinary Internal Medicine**, v.24, n.1, p.127-131, 2010.

SILVA, A.B.; COSTA, A.P.; SÁ, J. C.; COSTA, F.B.; SANTOS, A.C.G.; GUERRA, R.M.S.N.C. Detecção molecular de *Babesia canis vogeli* em cães e em *Rhipicephalus*

sanguineus na mesorregião do Oeste Maranhense, Nordeste Brasileiro. **Ciência Animal Brasileira**, v.13, n.3, p. 388-395, jul./set. 2012.

SILVA, A.B.; COSTA, A.P.; SÁ, J. C.; COSTA, F.B.; SANTOS, A.C.G.; GUERRA, R.M.S.N.C. Detecção molecular de *Babesia canis vogeli* em cães e em *Rhipicephalus sanguineus* na mesorregião do Oeste Maranhense, Nordeste Brasileiro. **Ciência Animal Brasileira**, v.13, n.3, p. 388-395, jul./set. 2012.

SILVA, I.N.G., GUEDES, M.I.F., ROCHA, M.F.G., MEDEIROS, C.M.O., OLIVEIRA, L.C., MOREIRA, O.C., TEIXEIRA, M.F.S. Perfil hematológico e avaliação eletroforética das proteínas séricas de cães com cinomose. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.57, n.1, p136-139, 2005.

SILVA, J.N.; ALMEIDA, A.B.P.F.; SORTE, E.C.V.; FREITAS, 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**, Jaboticabal, v. 19, n. 2, p. 108-111, abr.-jun. 2010.

SILVA, M. C.; FIGHERA, R. A.; BRUM, J. S.; GRAÇA, D.; KOMMERS, G. D.; LUIZ F. IRIGOYEN, L. F.; BARROS, C. S. L. Aspectos clinicopatológicos de 620 casos neurológicos de cinomose em cães. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.27, n.5, p.215-220, maio, 2007.

SILVA, S. C., ZANINI, M. S. Cinomose. Disponível em: <<http://www.cca.ufes.br/cakc/virais/Cinomose.htm>>. Acesso em 24 abril de 2011.

SILVA, V. L. D. **Avaliação das alterações hematológicas e dos aspectos citológicos e histopatológicos da medula óssea na erliquiose canina aguda: estudo experimental**. 2001. 102 F. (Mestrado em Patologia Veterinária Experimental e Comparada) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.

SKRABALO, Z.; DEANOVIC, Z. “Piroplasmosis in man; report of a case,” **Documenta de Medicina Geographica et Tropica**, v. 9, n. 1, p. 11–16, 1957.

SOLANO-GALLEGO, L.; BANETH, G. Babesiosis in dogs and cats—Expanding parasitological and clinical spectra. **Veterinary Parasitology**, v.181, p.48-60, 2011.

SOLANO-GALLEGO, L.; LLULL, J.; OSSO, M.; HEGARTY, B.; BREITSCHWERDT, E. A serological study of exposure to arthropod-borne pathogens in dogs from northeastern Spain. **Veterinary Research**, v. 37, n. 2, p. 231-244, 2006.

SOLANO-GALLEGO, L.; TROTTA, M.; CARLI, E.; CARCY, B.; CALDIN, M.,; FURLANELLO, T. *Babesia canis canis* and *Babesia canis vogeli* clinicopathological findings and DNA detection by means of PCR-RFLP in blood from Italian dogs suspected of tick-borne disease. **Veterinary Parasitology**, v. 157, p.211–221, 2008.

SONNE, L.; OLIVEIRA, E. C.; PESCADOR, C. A.; SANTOS, A. S.; PAVARINI, S. P.; CARISSIMI, A. S.; DREIMEIER, D. Achados patológicos e imunohistoquímicos em cães infectados naturalmente pelo vírus da cinomose canina. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 29, n. 2, p. 143-149, 2009.

SOUSA, M.G.; HIGA, A.C.; GERARDI, D.G.; TINUCCI-COSTA, M.; MACHADO, R.Z. Tratamento da erliquiose canina de ocorrência natural com doxiciclina, precedida ou não pelo dipropionato de imidocarb. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, Lages, v.3, n.2, p. 126-130, 2004.

