



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

MARIA VICTÓRIA DE LUCA DELGADO ALVES

**ASPECTOS CLÍNICO-LABORATORIAIS DE INFECÇÕES POR *Ehrlichia sp.* E
Babesia sp. EM CÃES ATENDIDOS NO HOSPITAL VETERINÁRIO DA UNIFIL NO
MUNICÍPIO DE LONDRINA – PARANÁ**

Londrina
2020

MARIA VICTÓRIA DE LUCA DELGADO ALVES

ASPECTOS CLÍNICO-LABORATORIAIS DE INFECÇÕES POR *Ehrlichia sp.* E *Babesia sp.* EM CÃES ATENDIDOS NO HOSPITAL VETERINÁRIO DA UNIFIL NO MUNICÍPIO DE LONDRINA – PARANÁ

Projeto de Dissertação apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Clínicas Veterinárias da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Clínicas Veterinárias.

Orientador: Prof. Dr. Guilherme Felippelli Martins.

Londrina
2020

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

A474 Alves, Maria Victória de Luca Delgado.
ASPECTOS CLÍNICO-LABORATORIAIS DE INFECÇÕES POR *Ehrlichia* sp. E *Babesia* sp. EM CAES ATENDIDOS NO HOSPITAL VETERINARIO DA UNIFIL NO MUNICÍPIO DE LONDRINA – PARANÁ / Maria Victória de Luca Delgado Alves. - Londrina, 2020.
63 f. : il.

Orientador: Guilherme Felippelli Martins.
Dissertação (Mestrado Profissional em Clínicas Veterinárias) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Clínicas Veterinárias, 2020.
Inclui bibliografia.

1. Patologia Clínica Veterinária - Tese. 2. Hemoparasitoses - Tese. 3. Hematologia - Tese. 4. Medicina Veterinária Preventiva - Tese. I. Felippelli Martins, Guilherme . II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Clínicas Veterinárias. III. Título.

CDU 619

MARIA VICTÓRIA DE LUCA DELGADO ALVES

ASPECTOS CLÍNICO-LABORATORIAIS DE INFECÇÕES POR *Ehrlichia sp.* E *Babesia sp.* EM CÃES ATENDIDOS NO HOSPITAL VETERINÁRIO DA UNIFIL NO MUNICÍPIO DE LONDRINA – PARANÁ

Projeto de Dissertação apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Clínicas Veterinárias da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Clínicas Veterinárias.

Banca examinadora:

Prof. Dr. Guilherme Felippelli Martins
Universidade Estadual de Londrina (UEL)

Prof. Dr. Andrei Kelliton Fabretti
Universidade Estadual de Londrina (UEL)

Prof. Dr. Luiz Daniel de Barros
Universidade Estadual de Londrina (UEL)

Local: Londrina, 13 de agosto de 2020.

Dedico este trabalho aos meus pais, Cristiane e Carlos Eduardo, à minha avó, Elza, à minha irmã, Maria Eduarda, meus sobrinhos Rafael e Luiza, e ao meu namorado, Lucas Falat, por toda a paciência, carinho, amor, compreensão e apoio recebidos durante a minha caminhada acadêmica e sem os quais a concretização dessa etapa não seria possível.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço à Deus. Pelo dom da vida, por me tornar médica veterinária, por colocar em meu coração sonhos que eu jamais pensei que seria capaz de concretizar, por me fazer forte e confiante para chegar até aqui e, acima de tudo, pela sua companhia em momentos em que só Ele poderia me consolar.

Agradeço aos meus pais, Cristiane e Carlos Eduardo, por serem a minha âncora, meu porto seguro, por me apoiarem em todas as minhas decisões e me prepararem da melhor forma para voar longe deles sem perder a minha essência, e, principalmente, pelos valores e educação dedicados a mim e a minha irmã. Sem vocês, não seria nada do que sou hoje. Amo vocês!

À minha avó, Elza, meu norte, maior exemplo de força, fé e coragem. A ela dedico tudo o que tenho, tudo o que sou e tudo o que serei. Sem a senhora, nada disso seria possível. Obrigada por sempre lutar e cuidar da nossa família com toda a sua dedicação e seu amor. Te amo sem fim!

Aos meus avôs Juarez e Manoel, minha tia Tita e minha bisavó Edith, sei que vocês olham por mim aí do céu e que estão ao lado de Deus cuidando de mim. Saudades eternas...

À minha irmã, Maria Eduarda, por me incentivar a ingressar no mestrado e a investir na minha vida acadêmica e na minha carreira, por ser minha companheira de vida. A ela e ao meu cunhado William, agradeço eternamente por me darem os melhores presentes da minha vida, meus sobrinhos Rafael e Luiza. Amo vocês!

Ao meu namorado Lucas, pelos 8 anos juntos, pelo companheirismo e sua dedicação, por entender minhas escolhas e me apoiar em todas elas, por dividir comigo planos e sonhos, por sempre me incentivar a ser uma pessoa melhor e por acreditar todos os dias no meu potencial! Te amo muito!

Aos meus amigos queridos, que levo comigo desde a graduação, Thiago Guandelini, Mariana Turquino e Hugo Luca. Às minhas amigas Fabiane, Ana Paula e Monalysa, que foram as melhores pessoas que eu pude conhecer nesses últimos tempos. Aos amigos que fiz na caminhada do mestrado. Camila Lima, Giordana Zani, Marcelo Favoretto, Maria Gabriela Martins e Jussana Delgado, pelo companheirismo, pelas palavras de apoio e incentivo nesses dois anos. Amo vocês e agradeço por estarem sempre ao meu lado!

Ao meu orientador, professor Guilherme Felippelli Martins, pelo aceite em me orientar, pela paciência nesses dois anos de mestrado, por acreditar no meu potencial e me auxiliar nessa etapa importantíssima da minha vida como médica veterinária. Obrigada por tudo!

Por fim, mas não menos importante, agradeço aos meus anjinhos de quatro patas, Paçoca, Billy, Dom e Buddy, e aos que já se foram mas que permanecem no meu coração Jully, Jhonny, Leon, Bambi, Julie e Dixie. Foi no amor por vocês que descobri minha vocação.

LISTA DE ABREVIATURAS

ALT – Alanina Aminotransferase
ATC – Anaplasmosse Trombocítica Canina
CHCM – Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média
CID – Coagulação Intravascular Disseminada
dL – Decilitro
DNA – Ácido Desoxirribonucleico
ELISA – Ensaio Imunoenzimático
EMC – Eriquiose Monocítica Canina
FA – Fosfatase Alcalina
fL - Fentolitro
g – Grama
GB – Grupo Babesiose
GE – Grupo Ehrlichiose
GEB – Grupo Ehrlichiose/Babesiose
IM - Intramuscular
Kg – Quilograma
mUI – Miliunidades Internacionais
mg - Miligrama
m- Metro
PCR – Reação em Cadeia Polimerase
pg- Picograma
PO2 – Pressão Parcial de Oxigênio
RIFI – Imunofluorescência Indireta
SC – Subcutâneo
SID – “*semel in die*” (uma vez ao dia)
SFM – Sistema Fagocítico Mononuclear
SRD – Sem Raça Definida
UI – Unidade Internacional
VCM – Volume Corpuscular Médio
μL - Microlitro

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Mórula de <i>Ehrlichia sp.</i> (seta) em esfregaço de sangue periférico de cão naturalmente infectado.....	25
Figura 2- <i>Babesia canis</i> (seta) observada em esfregaço de sangue periférico de cão naturalmente infectado (seta).....	26
Figura 3- Frequência (%) de trombocitopenia em 71 cães parasitados por <i>Ehrlichia sp.</i> , <i>Babesia sp.</i> e co-infectados por <i>Ehrlichia sp.</i> , <i>Babesia sp.</i> , confirmados por PCR, divididos em trombocitopênicos e não-trombocitopênicos, atendidos no Hospital Veterinário do Centro Universitário Filadélfia, Londrina – Paraná, no período de janeiro de 2014 a julho de 2018.....	37

LISTA DE QUADROS E TABELAS

Tabela 1 - Ocorrência absoluta e relativa de cães positivos para *Ehrlichia sp.*, *Babesia sp.* e animais co-infectados por *Ehrlichia sp.* e *Babesia sp.*, atendidos no Hospital Veterinário do Centro Universitário Filadélfia, Londrina – Paraná, no período de janeiro de 2014 a julho de 2018, distribuídos de acordo com idade, gênero e raça.....33

Tabela 2 - Ocorrência absoluta e relativa de cães positivos para *Ehrlichia sp.*, *Babesia sp.* e animais co-infectados por *Ehrlichia sp.* e *Babesia sp.*, atendidos no Hospital Veterinário do Centro Universitário Filadélfia, Londrina – Paraná, no período de janeiro de 2014 a julho de 2018, distribuídos de acordo com o perfil racial.....34

Tabela 3 - Ocorrência absoluta e relativa de cães positivos para *Ehrlichia sp.*, *Babesia sp.* e animais co-infectados por *Ehrlichia sp.* e *Babesia sp.*, atendidos no Hospital Veterinário do Centro Universitário Filadélfia, Londrina – Paraná, no período de janeiro de 2014 a julho de 2018, distribuídos de acordo com os achados laboratoriais.....36

Tabela 4 - Ocorrência absoluta e relativa de cães positivos para *Ehrlichia sp.*, *Babesia sp.* e animais co-infectados por *Ehrlichia sp.* e *Babesia sp.*, atendidos no Hospital Veterinário do Centro Universitário Filadélfia, Londrina – Paraná, no período de janeiro de 2014 a julho de 2018, distribuídos de acordo com os sinais clínicos apresentados.....38

Quadro 1 - Valores de referência para eritrograma, leucograma e bioquímica renal de cães.....35

SUMÁRIO

1. ASPECTOS CLÍNICOS-LABORATORIAIS DAS INFECÇÕES POR EHRlichia SP. E BABESIA SP. EM CÃES ATENDIDOS NO HOSPITAL VETERINÁRIO DA UNIFIL NO MUNICÍPIO DE LONDRINA – PARANÁ	Erro! Indicador não definido.
1.1 RESUMO	12
1.2 ABSTRACT	13
2. INTRODUÇÃO	14
3. REVISÃO DE LITERATURA	16
3.1 Histórico e Taxonomia	16
3.2 Transmissão	17
3.3 Fisiopatogenia	18
3.4 Sinais clínicos	20
3.5 Achados laboratoriais	23
3.6 Diagnóstico	24
3.6.1 Parasitológico direto	24
3.6.2 Testes sorológicos	26
3.6.3 Biologia molecular	27
3.7 Tratamento	28
3.8 Prognóstico	29
3.9 Profilaxia e controle	29
4 MATERIAIS E MÉTODOS	30
5 RESULTADOS	32
6 DISCUSSÃO	39
7. CONCLUSÃO	43
8. REFERÊNCIAS	44
POLICITEMIA VERA EM UM CÃO – RELATO DE CASO	52
9.1 RESUMO	52
9.2 ABSTRACT	53
9.3 INTRODUÇÃO	54
9.4 RELATO DE CASO	57
9.5 DISCUSSÃO	59
9.6 CONCLUSÃO	60
9.7 REFERÊNCIAS	61
APÊNDICES	62
APÊNDICE A: Aceite da Comissão de Ética no Uso de Animais	63
APÊNDICE B: Instruções para submissão de artigo – Revista Semina Ciências biológicas e da saúde.	64

ALVES, Maria Victória de Luca Delgado. **ASPECTOS CLÍNICO-LABORATORIAIS DE INFECÇÕES POR *Ehrlichia sp.* E *Babesia sp.* EM CÃES ATENDIDOS NO HOSPITAL VETERINÁRIO DA UNIFIL NO MUNICÍPIO DE LONDRINA – PARANÁ.** 2020. 66f. Projeto de Dissertação apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Clínicas Veterinárias da Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2020.