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. **Ciência Rural, Santa Maria**, v.40, n.6, p.1309-1313, jun, 2010.

SOUSA, V.R.F.; BOMFIM, T.C.B.; ALMEIDA, A.B.P.F.; BARROS, L.A.; SALES, K.G.; JUSTINO, C.H.S.; DALCIN, L. Coinfecção por *Anaplasma platys* and *Ehrlichia canis* in dogs diagnosed by PCR. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 37, n.3, p.281-283, 2009.

SOUZA, B. M.P.S. 2008. **Epidemiologia da *Ehrlichia sp.* e avaliação do seu potencial zoonótico no município de Salvador, Bahia**. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal nos Trópicos), Escola de Medicina Veterinária da Universidade Federal da Bahia, 2008, 64p.

SPIELMAN, A.; WILSON, M.L.; LEVINE, J.F.; PIESMAN, J. "Ecology of *Ixodes dammini*-borne human babesiosis and Lyme disease," **Annual Review of Entomology**, v. 30, p. 439–460, 1985.

STEGEMAN, J.R.; BIRKENHEUER, A.J.; KRUGER, J.M.; BREITSCHWERDT, E.B. Transfusion-associated *Babesia gibsoni* infection in a dog. **Journal American Veterinary Medical Association**, v. 222, p.959–963, 2003.

STICH, R.W.; SCHAEFER, J.J.; BREMER, W.G.; NEEDHAM, G.R.; JITTAPALAPONG, S. Host surveys, ixodid tick biology and transmission scenarios as related to the tick-borne pathogen, *Ehrlichia canis*. **Veterinary Parasitology**, v. 158, p. 256-273, 2008.

SUKSAWAT, J.; PITULLE, C.; ARRAGA-ALVARADO, C.; MADRIGAL, K.; HANCOCK, S.I.; BREITSCHWERDT, E.B. Coinfection with three *Ehrlichia* species in dogs from Thailand and Venezuela with emphasis on consideration of 16S ribosomal DNA secondary structure. **Journal of Clinical Microbiology**, v.39, p.90–93, 2001.

SUMMERS, B.A.; CUMMINGS, J.F.; LAHUNTA, A. **Inflammatory diseases of the nervous system**. In: _Veterinary Neuropathology. Saint Louis: Mosby, cap. 3, p.95-188, 1995.

SWANGO, L. J. Moléstias virais caninas. In: ETTINGER, S. J., FELDMAN, E. C. **Tratado de medicina interna veterinária**. 4 ed. Manole, 1997. p. 576-580.

SYKES, J.E. Immunodeficiencies Caused by Infectious Diseases. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 40, p. 409–423, 2010.

TABOADA, J. Babesiosis. In: Greene, C.E. (ed.), **Infectious Diseases of the Dog and Cat**. Philadelphia: Saunders, p. 473–481, 1998.

TABOADA, J. Canine babesiosis. In: Bonagura JD (ed), **Kirk's current veterinary therapy: XII. Small animal practice**. WB Saunders, P. 315-319, Philadelphia. PA, 1995.

TABOADA, J.; HARVEY, J. W.; LEVY, M. G.; BREITSCHWERDT, E. B. Seroprevalence

of babesiosis in Greyhounds in Florida. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, Schaumburg: **American Veterinary Medical Association**, v. 200, n. 1, p. 47-50, January 1992.

TABOADA, J.; LOBETTI, R. Babesiosis. In.: GREENE, C.E. **Infectious diseases of the dog and cat**. Missouri: Saunders Elsevier, 2006. cap. 77, p.722-736.

TABOADA, J.; MERCHANT, S.R. Infecções por protozoários e por outras causas. In: ETTINGER, S.J.; FELDMAN, E.C. **Tratado de Medicina Interna Veterinária**. São Paulo: Manole, 1997. cap. 68, p.554-572.

TATSUO, H.; ONO, N.; YANAGI, Y. Morbilliviruses use signaling lymphocyte activation molecules (CD150) as cellular receptors. **Journal of Virology**, v.75, n.13, p.5842–5850, 2007.

TENÓRIO, A.P.M.; ALMEIDA, E.L.; ALVES, L.C.; BRITO, F.L.C.; SANTOS, J.P.; COELHO, M.C.O.C. *Ehrlichia* sp. em mielócito de cão. **Medicina Veterinária**, Recife, v.1, n.1, p.62-65, jan-jun, 2007.

THEODOROU, K.; MYLONAKIS, M.E.; SIARKOU, V.I.; LEONTIDES, L.; KOUTINAS, A.F.; KOUTINAS, C.K.; KONSTANTINOY, M.K.; BATZIAS, G.; FLOURAKI, E.; EYAL, O.; KONTOS, V.; HARRUS, S. Efficacy of rifampicin in the treatment of experimental acute canine monocytic ehrlichiosis. **The Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v.68, n.7, p.1619-1626, 2013.

TIPOLD, A.; VANDEVELDE, M.; JAGGY, A. Neurological manifestation of canine distemper virus infection. **Journal Small Animal Practice**, v.33, p.466–470, 1992.

TOMMASI, A.S.; OTRANTO, D.; DANTAS-TORRES, F.; CAPELLI, G.; BREITSCHWERDT, E.B.; CAPRARIIS, D. Are vector-borne pathogen co-infections complicating the clinical presentation in dogs? **Parasites & Vectors**, v.6, p. 1-5, 2013.

TORRES, H.M.; MASSARD, C.L.; FIGUIREDO, M.J.; FERREIRA, T.; ALMOSNY, N.R.P. Isolamento e propagação da *Ehrlichia canis* em células DH82 e obtenção de antígeno para reação de imunofluorescência indireta. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, Rio de Janeiro, v. 9. n.2, p.77-82, 2002.

TRAPP, S. M., A. S. DAGNONE, O. VIDOTTO, R. L. FREIRE, AND H. S. A. DE MORAIS. Seroepidemiology of canine babesiosis and ehrlichiosis in a hospital population in south Brazil. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.16, n.3, p. 365, 2002.

TRAPP, S. M.; DAGNONE, A. S.;VIDOTTO, O.; FREIRE, R. L.; AMUDE, A. M.; MORAIS, H. S.A. Seroepidemiology of canine babesiosis and ehrlichiosis in a hospital population. **Veterinary Parasitology**, v. 140, p.223-230, 2006.

TRAPP, S. M.; MESSICK, J. B.; VIDOTTO, O. JOJIMA, F. S.; MORAIS, H. S. M. *Babesia gibsoni* genotype Asia in dogs from Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.141, p.177-180, 2006a.

TROTTA, M.; FOGLIAZZA, A.; FURLANELLO, T.; SOLANO-GALLEGU, L. A molecular study of exposure to tick-borne pathogens in sick dogs from Italy. **Clinical Microbiology and Infection Disease**, v.15, n. 2, p. 62–63, 2009.

TROY, G.C.; FORRESTER, S.D. Canine ehrlichiosis, pp 404-418. In Greene CE (ed), **Infectious diseases of the dog and cat**, ed 1. WB Saunders, Philadelphia, PA, 1990.

TUDURY, E.A.; ARIAS, M.V.B.; BRACARENSE, A.P.F.L.; MEGID, J.; JUNIOR, R.F.D. Observações clínicas e laboratoriais em cães com cinomose nervosa. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.27, n. 2, p. 229 – 235, 1997.

UENO, T.E.H.; AGUIAR, D.M.; PACHECO, R.C.; RICHTZENHAIN, L.J.; RIBEIRO, M.G.; PAES, A.C.; MEGID, J.; LABRUNA, M.B. *Ehrlichia canis* em cães atendidos em hospital veterinário de Botucatu, Estado de São Paulo, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, Jaboticabal**, v. 18, n. 3, p. 57-61, jul.-set. 2009.

UILENBERG, G. *Babesia* – a historical overview. **Veterinary Parasitology**, v. 138, p.3–10, 2006.

UILENBERG, G.; FRANSSSEN, F.F.; PERIE, N.M.; SPANJER, A.A. (1989) Three groups of *Babesia canis* distinguished and a proposal for nomenclature. **The Veterinary Quarterly**, v.11, n. 1, p. 33-40, Jan, 1989.