1.1 RESUMO

As hemoparasitoses, como a Erliquiose e a Babesiose, são condições patológicas comumente encontradas na clínica de pequenos animais. No Brasil, a alta incidência destas afecções, principalmente a Erliquiose canina, as tornam emergentes em algumas regiões do país, sendo transmitidas por vetores artrópodes, tendo o *Rhipicephalus sanguineus* o principal transmissor das hemoparasitoses em cães. Este trabalho tem como objetivo avaliar os aspectos clínicos e laboratoriais de cães atendidos no Hospital Veterinário da Unifil, no município de Londrina, no período de 2014 a 2018, afim de estabelecer o perfil dessas afecções em cães na região do norte do Paraná. Dos 71 cães deste estudo, 44 foram diagnosticados com *Ehrlichia sp.* (GE), 20 foram diagnosticados com *Babesia sp.* (GB) e 7 estavam co-infectados (GEB). No GE, 23 (52,27%) eram machos e 21 (47,73%) eram fêmeas. No GB, 15 (75%) eram fêmeas e os 5 restantes (25%) eram machos. No GEB, 4 (57,14%) eram machos e 3 (42,86%) eram fêmeas. Tanto no GE, quanto no GB e no GEB, a maioria dos cães possuíam raça definida. O achado laboratorial mais significativo foi a trombocitopenia, onde 64 (90%) dos 71 cães deste estudo apresentaram-se trombocitopênicos e apenas 7 (10%) eram não-trombocitopênicos. No GE, 41 (93,18%) cães apresentaram trombocitopenia. 16 (80%) do GB eram trombocitopênicos e 100% dos cães co-infectados do GEB tinham trombocitopenia como achado laboratorial mais significativo. Clinicamente, a maioria dos animais do GE, GB e GEB apresentaram-se apáticos, anoréxicos, febris e com queixas de vômito pelos tutores no momento da consulta. Devido ao caráter emergente das hemoparasitoses, cães que sejam oriundos de regiões endêmicas devem ser avaliados clinicamente e laboratorialmente, sendo a PCR o exame de eleição para diagnóstico, e medidas profiláticas devem ser instituídas para um efetivo controle do vetor transmissor.

Palavras-chaves: carrapatos, anemia, trombocitopenia, hemoparasitas, hematologia.

ALVES, Maria Victória de Luca Delgado. **CLINICAL-LABORATORY ASPECTS OF *EHRlichia SP* INFECTIONS. AND *BABESIA SP.* IN DOGS SERVED AT UNIFIL'S VETERINARY HOSPITAL IN THE CITY OF LONDRINA – PARANÁ.** 2020. 66pp. Dissertation – Professional Master's Degree in Veterinary Clinics – State University of Londrina, Londrina, 2020.

1.2 ABSTRACT

Hemoparasitosis, such as Ehrlichiosis and Babesiosis, are pathological conditions commonly found in the clinic of small animals. In Brazil, the high incidence of these conditions, especially canine ehrlichiosis, makes them emerging in some regions of the country, being transmitted by arthropod vectors, with *Rhipicephalus sanguineus* being the main transmitter of hemoparasitosis in dogs. This work aims to evaluate the clinical and laboratory aspects of dogs treated at Hospital Veterinário da Unifil, in the city of Londrina, from 2014 to 2018, in order to establish the profile of these conditions in dogs in the northern region of Paraná. Of the 71 dogs in this study, 44 were diagnosed with *Ehrlichia sp.* (GE), 20 were diagnosed with *Babesia sp.* (GB) and 7 were co-infected (GEB). In the EG, 23 (52.27%) were males and 21 (47.73%) were females. In GB, 15 (75%) were females and the remaining 5 (25%) were males. In the GEB, 4 (57.14%) were males and 3 (42.86%) were females. In both GE, GB and GEB, most dogs were defined breed. The most significant laboratory finding was thrombocytopenia, where 64 (90%) of the 71 dogs in this study were thrombocytopenic and only 7 (10%) were non-thrombocytopenic. In the EG, 41 (93.18%) dogs presented thrombocytopenia. 16 (80%) of the GB were thrombocytopenic and 100% of the co-infected dogs of the GEB had thrombocytopenia as the most significant laboratory finding. Clinically, the majority of the animals of the GE, GB and GEB were apathetic, anorexic, feverish and with complaints of vomiting by the guardians at the time of the consultation. Due to the emergent character of hemoparasitosis, dogs that come from endemic regions should be evaluated clinically and laboratory, with the PCR being the exam of choice for diagnosis, and prophylactic measures should be instituted for effective control of the transmitting vector.

Key words: ticks, anemia, thrombocytopenia, hemoparasites, hematology.

2. INTRODUÇÃO

As hemoparasitoses, infecções causadas por bactérias ou protozoários, que, por obrigatoriedade, parasitam células sanguíneas de animais domésticos e apresentam alta incidência dentro da rotina clínica de pequenos animais. Dentre os principais causadores, pode-se citar a *Babesia canis*, *Ehrlichia canis* e *Anaplasma platys*, agentes da Babesiose Canina, Ehrlichiose Monocítica Canina (EMC) e Anaplasmosse Trombocítica Canina (ATC), respectivamente (DUMLER, et al., 2001; COSTA, 2011).

A crescente casuística de doenças parasitárias transmitidas por vetores tem configurado um grande desafio dentro da clínica médica, tanto na medicina humana, quanto na medicina veterinária (ANDRÉ, 2008; BRAGA et al., 2011), uma vez que, devido à sua prevalência, potencial zoonótico e caráter emergente em muitas partes do mundo, em especial algumas regiões no Brasil, apresentam grande relevância na saúde pública (FRITZ, 2009). Dentre esses vetores, pode-se citar o *Rhipicephalus sanguineus* como o principal artrópode transmissor no Brasil da Erliquiose Canina e Babesiose Canina (COSTA, 2011).

A *Ehrlichia canis*, bactéria intracelular obrigatória de células hematopoiéticas de linhagem fagocítica mononuclear (monócitos e macrófagos), pertence à família *Anaplasmataceae*. No Brasil, é a principal espécie do gênero *Ehrlichia* descrita como agente causador da Ehrlichiose Monocítica Canina (EMC) (AGUIAR, et al., 2013). Além dela, outras espécies do gênero *Ehrlichia* foram descritas no Brasil e possuem potencial zoonótico, como a *Ehrlichia ewingii*, agente etiológico da Ehrlichiose Granulocítica Humana e Canina, e *Ehrlichia chaffensis*, agente da Ehrlichiose Monocítica Humana (OLIVEIRA et al., 2009).

Já a *Babesia canis*, protozoário causador da Babesiose Canina no Brasil, diferentemente da *E. canis*, parasita preferencialmente hemácias. Dentro da espécie *Babesia canis*, há três subespécies que diferem entre si quanto à sua patogenicidade e vetor transmissor: *B. canis canis*, *B. canis vogeli* e *B. canis rossi*. Destas, a *B. canis vogeli* é transmitida pelo *Rhipicephalus sanguineus* e a principal causadora da Babesiose em cães no Brasil (ADASZEK & WINIARCZYK, 2008).

O objetivo desse trabalho é apresentar os resultados de um estudo retrospectivo e avaliar os aspectos clínicos e laboratoriais de cães atendidos no Hospital Veterinário da Unifil, no município de Londrina, no período de 2014 a 2018,

sem predileção por raça ou idade, submetidos à avaliação clínica e laboratorial e positivos para *Ehrlichia sp.* e *Babesia sp.* afim de estabelecer o perfil dessas afecções em cães na região do norte do Paraná.

3. REVISÃO DE LITERATURA

Diversas doenças transmitidas por carrapatos têm chamado a atenção de médicos veterinários, uma vez que, apresentam grande importância na saúde única. As hemoparasitoses, infecções causadas por bactérias ou protozoários, possuem elevada incidência na rotina clínica de animais de companhia, representando um problema histórico e emergente em diversas localidades do mundo, devido principalmente à sua relevância dentro da medicina veterinária, prevalência e potencial zoonótico. Dentre as principais hemoparasitoses existentes, pode-se citar a Babesiose Canina, Ehrlichiose Monocítica Canina (EMC) e Anaplasmosse Trombocítica Canina (ATC), causadas por *Babesia canis*, *Ehrlichia canis* e *Anaplasma platys*, respectivamente. Ambas são transmitidas aos animais por vetores artrópodes, como os carrapatos, por exemplo (HARRUS & WANER, 2011).

3.1 Histórico e Taxonomia

O primeiro relato do aparecimento da *Ehrlichia canis*, anteriormente denominada *Rickettsia canis*, foi em 1935, em um Pastor Alemão, na Argélia, descrito por Donatien e Lestoquard no Instituto Pasteur. Porém, 10 anos depois, em 1945, Mashkovvsky reclassificou o agente como *Ehrlichia canis*, homenageando o famoso bacteriologista alemão Paul Ehrlich (McDADE, 1990).

No Brasil, o primeiro relato de ehrlichiose canina ocorreu em Belo Horizonte, Minas Gerais, feito por Costa et al., (1973), seguido por outro relato em Jaboticabal, em São Paulo, feito por Maregati, em 1978 (KAVINSKI, 1988).

A ehrlichiose é afecção causada por uma bactéria pertencente à Ordem Rickettsiales, Família Anaplasmataceae, do gênero *Ehrlichia*. Cinco espécies compreendem esse gênero, sendo elas a *Ehrlichia ruminantium*, *E. chaffeensis*, *E. ewingii*, *E. muris* e *E. canis* (DUMLER et al., 2001). De acordo com Cohn (2003), a *E. canis* foi a primeira a ser relatada como patógeno de importância na medicina veterinária, e, por essa razão, a mais estudada. A única espécie descrita no Brasil em cães era a *E. canis* (LABRUNA et al., 2007), porém, estudos realizados relataram cinco casos de cães infectados por *E. ewingii* (OLIVEIRA et al., 2009).

É uma bactéria gram-negativa, imóvel, cocoide e elipsoidal, parasita intracelular obrigatório de células hematopoiéticas, especialmente aquelas do sistema fagocitário mononuclear, como monócitos e linfócitos (DUMLER et al., 2001).

A Babesiose é uma patologia causada por protozoários do gênero *Babesia*, transmitidos por vetores artrópodes durante o repasto sanguíneo (ADASZEK & WINIARCZYK, 2008). Muitas vezes são referidos como piroplasmas, um termo utilizado para designar protozoários que infectam hemácias de mamíferos. São classificados no filo Apicomplexa, Classe Sporozoa, ordem Piroplasmorida, família Babesiidae (VIAL; GORENFLOT, 2006).

Nos cães, as duas espécies predominantes capazes de infectá-los, são *Babesia canis* e *Babesia gibsoni*, as quais podem ser encontradas no mundo todo (GREGORY; FORRESTER, 2006). Além dessas, uma outra espécie descrita também pode acometer os cães, a *Theileria equi*, anteriormente denominada *Babesia equi* (CRIADO-FORNELIO et al., 2004).

3.2 Transmissão

O principal vetor de transmissão para os animais é o carrapato, o qual pertence à classe Arachnida, Ordem Acarina e família Ixodidae, tendo três formas parasitárias no seu ciclo de vida: larva, ninfa e adulto (FORTES, 2004; LABRUNA, 2004).

As fases de ninfa e adulta são capazes de realizar a transmissão transestadial, no entanto, a horizontal ocorre através da secreção salivar do *Rhipicephalus sanguineus*, no momento do repasto sanguíneo. Estudos demonstram que são necessárias 12 – 18 horas após a fixação do carrapato para que ocorra a transmissão de hemoparasitas (VIGNES et al., 2001). Porém, Fourie, Stanneck, Luss (2013) relataram em seu estudo que o *R. sanguineus* pode transmitir *E. canis* dentro de 3 horas pós fixação. Como não há transmissão transovariana, as larvas do *R. sanguineus* não possuem importância na transmissão, porém, podem se infectar pelo agente e manter a infecção até o estágio adulto (COHN, 2003; UENO, et al., 2009).