UNGAR DE SÁ, M.F.M.; UNGAR DE SÁ, J.E.; BITTENCOURT, D.V.V.; BISPO, A.C.; RÉGIS, A.M.M.; SOUZA FILHO, N.J.; GOMES NETO, C.M.B.; SOUZA, B.M.P.S.; BITTENCOURT, T.C.C.;FRANKE, C.R. Estudo retrospectivo (1991-2005), dos casos de babesiose canina na cidade de Salvador e Região Metropolitana, Bahia. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.8, n.3, p.178-183, jul/set, 2007.

UNVER, A.; PEREZ ,M.; ORELLANA, N.; HUANG, H.; RIKIHISA, Y. Molecular and antigenic comparison of *Ehrlichia canis* isolates from dogs, ticks, and a human in Venezuela. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 39, n. 8, p. 2788-2793, 2001.

VALLI, V. E. O. Hematopoietic system. In: MAXIE, M. G. **Jubb, Kennedy, and Palmer's pathology of domestic animals**. 5 ed. Philadelphia: Elsevier, 3rd, p.107-324, 2007.

VAN HEERDEN, J.; REYERS, F.; STEWART, C.G. Treatment and thrombocyte levels in VARELA, A.S. Tick-borne *Ehrlichiae* and *Rickettsiae* of dogs. In: BOWMAN, D.D. **Companion and exotic animal parasitology**. 2003. Disponível em: <<http://www.ivis.org>>. Acesso em: 6 abr. 2011.

VAN HEERDEN, J; REYERS, F.; STEWART, C.C. Treatment and thombocyte levels in experimentally induced canine ehrlichiosis and canine babesiasis. **The Onderstepoort journal of veterinary Research**, v. 50, p. 267-270, 1983.

VANNIER, E.; KRAUSE, P.J. Update on Babesiosis. **Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases**, p. 1-9, 2009.

VANNIER. E.; GEWURZ, B.E.; KRAUSE, P.J. “Human Babesiosis,” **Infectious Disease Clinics of North America**, v. 22, n. 3, p. 469–488, 2008.

VARELA, A.S. Tick-borne Ehrlichiae and Rickettsiae of dog. Publicado por: **IVIS - International Veterinary Service**, Ithaca, Nova Iorque - EUA: IVIS, 2003. 8p. Disponível em <http://www.ivis.org/advances/parasit_Bowman/varela/IVIS.pdf>. Acesso em: 10 nov 2013.

VARGAS HERNÁNDEZ, G. **Detección parasitológica, molecular e sorológica de *Ehrlichia canis* E *Babesia canis* em cães da região centro - oriental da Colômbia**. Dissertação (Mestrado em Clínica Médica Veterinária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2010.

VASCONCELOS, M. F. **Estudo da infecção por *Babesia* spp. em cães da região periurbana de Brasília**, Distrito Federal. 2010. 85 f. Dissertação (Mestrado em Saúde Animal)-Universidade de Brasília, Brasília, 2010.

VENZAL, J. M.; GUGLIELMONE, A.A.; ESTRADA PEÑA, A.; CABRERA, P.A.; CASTRO, O. Ticks (Ixodida: Ixodidae) parasitising humans in Uruguay. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, v. 97, n. 7, p. 769-772, 2003.

VIAL, H. J.; GORENFLOT, A. Chemotherapy against babesiosis. **Veterinary Parasitology**, v. 138, n. 147-160, 2006.

VIEIRA, R. F.C. **Avaliação molecular de micoplasmas hemotrópicos e soroprevalência de *Ehrlichia* spp., em uma população de cães, equinos e humanos de assentamento rural na região norte do estado do Paraná**. 2012.101p.Tese (Doutorado em ciência Animal)-Universidade Estadual de Londrina, Paraná, 2012.

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. S.; MESSICK, J.B.; LABRUNA, M. B.; VIDOTTO, O. Ehrlichiosis in Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 20, n. 1, p.1-12, 2011.

VON MESSLING, V.; MILOSEVIC, D.; CATTANEO, R. Tropism illuminated: lymphocyte-based pathways blazed by lethal morbillivirus through the host immune system. **Proceedings of the National Academy of Sciences, USA**, v. 101, n.39, p.14216–14221, 2004.