A transmissão da babesiose ocorre quando um animal sadio é infectado no momento do repasto sanguíneo, onde o carrapato inocula os esporozoítos junto com a saliva (UILENBERG, 2006).

No vetor, a transmissão ocorre por via transovariana e transestadial, o que pode garantir a permanência do agente por várias gerações (CHAUVIN et al., 2009). Na transmissão transestadial, ou horizontal, os carrapatos na fase de larva ou ninfa adquirem a *Babesia* e a transmitem no estágio seguinte. Já na transmissão transovariana, ou vertical, a fêmea transmite o parasito aos seus descendentes, com as larvas já infectadas no momento da eclosão. Todas as fases de vida são capazes de transmitir a *B. canis*, sendo ninfas e adultos mais eficazes no processo de transmissão (O'DWYER & MASSARD, 2002).

Existem três diferentes subespécies de *Babesia canis*: *B. canis canis*, *B. canis vogeli* e *B. canis rossi*. Morfologicamente são bastante semelhantes entre si, porém, diferenciam-se entre si pelo vetor (ADASZEK & WINIARCZYK, 2008). A *B. canis canis* é transmitida pelo *Dermacentor reticulatus*, sendo comum na Europa e norte da Ásia. Já a *B. canis vogeli* é transmitida pelo *Rhipicephalus sanguineus*, em regiões de clima tropical e subtropical, como Estados Unidos, América do Sul, Brasil, Japão, Austrália, África do Sul e África Oriental. Por fim, a *B. canis rossi* é transmitida através do *Haemaphysalis leachi*, na África do Sul e região leste do Sudão (EIRAS et al., 2008).

No Brasil, assim como a ehrlichiose, a babesiose é considerada endêmica, possuindo grande importância dentro das doenças transmitidas por carrapatos na medicina veterinária, com prevalência crescente em algumas regiões, o que está associado à alta incidência do *Rhipicephalus sanguineus*. Não é incomum que animais portadores de ehrlichiose também apresentem co-infecção com babesiose, visto que ambas as afecções possuem um vetor transmissor em comum, o *Rhipicephalus sanguineus* (VIDOTTO & TRAPP, 2004).

3.3 Fisiopatogenia

No carrapato, a disseminação das bactérias do gênero *Ehrlichia* ocorrem a partir do intestino para os hemócitos e para a glândula salivar. Os carrapatos sobrevivem como adultos por 155 a 568 dias sem se alimentar, podendo transmitir a infecção por até 155 dias após se tornarem infectados (DAGNONE et al., 2001).

O controle desse artrópode é de difícil realização (ISOLA; CADIOLI; NAKAGE, 2012) e os casos de infecção ocorrem principalmente durante as estações mais

quentes do ano, momento em que o carrapato se encontra mais ativo (HARRUS & WANER, 2011).

Estudos demonstram que, além do *Rhipicephalus sanguineus*, outro carrapato, o *Amblyomma cajennense*, está envolvido como um vetor ativo na transmissão da ehrlichiose, principalmente em áreas rurais (COSTA et al., 2007).

Cada espécie de *Ehrlichia* possui tropismo por determinados tecidos, onde desenvolverá a doença. Após o período de incubação, com duração de 8 a 20 dias, os microrganismos costumam invadir tecidos ricos em células do sistema fagocitário mononuclear (SFM), como linfonodos, baço, fígado e sangue, replicando-se por divisão binária. Essa replicação acarreta em linfadenomegalia e hiperplasia linforreticular de fígado e baço caracterizando a fase aguda da infecção (MENDONÇA et al., 2005).

Diversos fatores podem influenciar o resultado da infecção nos cães. Diferença na patogenicidade das cepas de *E. canis* e co-infecção com outros patógenos, como *Babesia canis vogeli*, transmitida pelo mesmo vetor, por exemplo, implicam nas manifestações clínicas da doença que um animal infectado possa apresentar (GREGORY; FORRESTER, 2006; HARRUS & WANER, 2011).

Os protozoários do gênero *Babesia* possuem tropismo por hemácias, sendo considerados parasitas intraeritrocitários. O período de incubação varia de 10 a 21 dias. Ao invadirem essas células, aos pares em casos de infecção por *B. canis*, ou isolados em casos de *B. gibsoni*, os protozoários multiplicam-se por fissão binária, o que, por sua vez, acaba fazendo com que o eritrócito não suporte um número elevado de parasitas, culminando assim, com a lise celular. Após lisarem a hemácia, os piroplasmas disseminam-se na corrente sanguínea até invadirem outra hemácia e darem continuidade no seu processo de replicação (TABOADA & MERCHANT, 2004). A lise das hemácias libera na circulação mediadores inflamatórios de ação sistêmica que causam vasodilatação periférica e hipotensão, facilitando a agregação eritrocitária (BRANDÃO & HAGIWARA, 2002; VALLI, 2007).

Em eritrócitos não parasitados, a destruição ocorre devido ao reconhecimento destas células pelo sistema imune, uma vez que essas hemácias se encontram marcadas por antígenos aderidos às suas membranas (ADACHI et al., 1995).

A patogenia da babesiose muitas vezes culmina em anemia hemolítica progressiva. Além do quadro anêmico, devido à hemólise intensa, ocorre liberação de hemoglobina na circulação, que por sua vez acarreta em hemoglobinúria e

bilirrubinemia. Quando está em grande quantidade na circulação, a fração indireta da bilirrubina leva à sobrecarga do fígado, ocasionando icterícia, congestão hepática e esplênica, culminando em hepatoesplenomegalia (TABOADA & MERCHANT, 2004).

A doença mais grave, causada por *B. canis rossi*, pode levar à quadros de hipóxia, coagulação intravascular disseminada (CID), inflamação sistêmica, choque hipotensivo associado à diminuição não-hemolítica do volume globular, disfunção múltipla de órgãos e choque sistêmico, não somente pela destruição massiva de eritrócitos, mas também pela obstrução de capilares de diversos órgãos por células parasitadas e parasitas livres, levando o animal à óbito (WELZL et al., 2001).

3.4 Sinais clínicos

O curso da erliquiose pode ser dividido em três fases, aguda, subclínica e crônica, de acordo com a sintomatologia clínica e anormalidades clínico-patológicas manifestadas em estudos por infecção experimental. No entanto, diferenciá-las de forma precisa quando adquiridas naturalmente torna-se um desafio (GREGORY; FORRESTER, 2006).

A erliquiose é caracterizada por manifestações clínicas multissistêmicas, com intensidade que varia de acordo com a fase da doença. Não há predileção por raça, idade e/ou sexo, uma vez que cães com 2 meses a 13 anos de idade foram relatados (SOUZA et al., 2010). Cães da raça Pastor Alemão parecem ser mais suscetíveis do que as outras raças (BORIN et al., 2009; UENO et al., 2009).

A fase aguda possui duração média de duas a quatro semanas. A replicação do microorganismo ocorre em células mononucleares da corrente sanguínea com posterior disseminação para fígado, baço e linfonodos. A trombocitopenia ocorre durante a fase aguda, entre 10 e 20 dias pós infecção, com aumento de plaquetas imaturas circulantes, que por sua vez, pode persistir por toda a doença na maioria dos animais (GREGORY; FORRESTER, 2006).

Clinicamente, as principais manifestações observadas na fase aguda são apatia, anorexia, vômito, esplenomegalia, petéquias, secreção oculonasal, mucosas pálidas, epistaxe e uveíte (NAKAGHI et al., 2008; BORIN et al., 2009; HARRUS & WANER, 2011). Geralmente esses sinais clínicos desaparecem dentro de uma a quatro semanas, tornando os cães portadores assintomáticos que podem entrar na

fase subclínica, permanecendo infectados por longos períodos, de meses a anos (ORÍÁ et al., 2004; GREGORY; FORRESTER, 2006).

Os sinais oftálmicos podem estar presentes em todas as fases da doença. A prevalência é de 10 – 15% em cães naturalmente infectados e a severidade varia de animal para animal. Os achados principais incluem uveíte anterior, coriorretinite, hemorragia de retina e cegueira em casos onde a hiperviscosidade sanguínea acarreta em descolamento de retina (HARRUS & WANER, 2011).

A fase subclínica ocorre num período de seis a nove semanas após a inoculação, podendo durar meses ou anos. Os cães apresentam-se clinicamente saudáveis, com o peso normalizado e sem febre, porém, permanecendo portadores persistentes por anos (GREGORY; FORRESTER, 2006). Cães imunocompetentes podem eliminar os microorganismos e suspender a infecção, não entrando, dessa forma, na fase subclínica (BREITSCHWERDT, 2004).

A fase crônica apresenta-se por último, e na maioria dos animais, após a fase subclínica. As manifestações mais frequentes são supressão medular e uma maior tendência à sangramentos, por mucosas e conjuntivas. A letalidade nessa fase é alta e a gravidade é maior, quando comparada às outras fases da EMC. Devido à supressão da medula óssea, a produção de elementos sanguíneos é afetada, levando à um quadro de pancitopenia (DAGNONE et al., 2001).

Os sinais clínicos são semelhantes aos da fase aguda, porém, com maior intensidade e gravidade. A perda de peso é significativa e pacientes nessa fase podem evoluir para o óbito, por infecções secundárias ou sangramentos profusos. Pneumonia intersticial, insuficiência renal, artrite, polimiosite, sinais neurológicos, como paraparesia ou tetraparesia, ataxia, déficits de nervos cranianos e convulsões. Torna-se de suma importância o diagnóstico precoce antes do animal entrar na fase crônica da doença e ter um prognóstico mais favorável (GREGORY; FORRESTER, 2006).

A babesiose está classificada em duas formas: descomplicada e complicada. Essa classificação foi determinada com base no grau das manifestações clínicas, associado à multiplicação dos piroplasmas nos eritrócitos e a patogenicidade das espécies de *Babesia sp.* e as subespécies de *Babesia canis* (TABOADA & LOBETTI, 2015). A imunidade do hospedeiro, idade e doenças pré-existentes também influenciam na apresentação da doença (SOLANO-GALLEGO et al., 2008).

A forma complicada decorre da anemia hemolítica intensa e da liberação sistêmica de mediadores inflamatórios, que leva ao choque hipovolêmico (BRANDÃO

& HAGIWARA, 2002). Podem haver complicações que culminem com anemia, icterícia, coagulação intravascular disseminada, síndrome da angústia respiratória aguda, insuficiência renal aguda, sinais neurológicos, hemoconcentração e choque, demonstrando o envolvimento de sistemas que, por sua vez, acarretam em falência múltipla de órgãos (LOBETTI, 1998; LOBETTI et al., 2002).

Na forma descomplicada, os sinais clínicos estão relacionados à hemólise de baixa intensidade, sendo eles mucosas pálidas, taquipneia, taquicardia, febre, icterícia, esplenomegalia, apatia e anorexia (LOBETTI, 1998; TABOADA & MERCHANT, 2004).

Também pode ser descrita em hiperaguda, aguda e subclínica ou crônica. Destas, a forma hiperaguda é a menos comum e observada em filhotes, estando associada à intensa infestação por carrapatos e parasitemia, tendo como sinais clínicos choque endotóxico, coagulação intravascular disseminada (CID), hemoglobinúria, icterícia e resposta inflamatória sistêmica severa (DASEY et al., 2001; LAPPIN, 2015).