WAGNER, G.; CRUZ, D.; HOLMAN, P.; WAGHELA, S.; PERRONE, J.; SHOMPOLE, S.; RURANGIRWA, F. NON-immunologic methods of diagnosis of babesiosis. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 87, Suppl 3, p.193-199, 1992.

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

WANER, T.; HARRUS, S.; JONGEJAN, F.; BARK, H.; KEYSARY, A.; CORNELISSEN, A. W. C. A. Significance of serological testing for ehrlichial diseases in dogs with special emphasis on the diagnosis of canine monocytic ehrlichiosis caused by *Ehrlichia canis*. **Veterinary Parasitology**, v. 95, n. 1, p. 1-15, 2001.

WANER, T.; HARRUS, S.; JONGEJAN, F.; BARK, H.; KEYSARY, A.; CORNELISSEN, A. W. C. A. Significance of serological testing for ehrlichial diseases in dogs with special

emphasis on the diagnosis of canine monocytic ehrlichiosis caused by *Ehrlichia canis*. **Veterinary Parasitology**, v. 95, n. 1, p. 1-15, 2001.

WELC-FAŁĘCIAK, R.; BAJER, A.; BEDNARSKA, M.; PAZIEWSKA, A.; SIŃSK, E.I. Long term monitoring of *Babesia microti* infection in BALB/c mice, using nested PCR. **Annals of Agricultural and Environmental Medicine**, v.14 p. 287–290, 2007.

WEN, B.; RIKIHISA, Y.; MOTT, J.M.; GREENE, R.; KIM, H.Y.; ZHI, N.; COUTO, G.C.; UNVER, A.; BARTSCH, R. Comparison of nested PCR with immunofluorescent-antibody assay for detection of *Ehrlichia canis* infection in dogs treated with doxycycline. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 35, n. 7, p.1952-1955, 1997.

WESTERN, K.A.; BENSON, G. D.; GLEASON, N.N.; HEALY, G.R.; SCHULTZ, M.G.; “Babesiosis in a Massachusetts resident,” **The New England Journal of Medicine**, v. 283, n. 16, p. 854– 856, 1970.

WOODY, B.J.; HOSKINS, J.D. Ehrlichial diseases of dogs. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v.21, p.75-98, 1991.

WULANSARI, R.; WIJAYA, A.; ANO, H.; HORII, Y.; NASU, T.; YAMANE, S.; MAKIMURA, S. Clindamycine in the treatment of *Babesia gibsoni* infections in dogs. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 39, p.558–562, 2003.

WUNSCHMANN, A.; KREMMER, E.; BAUMGARTNER, W. Phenotypical characterization of T and B cell areas in lymphoid tissues of dogs with spontaneous distemper. **Veterinary Immunology and Immunopathology** , v.73, n.1, p.83–98, 2000.

YABSLEY, M.J.; MCKIBBEN, J.; MACPHERSON, C.N.; CATTAN, P.F.; CHERRY, N.A.; HEGARTY, B.C.; BREITSCHWERDT EB.; CONNOR TO.; CHANDRASHEKAR R.; PATERSON T.; PEREA ML.; BALL G.; FIESEN S.; GOEDDE J.; HENDERSON, B.; SYLVESTER,W. Prevalence of *Ehrlichia canis*, *Anaplasma platys*, *Babesia canis*, *Hepatozoon canis*, *Bartonella vinsonii berkhoffi*, and *Rickettsia* spp. in dogs from Grenada. **Veterinary Parasitology**, v. 151, n. (2-4), p.279–285, Feb, 2008.

YEAGLEY, T.J.; REICHARD, M.V.; HEMPSTEAD, J.E.; ALLEN, K.E.; PARSONS, L.M.; WHITE, M.A.; LITTLE, S.E.; MEINKOTH, J.H. Detection of *Babesia gibsoni* and the canine small *Babesia* 'Spanish isolate' in blood samples obtained from dogs confiscated from dogfighting operations. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.235, n.5, p.535-539, Sep 1, 2009.

ZAHLER, M.; SCHEIN, E.; RINDER, H.; GOTHE, R. Characteristic genotypes discriminate between *Babesia canis* isolates of differing vector specificity and pathogenicity to dogs. **Parasitology Research**, v.84 ,p.544-548, 1998.