A forma aguda compreende infecções causadas principalmente por *B. gibsoni* ou *B. canis rossii*, e inclui manifestações como anemia, trombocitopenia, icterícia, esplenomegalia, febre, letargia e anorexia (LAPPIN, 2015). É possível que cães portadores de babesiose na fase aguda se recuperem clinicamente mas continuem com a parasitemia em níveis baixos onde não é possível a detecção do agente em esfregaços sanguíneos, tornando-se portadores crônicos. Porém, se submetidos a situações capazes de imunossuprimi-los, sinais clínicos como febre intermitente, perda de peso, fraqueza, edema, petéquias, icterícia, movimentos de pedalagem e coma, podem aparecer (McGAVIN & ZACHARY, 2009; LAPPIN, 2015).

Na forma subclínica, ou crônica, muitas vezes o animal apresenta-se normal ao exame físico e à pesquisa do parasita em esfregaço sanguíneo (MAIA, 2005). É a forma de apresentação clínica predominante em cães com babesiose no Brasil (VIDOTTO & TRAPP, 2004).

3.5 Achados laboratoriais

Na erliquiose, durante a fase aguda, os principais achados laboratoriais são anemia, leucopenia e trombocitopenia. Segundo Lappin (2015), a anemia é do tipo normocítica normocrômica regenerativa. A trombocitopenia pode ocorrer por consumo de plaquetas, sequestro esplênico, destruição imunomediada ou diminuição do tempo de meia vida das plaquetas. A função das plaquetas também pode ser alterada, onde alguns animais apresentam sangramentos superficiais com o número de plaquetas e perfil de coagulação normais. Casos sem trombocitopenia podem ocorrer (ALMOSNY & MASSARD, 2002; ACCETTA, 2008).

A fase subclínica é caracterizada pela manutenção da leucopenia, trombocitopenia e anemia mesmo com a ausência de sinais clínicos (BREITSCHWERDT, 2004).

Já na fase crônica, a anemia arregenerativa é a alteração hematológica mais frequente. No leucograma, há neutropenia com desvio à esquerda, trombocitopenia e eosinopenia, configurando um quadro de pancitopenia, com supressão da série eritroide, mieloide e megacariocítica. Pode ocorrer hipoalbuminemia associada à perda renal de proteínas por nefropatia. (BORIN et al., 2009).

Outros achados incluem azotemia, muitas vezes por glomerulonefrite por depósito de imunocomplexos, aumento de alanina aminotransferase, fosfatase alcalina e bilirrubina total (BULLA et al., 2004; MACIEIRA et al., 2005; SANTOS et al., 2009). Proteínas séricas estão acima dos valores de referência na maioria dos cães positivos para *E. canis*. A hipergamaglobulinemia ocorre devido ao desenvolvimento de resposta imunomediada a componentes celulares do hospedeiro, o que pode ser visto pela ocorrência de glomerulonefrite, por exemplo (KELLY, 1994).

Deve-se destacar que, o achado da trombocitopenia não deve ser utilizado como sinal patognomônico para a erliquiose, uma vez que, outras doenças podem cursar com diminuição dos níveis de plaquetas (BULLA et al., 2004; MACIEIRA et al., 2005; SANTOS et al., 2009).

Os achados laboratoriais mais comuns em cães com babesiose incluem anemia regenerativa, hemoglobinúria, acidose metabólica, trombocitopenia. Também podem ser encontrados achados bioquímicos como hipoalbuminemia, hiperbilirrubinemia, bilirrubinúria, azotemia e cilindros renais. Destes citados, as principais anormalidades observadas são a anemia regenerativa e a trombocitopenia

(MORAES et al., 2016). Geralmente, a anemia cursa como normocítica normocrômica no início, progredindo para macrocítica hipocrômica e regenerativa. Ocorre reticulose proporcional ao desenvolvimento da anemia. A causa da trombocitopenia ainda não é muito bem elucidada, porém, acredita-se que os mecanismos mais prováveis para a sua ocorrência sejam os de destruição mediada por anticorpos ou consumo acelerado por conta de vasculite endotelial ou também por sequestro esplênico (BRANDÃO & HAGIWARA, 2002).

Achados leucocitários podem revelar leucocitose, neutrofilia, neutropenia, linfocitose e eosinofilia. Animais adultos sorologicamente positivos, mas, assintomáticos, podem não demonstrar anormalidades hematológicas (SILVA et al., 2011).

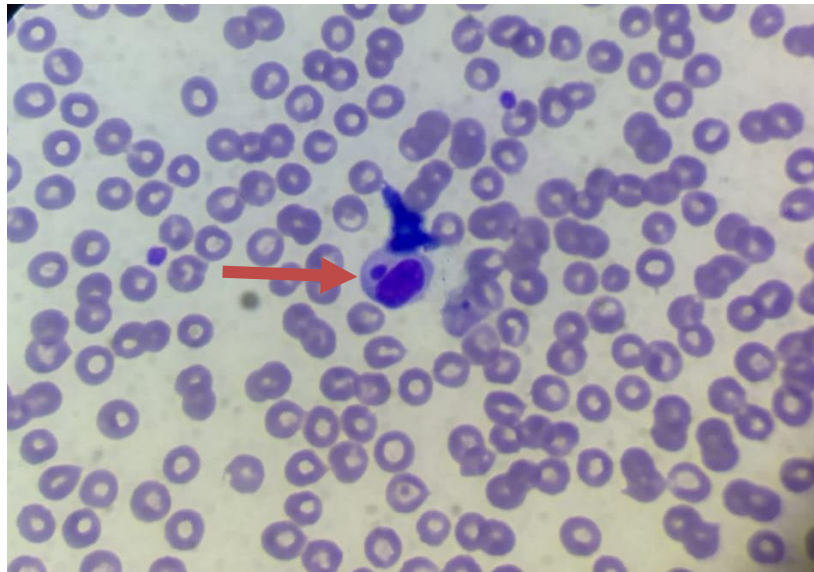
3.6 Diagnóstico

O diagnóstico da EMC baseia-se na associação dos sinais clínicos apresentados pelo paciente, além dos achados no exame físico e em exames laboratoriais, além do histórico de contato prévio com carrapatos. A confirmação é feita mediante exame parasitológico direto, sorologia e técnicas de biologia molecular (DAGNONE et al., 2003). Para o sucesso na confirmação do diagnóstico, a sorologia e a biologia molecular devem ser utilizadas em conjunto com esfregaços sanguíneos em qualquer paciente com suspeita de EMC (LITTLE, 2010).

3.6.1 Parasitológico direto

Método diagnóstico de rápida execução baixo custo, amplamente utilizado para pesquisa de hemoparasitas, rotineiramente executado em clínicas e hospitais veterinários. Baseia-se na pesquisa por inclusão de mórulas de *E. canis* em leucócitos de esfregaços de sangue (Figura 1). Contudo, deve-se considerar que a ausência de hemoparasitas em células não descarta a possibilidade de infecção (BORIN et al., 2009).

Figura 1. Mórula de *Ehrlichia sp.* (seta) observada em esfregaço de sangue periférico de cão naturalmente infectado.

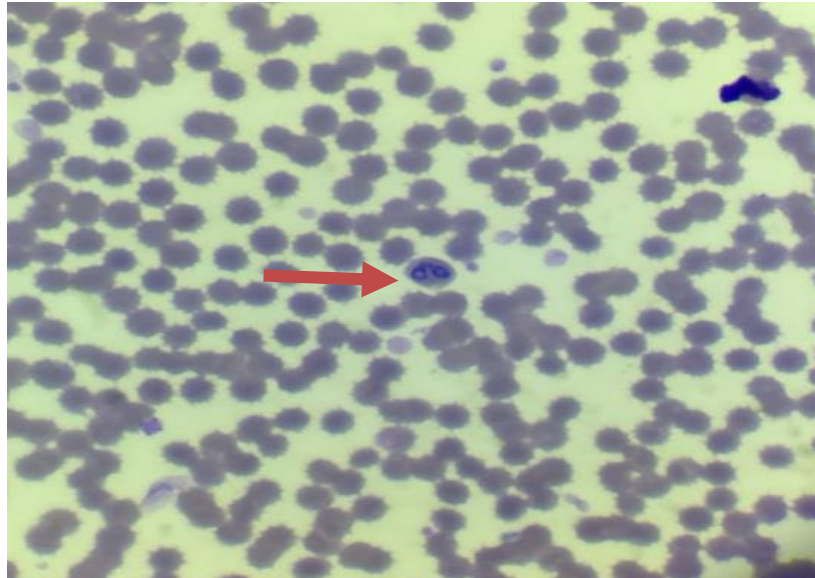


Fonte: professor Dr. Guilherme Felippelli Martins.

Segundo Harrus & Waner (2011), essa técnica é indicada para o diagnóstico na fase aguda, uma vez que a visualização de mórulas de *E. canis* nas fases subclínicas e crônicas é rara, devido à parasitemia flutuante do agente etiológico, induzindo o clínico à um falso negativo.

A confirmação da babesiose é feita encontrando o parasita no interior das hemácias (Figura 2). Lâminas de esfregaço devem ser confeccionadas com sangue periférico (ponta de orelha). Piroplasmas encontrados aos pares nos eritrócitos são sugestivos de infecção por *B. canis*, enquanto que piroplasmas únicos sugerem parasitemia por *B. gibsoni* (LAPPIN, 2015).

Figura 2. *Babesia canis* (seta) observada em esfregaço de sangue periférico de cão naturalmente infectado.



Fonte: professor Dr. Guilherme Felippelli Martins.

3.6.2 Testes sorológicos

Dentre os testes disponíveis para diagnóstico de erliquiose e babesiose, a reação de imunofluorescência indireta (RIFI) pode ser utilizada tanto em infecções experimentais ou naturais. Nesse teste, há a pesquisa de anticorpos anti- *E. canis* e anti-*Babesia*. Pela RIFI, a soropositividade inicia-se 7 a 21 dias após a infecção, com níveis máximos após 80 dias, persistindo a menos que o tratamento seja realizado (ALMOSNY & MASSARD, 2002). Considera-se positivo títulos de IgG 1:40. Em casos de infecções agudas, são indicados dois testes com intervalo de 7 – 14 dias entre eles (HARRUS & WANER, 2011).

Falsos negativos podem acontecer em casos de recente infecção, já que, para os anticorpos anti-*Babesia* serem detectados, um período de cinco a dez dias pós-infecção é necessário (TABOADA & MERCHANT, 2004).

Testes como Ensaio Imunoenzimático (ELISA) também são utilizados para o diagnóstico destas enfermidades. Comercialmente, estão disponíveis kits ImmunoComb Dot-ELISA, para detecção de anticorpos IgG em cães suspeitos de erliquiose, podendo ser realizado com sangue total, soro ou plasma. São de fácil

leitura e apresentam boa sensibilidade (HARRUS et al., 2002). Em estudo feito por Oliveira et al. (2000), 52 cães suspeitos foram testados por meio do ImunnoComb Dot-ELISA, onde 92,32% foram sororeagentes (positivos) e apenas 4 cães foram negativos, reforçando a sensibilidade do teste.

Os testes sorológicos também possuem dificuldade em diferenciar exposição prévia de infecção, podendo ainda ocorrer reação cruzada com outras espécies. Em áreas endêmicas, cães podem apresentar altos níveis de IgG sem apresentação clínica, induzindo a falsos positivos (BULLA et al., 2004).

3.6.3 Biologia molecular

A Reação em Cadeia Polimerase (PCR, do inglês *Polymerase Chain Reaction*) é uma metodologia desenvolvida nos anos 80, que permite a amplificação e detecção do material genético do agente. A PCR é amplamente utilizada, pois é capaz de diferenciar diferentes espécies de *Ehrlichia* através da identificação de sequências espécie-específicas no DNA da bactéria (ALVES et al., 2005; PINYOOWONG et al., 2008).

A nested-PCR é uma variação da PCR. Estudos mostram que a nested-PCR é mais sensível que a PCR, sendo usada com certa frequência para detecção de *E. canis* (WEN et al., 1997; MURPHY et al., 1998). No entanto, inovações tecnológicas resultaram em outra variação da PCR, a PCR *real time* (PCR em tempo real), que possui a capacidade de gerar resultados quantitativos, ganhando espaço nos diagnósticos clínicos. Ela permite o acompanhamento da reação e da apresentação dos resultados de forma mais rápida e precisa quando comparada à PCR, que fornece apenas resultados qualitativos (NOVAIS & PIRES-ALVES, 2004). A PCR *real time* permite quantificar rapidamente a carga bacteriana, tornando-se o método preferencial para detecção de *E. canis* (HARRUS & WANER, 2011).

Como é comum a co-infecção entre mais de um hemoparasito, principalmente em regiões endêmicas, Kledmanee et al. (2009) desenvolveram um Multiplex de PCR, exame capaz de detectar simultaneamente mais de um agente etiológico em uma mesma reação com uma mesma amostra, como por exemplo *E. canis*, *Babesia* sp e *Hepatozoon canis*.

3.7 Tratamento

O tratamento para erliquiose consiste em diminuir a carga bacteriana e cessar o quadro clínico. Diversas drogas estão disponíveis, como tetraciclina, doxiciclina, oxitetraciclina, dipropionato de imidocarb e cloranfenicol (ALMOSNY, 2002).

A tetraciclina foi, durante anos, a droga de eleição para o tratamento da EMC. Porém, como não há resposta efetiva relacionada ao tempo suficiente para o tratamento, um consenso do grupo *ACVIM-American College of Veterinary Internal Medicine*, elegeu a doxiciclina como tratamento de eleição, na dose de 10 mg/kg por via oral (VO), a cada 24 horas (SID), por 28 dias, para cães e gatos infectados (NEER et al., 2002).

Além de sua conhecida efetividade, a doxiciclina mostra-se ideal até mesmo em pacientes com doença renal como um fator complicante, uma vez que sua eliminação é pela via fecal, não aumentando as concentrações deste fármaco na corrente sanguínea (ALMOSNY, 2002; ADAMS, 2003).

O tratamento para erliquiose consiste na administração de doxiciclina, 5mg/kg, a cada 12 horas, durante 28 dias, ou, 10mg/kg a cada 24 horas, pelo mesmo período de tempo, por via oral ou intravenosa. O dipropionato de imidocarb possui eficácia comprovada, quando há a presença de duas ou mais espécies do gênero *Ehrlichia* ou quando há co-infecção com *Babesia*, causando a eliminação completa do agente do organismo, quando utilizado na dose de 5 mg/kg por via intramuscular (IM), com duas aplicações num intervalo de 15 dias entre elas. Devido ao fato de apresentar reações colinérgicas adversas, como salivação, dispneia, depressão, secreção ocular serosa, por exemplo, indica-se aplicação prévia de sulfato de atropina, na dose de 0,02 mg/kg por via subcutânea (SC), 15 minutos antes da aplicação do dipropionato de imidocarb (BRANDÃO & HAGIWARA, 2002).

Na terapia de suporte, a fluidoterapia auxilia na restauração da volemia do paciente, correção de distúrbios hidroeletrólíticos e ácidos-básicos. Antieméticos também devem ser empregados para o controle da êmese. Em situações onde surjam infecções bacterianas secundárias, o uso de antibióticos torna-se necessário. Além disso, pacientes em estado crítico com anemia severa devem ser transfundidos o mais breve possível (LAPPIN, 2010; AGUIAR, 2015).

3.8 Prognóstico

O prognóstico da erliquiose e da babesiose depende da fase em que o animal é diagnosticado. A fase aguda, quando detectada precocemente, possui prognóstico favorável. O prognóstico é variável conforme a fase em que a doença é diagnosticada. Se diagnosticada na fase aguda com rápida instituição do tratamento, o prognóstico é bom, porém, alguns animais tratados tornam-se portadores da doença, podendo ocorrer recidivas. À medida que a doença progride e os sinais clínicos agravam, o prognóstico pode evoluir de reservado a mau (SILVA et al., 2011).

3.9 Profilaxia e controle

A prevenção torna-se de suma importância quando se trata de locais com alta população, como por exemplo, canis e gatis. Os métodos mais eficazes envolvem principalmente o controle do vetor, o carrapato. Tal conduta deve ser feita não somente no animal, mas também no ambiente em que vive e também em seus contactantes. Assim como na erliquiose, não existem vacinas para a prevenção de Bebesiose (LAPPIN, 2015).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Trata-se de um estudo retrospectivo, com análise de casos clínicos atendidos no Hospital Veterinário do Centro Universitário Filadélfia, localizado no município de Londrina, estado do Paraná.

Os dados foram coletados com base em um levantamento dos casos de pacientes atendidos no Hospital Veterinário no período de janeiro de 2014 a julho 2018, PCR positivos para *Ehrlichia* e/ou *Babesia*, não havendo preferência por raça, sexo e idade.

Para o diagnóstico, material foi obtido após coleta de sangue durante o atendimento clínico, acondicionado em tubos com EDTA e encaminhados para o laboratório de Patologia Clínica do próprio Hospital. O processamento inicial, com eritrograma e contagem total de leucócitos, foi realizado em analisador hematológico semi-automatizado, modelo BC 2800 VET – Mindray®. As contagens diferenciais de hemácias, leucócitos e plaquetas foram feitas manualmente em lâmina para confirmar a contagem do analisador.

Quanto à realização da PCR, as amostras de sangue total EDTA eram refrigeradas e encaminhadas para dois laboratórios veterinários comerciais, TECSA®¹ e Grupo São Camilo®.²

Como critério de inclusão, padronizou-se cães com resultados reagentes (positivos) para *Ehrlichia* sp. e *Babesia* sp. após processamento da amostra por meio de PCR. Contrário a isso, para determinar o critério de exclusão, determinou-se os pacientes com resultados não reagentes (negativos) para *Ehrlichia* sp. e/ou *Babesia* sp por meio de PCR.

Foram levantadas e tabuladas informações de pacientes obtidas no banco de dados do próprio hospital. Os casos foram separados em três grupos, sendo o Grupo E (GE), para pacientes com Ehrlichiose, o Grupo B (GB), para pacientes com Babesiose e o grupo para pacientes com co-infecção de ehrlichiose e babesiose, o Grupo EB (GEB).

¹ TECSA Laboratórios. Av. do Contorno, 6226 – Savassi. CEP: 30110-042, Belo Horizonte – Minas Gerais/Brasil.

² Grupo São Camilo – Medicina Diagnóstica. Rua Santos Dummond, 3430 – Zona 03. CEP: 87050-100, Maringá – Paraná/Brasil.

Nos grupos GE, GB e GEB, foram levantados dados de resenha: idade, gênero e raça. A variável idade foi agrupada por faixa etária: até 1 ano; de 1 a 4 anos; de 4 a 9 anos e acima de 9 anos. Quanto ao gênero, foram separados por machos e fêmeas e, relativo à raça, foram tabeladas as raças dos animais do estudo.

Os principais sinais clínicos apresentados pelos pacientes na primeira consulta foram catalogados e listados para o GE, GB e GEB, separadamente.

Além disso, dados laboratoriais, como valores de hemácias, hematócrito, plaquetas, leucócitos e proteínas plasmáticas totais foram tabulados. Na variável de achados laboratoriais, os dados agrupados foram: anemia, leucopenia, hiperproteinemia, trombocitopenia e leucocitose.

5 RESULTADOS

No período de janeiro de 2014 a julho de 2018, foram atendidos no setor de clínica médica do Hospital Veterinário 71 pacientes portadores de Ehrlichiose e/ou Babesiose, confirmados por PCR. Destes, 44 (62%) foram positivos para *Ehrlichia sp.*, 20 (28%) positivos para *Babesia sp.* e sete (10%) animais apresentavam co-infecção. Todos os animais do estudo eram da espécie canina, não sendo levantados dados relativos à espécie felina.

Dessa forma, os animais foram divididos em três grupos: Grupo E (GE) para os animais positivos para Erliquiose, Grupo B (GB), para animais positivos para Babesiose e Grupo EB (GEB), para animais co-infectados.

No Grupo GE, relativo ao gênero, foram encontrados os seguintes resultados: 23 (52,27%) eram machos e os 21 (47,73%) restantes eram fêmeas. Na variável idade, foram encontrados os seguintes resultados: 13 (29,55%) animais encontravam-se na faixa de quatro a nove anos; 11 (25%) estavam na faixa etária de um a quatro anos; 10 (22,73%) animais com mais de nove anos e os outros 10 (22,73%) restantes tinham até um ano de idade. Para o grupo GB, em relação ao gênero, os resultados obtidos demonstraram que, 15 (75%) cães eram fêmeas e cinco (25%) eram machos, perfazendo o total de 20 cães deste grupo. Relativo à faixa etária, os resultados para o grupo GB foram: sete (35%) dos animais estavam na faixa etária de um a quatro anos; seis (30%) tinham quatro a nove anos; quatro (20%) tinham até um ano de vida e três (15%) acima de nove anos. No grupo GEB, em um total de sete cães, observou-se predominância dos machos em relação às fêmeas, sendo quatro (57,14%) e três (42,86%) animais, respectivamente. De acordo com a faixa etária no grupo GEB, não foram observados animais com idade até um ano, tampouco acima de nove anos. Os cães desse grupo distribuíram-se com quatro (57,14%) representantes na faixa de quatro a nove anos e os três (42,86%) restantes na faixa de um a quatro anos, conforme descrito no quadro abaixo.

Tabela 1 - Ocorrência absoluta e relativa de cães positivos para *Ehrlichia sp.*, *Babesia sp.* e animais co-infectados por *Ehrlichia sp.* e *Babesia sp.*, atendidos no Hospital Veterinário do Centro Universitário Filadélfia, Londrina – Paraná, no período de janeiro de 2014 a julho de 2018, distribuídos de acordo com idade, gênero e raça.

Resenha	Fator	<i>Ehrlichia sp.</i> Valor absoluto (valor relativo)	<i>Babesia sp.</i> Valor absoluto (valor relativo)	Co-infecção – Valor absoluto (valor relativo)	Total
Idade	Até 1 ano	10 (22,73%)	4 (20%)	0	14
	1 a 4 anos	11 (25%)	7 (35%)	3 (42,86%)	21
	4 a 9 anos	13 (29,55%)	6 (30%)	4 (57,14%)	23
	Acima de 9 anos	10 (22,73%)	3 (15%)	0	13
Gênero	Machos	23 (52,27%)	5 (25%)	4 (57,14%)	32
	Fêmeas	21 (47,73%)	15 (75%)	3 (42,86%)	39
Raça	Sem raça definida	13 (29,55%)	6 (30%)	1 (14,285%)	20
	Com raça definida	31 (70,45%)	14 (70%)	6 (85,71%)	51

Fonte: O próprio autor.

Foram encontrados os seguintes resultados relativos às raças no grupo GE: 13 (29,55%) animais eram sem raça definida (SRD) e 31 (70,45%) possuíam raça. Nestes, a ocorrência distribuiu-se da seguinte forma: cinco (11,36%) lhasa apso; quatro (9,09%) rottweiler; três (6,82%) Shih-tzu. As raças bull terrier, pastor alemão e schnauzer tiveram dois (4,55%) representantes cada. Já as raças basset hound, australian cattle dog, dachshund, golden retriever, pastor suíço, pinscher, pitbull, pointer inglês, poodle, rhodesian ridgeback, sharpei, spitz japonês e yorkshire tiveram um (2,27%) representante cada. Em relação à variável raça dos animais do grupo GB, obteve-se os seguintes resultados: seis (30%) cães não possuíam raça definida (SRD). Os 14 (70%) demais, foram distribuídos da seguinte forma: quatro (20%)

pertenciam à raça shih-tzu; dois (10%) eram da raça rottweiler. As raças beagle, cane corso, chow-chow, lhasa apso, pastor alemão, pinscher, pitbull e spitz alemão tinham um (5%) animal cada. Na variável raça do grupo GEB, observou-se sua distribuição da seguinte forma: cada uma das raças, Beagle, Cane Corso, Pastor Alemão, Pitbull, Rottweiler, Shih-Tzu e SRD tiveram um representante cada, totalizando os sete animais deste grupo, vide quadro abaixo.