ZINTL, A.; MULCAHY, G.; SKERRETT, H.E.; TAYLOR, S.M.; GRAY, J.S “*Babesia divergens*, a bovine blood parasite of veterinary and zoonotic importance,” **Clinical Microbiology Reviews**, v. 16, n. 4, p. 622–636, 2003.

APÊNDICE

PROJETO DE DOUTORADO: AVALIAÇÃO CLÍNICA, EPIDEMIOLÓGICA E LABORATORIAL DE
CÃES (*Canis familiaris*, Linnaeus, 1758) COM CINOMOSE, ERLIQUIOSE E BABESIOSE NO
HOSPITAL VETERINÁRIO DA UFRPE

RESPONSÁVEL: VANESSA CARLA LIMA DA SILVA

DADOS DO ANIMAL

DATA: ____/____/____ FICHA: _____
 NOME: _____ RAÇA: _____
 IDADE: _____ SEXO (M/F) PELAGEM: _____ PESO: _____
 VACINAS: ANTI-RÁBICA () ATRASADA () ATUALIZADA
 POLIVALENTE () ATRASADA () ATUALIZADA
 VERMIFUGAÇÃO: () ATRASADA () ATUALIZADA
 ALIMENTAÇÃO: () CASEIRA () RAÇÃO COMERCIAL
 () MISTA (CASEIRA+RAÇÃO COMERCIAL)
 AMBIENTE: () ÁREA URBANA () ÁREA RURAL
 () QUINTAL COM PISO () QUINTAL COM AREIA
 () QUINTAL COM AREIA E PISO () DENTRO DE CASA
 () DOMICILIADO () SEMI-DOMICILIADO () NÃO DOMICILIADO
 ACESSO À RUA () SIM () NÃO
 INFESTAÇÃO DE CARRAPATO NOS ÚLTIMOS 90 DIAS (S/N) _____
 UTILIZA ALGUM MEDICAMENTO PARA CONTROLE DOS CARRAPATOS? (S/N) _____
 QUAL? (ESPECIFIQUE) _____
 MUDA CONSTANTEMENTE O PRODUTO PARA CONTROLE DOS CARRAPATOS?
 () SIM () NÃO
 TEMPO DE EVOLUÇÃO DA DOENÇA? _____

DADOS DO PROPRIETÁRIO

NOME: _____
 ENDEREÇO: _____ Nº _____
 BAIRRO: _____ CIDADE: _____ FONE: _____

SINAIS CLÍNICOS, SINTOMAS E ACHADOS DO EXAME FÍSICO

() ANOREXIA () APATIA () ATAXIA
 () CARRAPATOS () CONJUNTIVITE () CONVULSÃO
 () DIARRÉIA () EPISTAXE () GLAUCOMA
 () HEMATOQUEZIA () HEMATÚRIA () HIFEMA
 () HIPERQUERATOSE () ALOPECIA PERIOCLAR () BLEFARITE
 () HIPOREXIA () LINFOADENOPATIA () MELENA
 () MUCOSAS PÁLIDAS () ML CONGESTAS () DERMATITE
 () MUCOSAS ICTÉRICAS () PARALISIA DO TREM POSTERIOR

- | | | |
|--|---|--|
| <input type="checkbox"/> PARESIA DO TREM POSTERIOR | <input type="checkbox"/> SECREÇÃO NASAL | <input type="checkbox"/> PETÊQUIAS |
| <input type="checkbox"/> PULGAS | <input type="checkbox"/> SECREÇÃO OCULAR | <input type="checkbox"/> ATROFIA MUSCULAR |
| <input type="checkbox"/> SECREÇÃO OCULAR | <input type="checkbox"/> SUFUSÕES | <input type="checkbox"/> TOSSE IMPRODUTIVA |
| <input type="checkbox"/> TOSSE PRODUTIVA | <input type="checkbox"/> UVEÍTE | <input type="checkbox"/> VÔMITO |
| <input type="checkbox"/> POLIARTRITE | <input type="checkbox"/> EDEMA PERIFÉRICO | |

OBSERVAÇÃO: _____

TR: _____

DIAGNÓSTICO PROVÁVEL: _____

DIAGNÓSTICO DEFINITIVO: _____

PESQUISA DE *Ehrlichia canis*: POSITIVA () NEGATIVA ()