Tabela 2 - Ocorrência absoluta e relativa de cães positivos para *Ehrlichia sp.*, *Babesia sp.* e animais co-infectados por *Ehrlichia sp.* e *Babesia sp.*, atendidos no Hospital Veterinário do Centro Universitário Filadélfia, Londrina – Paraná, no período de janeiro de 2014 a julho de 2018, distribuídos de acordo com o perfil racial.

Raças	<i>Ehrlichia sp.</i> Valor absoluto (valor relativo)	<i>Babesia sp.</i> Valor absoluto (valor relativo)	Co-infecção - Valor absoluto (valor relativo)
Australian cattle dog	1 (2,27%)	0	0
Basset hound	1 (2,27%)	0	0
Beagle	0	1 (5%)	1 (14,285%)
Bull terrier	2 (4,55%)	0	0
Cane corso	0	1 (5%)	1 (14,285%)
Chow-chow	0	1 (5%)	0
Dachshund	1 (2,27%)	0	0
Golden retriever	1 (2,27%)	0	0
Lhasa apso	5 (11,36%)	1 (5%)	0
Pastor alemão	2 (4,55%)	1 (5%)	1 (14,285%)
Pastor Suíço	1 (2,27%)	0	0
Pinscher	1 (2,27%)	1 (5%)	0
Pitbull	1 (2,27%)	1 (5%)	1 (14,285%)
Pointer inglês	1 (2,27%)	0	0
Poodle	1 (2,27%)	0	0
Rhodesian ridgeback	1 (2,27%)	0	0
Rottweiler	4 (9,09%)	2 (10%)	1 (14,285%)
Schnauzer	2 (4,55%)	0	0
Sem raça definida (SRD)	13 (29,55%)	6 (30%)	1 (14,285%)
Sharpei	1 (2,27%)	0	0
Shih-tzu	3 (6,82%)	4 (20%)	1 (14,285%)
Spitz alemão	0	1 (5%)	0
Spitz japonês	1 (2,27%)	0	0
Yorkshire	1 (2,27%)	0	0
TOTAL	44 (100%)	20 (100%)	7 (100%)

Fonte: O próprio autor.

O quadro seguinte contém valores de referência para exames de hemograma e bioquímico para cães, utilizada como parâmetro para determinação da ocorrência dos principais achados laboratoriais deste estudo.

Quadro 1 - Valores de referência para eritrograma, leucograma e bioquímica renal de cães.

Hemograma e Bioquímico	Valores de referência
Hemácias ($10^6/\mu\text{L}$)	5,5 – 8,5
Hemoglobina (g/dL)	12,0 – 18,0
Hematócrito (%)	37 – 55
VCM (fL)	60 – 77
CHCM (%)	32 – 36
Proteínas Totais Plasmáticas (g/dL)	6,0 – 8,0
Leucócitos ($/\mu\text{L}$)	6.000 – 17.000
Bastonetes ($/\mu\text{L}$)	0 – 300
Segmentados ($/\mu\text{L}$)	3.000 – 11.500
Eosinófilos ($/\mu\text{L}$)	100 – 1.250
Linfócitos ($/\mu\text{L}$)	1.000 – 4.800
Basófilos ($/\mu\text{L}$)	Raros
Monócitos ($/\mu\text{L}$)	150 – 1.350
Plaquetas ($/\mu\text{L}$)	175.000 – 500.000
Ureia (mg/dL)	21,4 – 59,92
Creatinina (mg/dL)	0.5 – 1.5
ALT (UI/ dL)	21 - 73
FA (UI/ dL)	20 156

Fonte: Adaptada de: SCHALM's Veterinary Hematology (2010).

Quanto aos principais achados laboratoriais demonstrados, 41 dos cães do grupo GE apresentaram trombocitopenia; 24 tiveram anemia; 10 cães tiveram hiperproteinemia e nove apresentaram leucopenia. Apenas um animal teve leucocitose. Dos 20 animais do grupo GB, 16 apresentaram trombocitopenia. Além deste achado, a anemia esteve presente em nove animais; quatro apresentaram leucopenia; um apresentou hiperproteinemia e apenas um leucocitose. Todos os sete animais do grupo GEB apresentaram trombocitopenia. dois animais tiveram anemia,

outros dois leucopenia e outros dois, hiperproteinemia. Nenhum dos cães desse grupo demonstraram leucocitose nos exames laboratoriais.

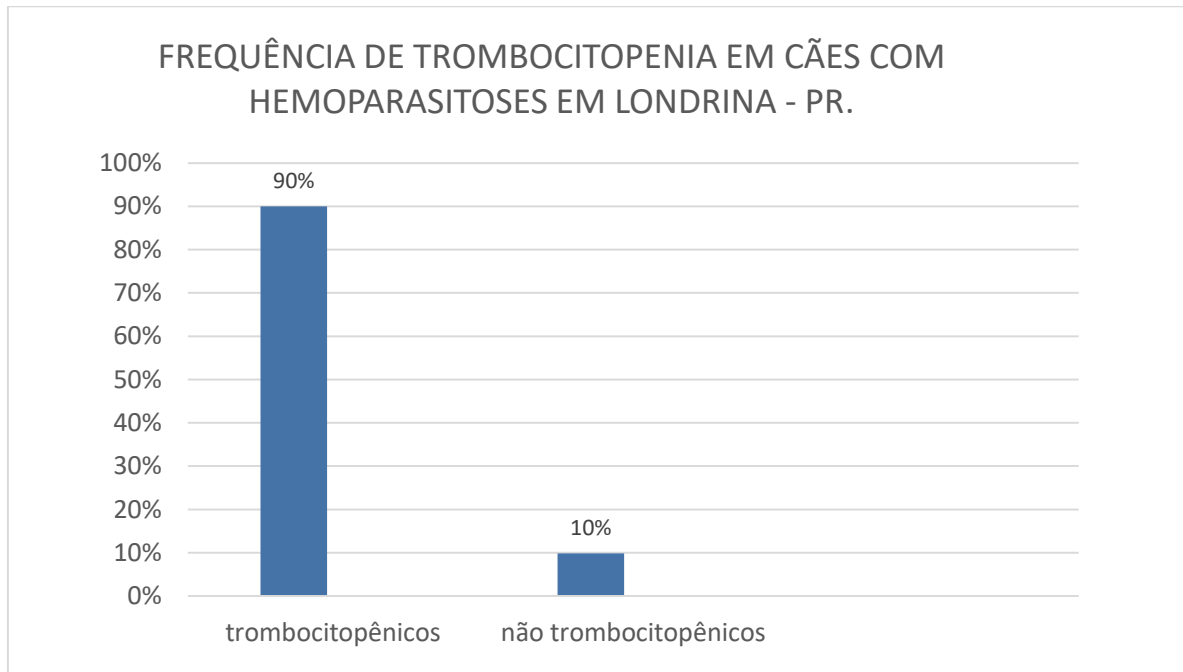
Tabela 3 - Ocorrência absoluta e relativa de cães positivos para *Ehrlichia sp.*, *Babesia sp.* e animais co-infectados por *Ehrlichia sp.* e *Babesia sp.*, atendidos no Hospital Veterinário do Centro Universitário Filadélfia, Londrina – Paraná, no período de janeiro de 2014 a julho de 2018, distribuídos de acordo com os achados laboratoriais.

Achados laboratoriais	<i>Ehrlichia sp.</i> – valor relativo (valor absoluto)	<i>Babesia sp.</i> – Valor absoluto	Co-infecção – valor absoluto
Trombocitopenia	93,18% (41)	80% (16)	100% (7)
Anemia	54,54% (24)	45% (9)	28,57% (2)
Hiperproteinemia	22,72% (10)	5% (1)	28,57% (2)
Leucopenia	20,45% (9)	20% (4)	28,57% (2)
Leucocitose	2,27% (1)	5% (1)	0
Total	85	31	13

Fonte: O próprio autor.

A trombocitopenia verificada nesse estudo foi o achado laboratorial de maior ocorrência, tanto nos cães parasitados por *Ehrlichia sp.* e *Babesia sp.* quanto nos co-infectados por esses hemoparasitas. Dos 71 cães avaliados, 64 (90%) eram trombocitopênicos e apenas 7 (10%) não apresentaram trombocitopenia.

Figura 3. Frequência (%) de trombocitopenia em 71 cães parasitados por *Ehrlichia sp.*, *Babesia sp.* e co-infectados por *Ehrlichia sp.*, *Babesia sp.*, confirmados por PCR, divididos em trombocitopênicos e não-trombocitopênicos, atendidos no Hospital Veterinário do Centro Universitário Filadélfia, Londrina – Paraná, no período de janeiro de 2014 a julho de 2018.



Fonte: Arquivo pessoal.

A variável sinais clínicos no grupo GE apresentou os principais resultados: 18 (24%) cães apresentaram anorexia como o principal sinal clínico; seguido de 17 (22,66%) cães com apatia e oito (10,66%) cães tiveram vômito. Referente aos sinais clínicos dos animais do grupo GB, os principais demonstrados foram: nove (16,66%) cães com anorexia, oito (14,81%) estavam apáticos e sete (12,96%) apresentavam êmese. No grupo GEB, as manifestações mais observadas foram: anorexia, apatia e febre, com cinco (18,51%) animais; hematúria e vômito, com três (11,11%) animais distintos em cada uma delas.

Tabela 4 - Ocorrência absoluta e relativa de cães positivos para *Ehrlichia sp.*, *Babesia sp.* e animais co-infectados por *Ehrlichia sp.* e *Babesia sp.*, atendidos no Hospital Veterinário do Centro Universitário Filadélfia, Londrina – Paraná, no período de janeiro de 2014 a julho de 2018, distribuídos de acordo com os sinais clínicos apresentados.

Sinais clínicos	<i>Ehrlichia sp.</i> Valor absoluto (valor relativo)	<i>Babesia sp.</i> Valor absoluto (valor relativo)	Co-infecção - Valor absoluto (valor relativo)
Anorexia	18 (24%)	9 (16,66%)	5 (18,51%)
Apatia	17 (22,66%)	8 (14,81%)	5 (18,51%)
Desidratação	3 (4%)	0	0
Diarreia	6 (8%)	4 (7,40%)	2 (7,40%)
Dispneia	1 (1,33%)	1 (1,85%)	0
Disquezia	0	1 (1,85%)	0
Dor abdominal	2 (2,66%)	1 (1,85%)	0
Emagrecimento progressivo	2 (2,66%)	1 (1,85%)	1 (3,70%)
Êmese	8 (10,66%)	7 (12,96%)	3 (11,11%)
Epistaxe	1 (1,33%)	4 (7,40%)	1 (3,70%)
Febre	4 (5,33%)	3 (5,55%)	5 (18,51%)
Hematoquezia	3 (4%)	2 (3,70%)	0
Hematúria	2 (2,66%)	3 (5,55%)	3 (11,11%)
Hipodipsia	2 (2,66%)	2 (3,70%)	0
Ícterícia	0	1 (1,85%)	1 (3,70%)
Linfoadenomegalia	1 (1,33%)	0	1 (3,70%)
Petéquias	0	6 (11,11%)	0
Sangramento oral	1 (1,33%)	0	0
Secreção nasal	2 (2,66%)	0	0
Secreção ocular	2 (2,66%)	1 (1,85%)	0
Total	75	54	27

Fonte: O próprio autor.

6 DISCUSSÃO

Em estudo feito por Harrus & Waner (2011), constatou-se que, as infecções por hemoparasitas ocorrem durante as estações mais quentes do ano, período em que os carrapatos estão ativos, onde a prevalência de *E. canis* e *B. canis* está associada à distribuição do vetor. Fritz (2009) demonstrou a presença dessas doenças em regiões de clima tropical e subtropical em diversas partes do mundo. A ocorrência de *Ehrlichia sp.* neste estudo foi de 62%. Outros autores relataram em suas pesquisas com cães soropositivos os seguintes dados: 23% no Paraná, segundo Trapp et al. (2006^a); 36% na Bahia (CARLOS et al., 2007) e 42,5% em Cuiabá (DA SILVA et al., 2010). Os resultados dos estudos citados ocorridos no Brasil possuem valores semelhantes a outras pesquisas feitas em países localizados entre as zonas tropical e subtropical, reforçando o que foi proposto por Keefe et al. (1982), os quais relataram que cães situados nessa área climática possuem maior frequência de infecção por *Ehrlichia sp.* Isso também explica a alta ocorrência de doenças transmitidas por carrapato neste estudo retrospectivo, uma vez que Londrina, município no estado do Paraná, possui clima caracterizado como subtropical.

Vidotto e Trapp (2004) demonstraram que, um mesmo animal pode estar co-infectado por mais de um agente ao mesmo tempo, como bactérias do gênero *Ehrlichia* e protozoários do gênero *Babesia*, por exemplo, visto que esses hemoparasitas possuem o vetor de transmissão em comum, o *Rhipicephalus sanguineus*. Em vista disso, no presente trabalho, 10% dos 71 animais, apresentaram co-infecção por *Ehrlichia sp.* e *Babesia sp.*, reforçando o que foi exposto pelos autores. Não foram obtidos dados a respeito da identificação da espécie dos carrapatos que entraram em contato com os animais deste estudo retrospectivo, visto que, a maioria dos pacientes apresentaram contato com carrapato anteriormente à consulta, não estando com os ectoparasitas no momento do atendimento.

Segundo Souza et al. (2010), cães na faixa etária entre 2 meses a 13 anos estão predispostos à adquirir e desenvolver a Ehrlichiose Monocítica Canina (EMC). Os mesmos autores relatam também que não há predileção por raça ou sexo. A respeito dessa citação, os dados obtidos no estudo corroboram o que foi apresentado pelos pesquisadores acima citados, uma vez que, em relação à idade, gênero e sexo, os animais estiveram bem distribuídos nas variáveis. Nos cães com babesiose, a

maior ocorrência permaneceu na faixa etária de 1 a 4 anos, com 35% dos representantes. Quanto aos cães portadores das duas hemoparasitoses, a distribuição limitou-se à faixa etária de 1 a 4 anos e a 4 a 9 anos somente. Todavia, não foram encontrados dados científicos que comprovem a predileção de espécies do gênero *Babesia*, bem como em infecções simultâneas com outros agentes por cães em qualquer faixa etária.

Animais Sem Raça Definida (SRD) apresentaram menor número, quando comparados aos animais com raça definida, tanto nos casos de infecção por *Ehrlichia sp.* quanto por *Babesia sp.* Nos 7 animais co-infectados, 7 raças foram relatadas, com um animal para cada uma. Não foram encontrados dados na literatura que correlacionassem as espécies dos hemoparasitas com alguma raça específica. Não há relação da predileção por raça nas infecções de *Ehrlichia sp.* e/ou *Babesia sp.*, porém, existem relatos de que cães da raça Pastor Alemão têm maior predisposição à infecção por *Ehrlichia canis* e sensibilidade quando já infectados (NYINDO, et al., 1980; HARRUS et al., 1997). Apesar disso, somente dois (4,55%) cães dessa raça foram relatados neste trabalho.

Cães portadores de *Ehrlichia sp.* podem apresentar três fases clínicas: aguda, subclínica e crônica. Na fase aguda, de acordo com Nakaghi et al. (2008), Borin et al. (2009) e Harrus & Waner (2011), os animais podem apresentar sinais clínicos como apatia, anorexia e vômito. Outros achados clínicos, como esplenomegalia, mucosas pálidas, epistaxe, petéquias e uveíte também podem estar presentes. Nesses casos, torna-se de suma importância a realização de exames complementares para descartar possíveis diagnósticos diferenciais, uma vez que, os sinais clínicos acima citados são inespecíficos. Os sinais de maior ocorrência nos animais com *Ehrlichia sp.* foram apatia, anorexia e vômito, o que, por sua vez, corrobora com os dados da literatura.

Nos animais com Babesiose, os sinais clínicos mais relatados foram apatia, anorexia, vômito e petéquias. Clinicamente, nos casos de co-infecção, os animais apresentaram com maior incidência apatia e febre, além de hematúria, vômito e hiporexia. A ocorrência de co-infecção é pouco estudada pelos pesquisadores, onde, a maioria dos estudos relacionados à hemoparasitas disponíveis avaliam a infecção perante a um agente, e, os que relacionam a presença de mais de um hemoparasita, apresentam-se na forma de relato de caso (HARIKRISHNAN, et al., 2005; GAL, et al., 2007; SASANELLI et al., 2009). Nesses casos de múltiplas infecções, comumente observa-se agravamento do quadro clínico (YABSLEY et al., 2008).

Não foram obtidos dados relativos à outras comorbidades no momento da avaliação clínica devido à sintomatologia inespecífica que os pacientes apresentaram, uma vez que, a exclusão de diagnósticos diferenciais para as hemoparasitoses em questão baseou-se na realização de exames laboratoriais e biologia molecular.

Quando há um caso de co-infecção, é importante ressaltar o pressuposto de que um agente patogênico pode atuar como um facilitador para o estabelecimento de outras afecções tidas como secundárias. Em estudo feito por Boozer e Macintire (2003), foi demonstrado que a *Ehrlichia canis* exerce importante papel devido ao seu efeito imunossupressivo, onde infecções experimentais com *E. canis* em cães assintomáticos e portadores de babesiose fizeram com que ocorresse a manifestação clínica da doença.

A trombocitopenia tem sido relatada rotineiramente em casos de *E. canis*. É um achado comum dentre as alterações laboratoriais encontradas em cães parasitados por hemoparasitas, o que confirma os estudos feitos por Bulla et al. (2004), que, através do Nested PCR, demonstraram que 98,5% (66/67) dos cães positivos para *E. canis* eram trombocitopênicos. Fernandes et al. (2008) estudaram cães com *E. canis* e verificaram que 87% destes apresentaram trombocitopenia.

A presença de leucopenia ao hemograma é indicativo de infecção por *Ehrlichia sp.* nas fases aguda, subclínica e crônica da doença e a anemia é comumente vista na fase crônica (HARRUS & WANNER, 2011). Resultados deste estudo retrospectivo mostraram que, 90% (64/71) dos animais eram trombocitopênicos. 93,18% dos animais com *Ehrlichia sp.* apresentaram a trombocitopenia como principal achado laboratorial, seguido de anemia em 54,54% dos pacientes, corroborando com o estudo proposto por Macieira et al. (2005), onde relataram 88,23% dos animais PCR-positivos eram trombocitopênicos e apenas 11,17% não apresentavam trombocitopenia.

A frequência de cães PCR-positivos para *Babesia sp.* trombocitopênicos foi superior à frequência de cães não trombocitopênicos. 80% dos animais apresentaram trombocitopenia como principal achado laboratorial, 45% apresentaram anemia e 20% apresentaram leucopenia. Dados semelhantes foram descritos na literatura, vide o trabalho apresentado por Moraes et al. (2016), os quais observaram que as anormalidades comumente vistas em cães com Babesiose são trombocitopenia e anemia do tipo regenerativa e conforme relatado por IRWIN e HUTCHINSON (1991),

em que, em casos de infecção por *Babesia sp.*, leucopenia e anemia frequentemente são encontradas nos casos agudos da doença.

Dos 7 cães co-infectados, todos tiveram trombocitopenia como a alteração laboratorial mais significativa. Novas pesquisas são necessárias para melhor elucidação a respeito da ocorrência de trombocitopenia e os variáveis graus deste achado, provocados pela interação de dois ou mais hemoparasitas.

A ocorrência da trombocitopenia em cães parasitados por hemoparasitas vem sendo descrita por diversos autores e estudada devido à sua elevada incidência, porém, apesar de sua causa não ser completamente elucidada, acredita-se que a destruição plaquetária possa ocorrer por causas como destruição mediada por anticorpos, consumo acelerado decorrente de vasculite endotelial ou sequestro esplênico (BRANDÃO & HAGIWARA, 2002).

Diversas patologias podem cursar com a diminuição na contagem plaquetária, como por exemplo, trombocitopenia imunomediada, neoplasias, doenças inflamatórias e quadros infecciosos. Uma vez que a diminuição expressiva no número de plaquetas é detectada, faz-se necessário considerar outras causas para tal achado, mesmo estando em área endêmica. Todavia, com base nos resultados obtidos, as hemoparasitoses devem ser incluídas nas listas de diagnósticos diferenciais, assim que a trombocitopenia seja detectada em pacientes residentes em áreas endêmicas (HARIKRISHNAN et al., 2005).

Alguns animais infectados por *Ehrlichia sp.* podem desenvolver glomerulopatia decorrente do depósito de imunocomplexos. Dentre os achados laboratoriais, pode-se citar proteinúria com hipoalbuminemia associada e aumento de ureia e creatinina (CODNER et al., 1992^a). Na bioquímica renal, nenhum paciente deste estudo encontrava-se azotêmico, uma vez que todos os 71 animais apresentavam valores de ureia e creatinina dentro do intervalo de referência.

Little (2010) afirmou que, para um diagnóstico de sucesso, deve-se aliar os achados clínicos com os achados laboratoriais, sendo estes últimos obtidos por sorologia e biologia molecular, além da pesquisa por parasitológico direto, afim de descartar possíveis diagnósticos diferenciais. No estudo em questão, não foram obtidos dados a respeito do uso da pesquisa dos hemoparasitas através do parasitológico direto, uma vez que a detecção através dessa técnica é melhor estabelecida quando o animal encontra-se na fase aguda, segundo Harrus & Waner (2011), tornando o PCR o método de escolha, uma vez que, de acordo com Borin et

al. (2009), a ausência do hemoparasita nas células avaliadas não é suficiente para descartar a ocorrência da hemoparasitose. Embora o exame parasitológico direto seja um exame rápido, barato e altamente conclusivo para diagnóstico de hemoparasitoses, ele apresenta pouca sensibilidade devido ao nível de parasitemia ser flutuante, levando o clínico, muitas vezes, à falsos negativos (GREGORY; FORRESTER, 2006).

Os métodos sorológicos não foram utilizados, uma vez que, de acordo com Bulla et al. (2004), há a dificuldade em diferenciar exposição prévia de infecção de uma infecção com curso clínico, o que pode induzir a falsos positivos. Sendo assim, a biologia molecular foi escolhida como método diagnóstico confirmatório para a realização desse estudo retrospectivo.

7. CONCLUSÃO

As hemoparasitoses possuem elevada casuística na clínica médica de pequenos animais. Ao analisar as amostras obtidas, notou-se maior ocorrência de erliquiose e/ou babesiose em cães adultos e que possuíam raça definida, sendo a maioria cães machos para infecções por erliquiose e em co-infecção e nos casos de babesiose, a maior ocorrência foi em cadelas. Contudo, não há embasamento teórico que explique predileção dos hemoparasitas por idade, gênero e raça. Ao analisar os 71 dados obtidos, constatou-se que 90% dos cães apresentaram trombocitopenia como achado laboratorial de maior significância, demonstrando que as hemoparasitoses devem ser incluídas como diagnóstico diferencial para causas de trombocitopenia.

Conclui-se que, devido ao caráter emergente destas afecções e sua relevância na saúde única, medidas profiláticas para controle do vetor deveriam ser mais eficientes, particularmente em cães provenientes de regiões endêmicas. Cães suspeitos, com histórico de contato com carrapatos e oriundos de regiões endêmicas, devem ser avaliados clinicamente e através de exames laboratoriais, a fim de estabelecer um correto diagnóstico e posterior instituição de terapêutica clínica correta.