PESQUISA DE *Babesia canis*: POSITIVA () NEGATIVA ()

PESQUISA INCLUSÃO VIRAL: POSITIVA () NEGATIVA ()

PCR *Babesia canis*: POSITIVA () NEGATIVA ()

PCR *Ehrlichia canis*: POSITIVA () NEGATIVA ()

RT PCR PARA CDV: POSITIVA () NEGATIVA ()

IDENTIFICAÇÃO DO ECTOPARASITA: _____

ANEXO



LICENÇA N°
031/2012
1506/2011 - B05



COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS DA UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO

SOLICITAÇÃO DE LICENÇA PARA USO DE ANIMAIS

1. IDENTIFICAÇÃO DO SOLICITANTE

NOME	Marcos Antônio Lemos de Oliveira
INSTITUIÇÃO DE ORIGEM	UFRPE
CARGO/FUNÇÃO	Professor Associado do DMV
DEPARTAMENTO/UNIDADE ACADÊMICA	DMV/UFRPE
ENDEREÇO ELETRÔNICO E TELEFONE	

2. DADOS GERAIS DO PROJETO

TÍTULO	AVALIAÇÃO DO PERFIL CLÍNICO, EPIDEMIOLÓGICO E LABORATORIAL DE CÃES (<i>Canis familiaris</i> , Linnaeus, 1758) COM CINOMOSE, ERLIQUIOSE E BABESIOSE NO HOSPITAL VETERINÁRIO DA UFRPE.
ÁREA TEMÁTICA ¹	Avaliação e Reparação Clínico-Cirúrgica das Afecções Animais.
CATEGORIA (PESQUISA, ENSINO OU EXTENSÃO)	Pesquisa.
DATA INÍCIO/TÉRMINO	Março de 2011/janeiro de 2014.
LOCAL DE EXECUÇÃO	Hospital veterinário da UFRPE.

¹De acordo com o CNPq

3. DADOS DA EQUIPE

RESPONSÁVEL (IS)	NOME	FORMAÇÃO/QUALIFICAÇÃO*	FUNÇÃO
	Marcos Antônio Lemos de Oliveira Associado do DMV	Pós-Doutorado	Professor
COLABORADOR (ES)	NOME	FORMAÇÃO/QUALIFICAÇÃO ¹	FUNÇÃO
	Vanessa Carla Lima da Silva		Doutoranda do PPCV/UFRPE
	Evilda Rodrigues de Lima	Doutorado	Profa. Associada do DMV
	Rita de Cássia Carvalho Maia	Doutorado	Profa. Adjunta do DMV

¹Informar titulação e/ou cursos realizados.

4. RESUMO DO PROJETO (NO MÁXIMO 2.500 CARACTERES)

O presente trabalho objetiva-se em avaliar o perfil clínico, epidemiológico e laboratorial de cães com cinomose, erliquiose e babesiose, implementar as técnicas de diagnóstico molecular, objetivando-se em melhorar o serviço de atendimento, mapear a situação real destas enfermidades no Hospital Veterinário da Universidade Federal Rural de Pernambuco, considerando que diagnósticos precisos são imprescindíveis para o tratamento terapêutico adequado e para a adoção de medidas de profilaxia e controle.

5. JUSTIFICATIVA PARA A REALIZAÇÃO DO PROJETO (DESTACAR A RELEVÂNCIA DO PROJETO E CONTRIBUIÇÃO PARA O AVANÇO DO CONHECIMENTO ATUAL E/OU POTENCIAIS BENEFÍCIOS PARA A ESPÉCIE SOB ESTUDO E/OU ESPÉCIE HUMANA)

O aumento na população canina associada à relação afetiva/emocional do ser humano levanta preocupações do ponto de vista de saúde pública, uma vez que o cão pode ser responsável pela transmissão de várias doenças zoonóticas, dentre elas a erliquiose e a babesiose. Daí, a necessidade do diagnóstico, tratamentos clínicos e sanitários urgentes. O presente trabalho é bastante importante para a população canina e humana, pois, essas doenças tem potencial zoonótico.

CEUA - UFRPE
Aprovado em
04/09/2012
Validade
04/09/2014