8. REFERÊNCIAS

- 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. 73f. Dissertação (Mestrado em medicina veterinária), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica.
- ADACHI, K.; TATEISHI, M.; HORII, Y.; NAGATOMO, H.; SHIMIZU, T.; MAKIMURA, S. Immunologic characteristics of anti-erythrocyte membrane antibody produced in dogs during *Babesia gibsoni* infection. *Journal of Veterinary Medical Science*, Tóquio, v.57, p. 121–123, 1995.
- ADAMS, H. R. *Farmacologia e terapêutica em veterinária*. 8. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003.
- ADASZEK, L; WINIARCZYK, S. Molecular characterization of *Babesia canis canis* isolates from naturally infected dogs in Poland. *Veterinary Parasitology*. 152, p.235–241, 2008.
- AGUIAR, D. M.; ZHANG, X.; MELO, A. L. T.; PACHECO, T. A.; MENESES, A. M. C.; ZANUTTO, M. S.; HORTA, M. C.; SANTARÉM, V. A.; CAMARGO, L. M. A.; MCBRIDE, J. W.; LABRUNA, M. B. Genetic diversity of *Ehrlichia canis* in Brazil. *Veterinary Microbiology*, Barcelona, v. 164, n. 3-4, p. 315-321, 2013.
- ALMOSNY, N. R. P.; MASSARD, C. L. Erliquiose em pequenos animais e como zoonose. In: ALMOSNY, N.R.P. *Hemoparasitoses em Pequenos Animais Domésticos e como Zoonoses*. 1 ed. Rio de Janeiro: L.F. Livros Ltda., p. 14-56. 2002.
- ALVES, L. M.; LINHARES, G. F. C.; CHAVES, N. S. T.; MONTEIRO, L. C.; LINHARES, D. C. L. Avaliação de iniciadores e protocolo para o diagnóstico da pancitopenia tropical canina por PCR. *Ciência Animal Brasileira*. Goiânia, v. 6, n. 1, p. 49-54, 2005.
- ANDRÉ, M. R. *Detecção Molecular e Sorológica de Ehrlichia canis e Babesia sp. em Felídeos Selvagens Brasileiros Mantidos em Cativeiro*. 2008. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Estadual Paulista- Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias Campus Jaboticabal, São Paulo. Disponível em: https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/95979/andre_mr_me_jabo.pdf?squence=1&isAllowed=y. Acesso em: 27 out. 2018.
- BORIN, S.; CRIVELENTI, L. Z; FERREIRA, F. A. Aspectos epidemiológicos, clínicos e hematológicos de 251 cães portadores de mórula de *Ehrlichia* spp. naturalmente infectados. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.61, n.3, p.566-571, 2009.
- BRANDÃO, L. P.; HAGIWARA, M. K. Babesiose Canina: Revisão. *Clínica Veterinária*, São Paulo, n.41, p. 50-59, 2002.

- BREITSCHERDT, E. B. Riquetsioses. In: ETTINGER, S.J.; FELDMAN, E.C. *Tratado de Medicina Interna Veterinária. Doenças do Cão e do Gato*. 5. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004, p.422-429.
- BRAGA, M. S. C. O.; ANDRÉ, M. R.; FRESCH, C. R.; TEIXEIRA, M. C. A.; MACHADO, R. Z. Molecular and serological detection of *Ehrlichia* spp. in cats on São Luís Island, Maranhão. Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v.21, p. 37-41, 2011.
- BOOZER, A. L.; MACINTIRE, D. K. Canine babesiosis. *The Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, Philadelphia, v. 33, n. 4, p. 885-904, 2003.
- BULLA, C.; TAKAHIRA, R. K.; ARAUJO, J. P.; TRINCA, L. A.; LOPES, R. S.; WIEDMEYER, C. E. The relationship between the degree of thrombocytopenia and infection with *Ehrlichia canis* in an endemic area. *Veterinary Research*, v. 35, p. 141-146, 2004.
- CARLOS, R. S. A.; NETA, E. S. M.; SPAGNOL, F. H.; OLIVEIRA, L. L. S.; BRITO, R. L. L.; ALBUQUERQUE, G. R.; ALMOSNY, N. R. P. Frequência de anticorpos anti-*Ehrlichia canis*, *Borrelia burgdorferi* e antígenos de *Dirofilaria immitis* em cães na microrregião Ilhéus-Itabuna, Bahia, Brasil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 16, n. 3, p. 117-120, 2007.
- CHAUVIN, A.; MOREAU, E.; BONNET, S.; PLANTARD, O.; 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.
- CODNER, E. C.; CACECI, T.; SAUNDERS, G. K, SMITH, C. A.; ROBERTSON, J. L.; MARTIN, R. A.; TROY, C. G. Investigation of glomerular lesions in dogs with acute experimentally induced *Ehrlichia canis* infection. *American Journal of Veterinary Research*, Chicago, v.53, n.12. p, 2286-2291. 1992a.
- COHN, L. A. Ehrlichiosis and related infections. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, Philadelphia, v. 33, p. 863-884, 2003.
- COSTA, H. X. *Interação de hemoparasitoses em casos clínicos de trombocitopenia em cães no município de Goiânia-GO*. 2011. 70f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) Escola de Veterinária – Universidade Federal de Goiás, Goiânia.
- COSTA, J. O.; BATISTA JÚNIOR, J. A.; SILVA, M.; GUIMARÃES, P. M. *Ehrlichia canis* infection in dog in Belo Horizonte, Brazil. *Arquivo da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais*. V. 25, p. 199-200, 1973.
- COSTA, L. M. J.; REMBECK, K.; RIBEIRO, M. F. B.; BEELITZ, P.; PFISTER, K.; PASSOS, F. Sero-prevalence and risk indicators for canine Ehrlichiosis in three rural areas of Brazil. *The Veterinary Journal*, London, n.174, p.673-676, 2007.
- COSTA-JÚNIOR, L. M.; RIBEIRO, M. F.; REMBECK, K.; RABELO, E. M.; ZÄHLER-RINDER, M.; HIRZMANN, J.; PFISTER, K.; PASSOS, L. M. Canine babesiosis caused by *Babesia canis vogeli* in rural areas of the State of Minas Gerais, Brazil and factors associated with its seroprevalence. *Research in Veterinary Science*, Londres, v.86, p.257–260, 2009.

CRIADO-FORNELIO, A.; GÓNZALEZ-DEL-RÍO, M. A.; A. BULING-SARAÑA; BARBA-CARRETERO, J. C. The “expanding universe” of piroplasms. *Veterinary Parasitology*. V. 119, p.337–345, 2004.

DA SILVA, J. N.; DE ALMEIDA, A. B. P. F.; SORTE, E.V.B.; DE FREITAS, A.G.; DO 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.

DACEY, M. J.; MARTINEZ, H.; RAIMONDO, T.; BROWN, C.; BRADY, J. Septic shock due to babesiosis. *Clinical Infectious Diseases*, Chicago, v.33, p. 37–38, 2001.

DAGNONE, A. S.; MORAIS, H. S. A.; VIDOTTO, O. Erliquiose nos animais e no homem. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v. 22, n.2, p. 191-201, 2001.

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*, Estados Unidos, v. 117, p. 285-290, 2003.

DES VIGNES, F.; PIESMAN, J.; HEFFERNAN R.; SCHULZE, T.L.; STAFFORD, K. C.; FISH, D. Effect of tick removal on transmission of *Borrelia burgdorferi* and *Ehrlichia phagocytophila* by *Ixodes scapularis* nymphs. *The Journal of Infectious Diseases*. v.183, p.773-778. 2001.

DUMLER, J. S.; BARBET, A. F.; BEKKER, C. P. J.; 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 HGE agent as subjective synonyms of *Ehrlichia phagocytophila*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, London, v. 51, n. 6, p. 2145-2165. 2001.

EIRAS, D. F.; BASABE, J.; MESPLET, M.; SCHNITTGER, L. First molecular characterization of *Babesia vogeli* in two naturally infected dogs of Buenos Aires, Argentina. *Veterinary Parasitology*, v. 157, p. 294–298, 2008.

FRITZ, C. L. Emerging tick-borne diseases. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, Philadelphia, v.39, p.265–278, 2009.

FORTES, E. *Parasitologia Veterinária*. 4. Ed. São Paulo: Ícone, 2004, p. 485-502.

FOURIE, J. J.; STANNECK D.; LUSS, H. G. Transmission of *Ehrlichia canis* by *Rhipicephalus sanguineus* ticks feeding on dogs 46mergê artificial membranes. *Veterinary Parasitology*. V.197, p.595-603. 2013^a.

GAL, A.; HARRUS, S.; ARCOH, I.; LAVY, E.; AIZENBERG, I.; MEKUZASYISASCHAR, Y.; BANETH, G. Coinfection with multiple tick-borne and

intestinal parasites in a 6-week-old dog. *Canadian Veterinary Journal*, Ottawa, v. 48, n. 6, p. 619–622, 2007.

GREGORY, C.; FORRESTER, S. O. *Ehrlichia canis*, *E. equi*, *E. risticii* infections. In: GREENE, C. E. *Doenças Infeciosas em Cães e Gatos*. 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015. p. 404-414.

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

HARRUS, S.; WANER, T.; BARK, H. Canine monocytic ehrlichiosis: an update. *Compendium on Continuing Education for the 47mergência Veterinarian*, Yardley, v.19, n.4, p. 431-444, 1997.

HARRUS, S.; KASS, P.H.; KLEMENT, E.; WANER, T. Canine monocytic ehrlichiosis: a retrospective study of 100 cases, and an epidemiological investigation of prognostic indicators for the disease. *Veterinary Record*, v. 141, p. 360-363, 1997.

HARRUS, S.; ALLEMAN, A.; BARK, H.; MAHAN, S.; WANER, T. Comparison of three enzyme-linked 47mergência47nt assays with the indirect immunofluorescent antibody test for the diagnosis of canine infection with *Ehrlichia canis*. *Veterinary Microbiology*, v. 86, p. 361-368, 2002.

HARRUS, S.; WANER, T. Diagnosis of canine monocytotropic ehrlichiosis (*Ehrlichia canis*): An overreview. *The Veterinary Journal*, London, v.187, n.1, p. 292-296, 2011.

HUXSOLL, D.; HILDEBRANDT, P.; NIMS, R.; WALKER, J. Tropical canine pancytopenia. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 157, p. 1627-1632, 1970.

IRWIN, P. J.; HUTCHINSON, G. W. Clinical and pathological findings of *Babesia* infection in dogs. *Australian Veterinary Association*, Oxford, v.68.n.6,p. 204-209, 1991.

ISOLA, J. G. M. P.; CADIOLI, F. A.; NAKAGE, A. P. Erliquiose canina-revisão de literatura. *Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária*, São Paulo, n.18, p.1-11, 2012.

KAVINSKI, L.C. Ocorrência de um caso de erliquiose canina em Curitiba – PR. *Revista do Setor de Ciências Agrárias*, v. 10, p. 217-219, 1988.

KELLY, P. J.; CARTER, S. D.; BOBADE, P. A.; MATTHEWMAN, L.A.; BELLS, S. C. Absence of antinuclear antibodies in dogs infected with *Ehrlichia canis*. *Veterinary Record*, v. 134, n. 15, p. 382, 1994.

KLEDMANEE, K.; SUWANPAKDEE, S.; KRAJANGWONG, S.; CHATSIRIWECH, J.; SUKSAI, P.; SUWANNACHAT, P.; SARIYA, L.; BUDDIRONGAWATR, 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, p. 35-39, 2009.

LABRUNA, M. B. Biológica-ecologia de *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae). *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 13, p. 123-124, 2004.

LABRUNA, M. B; MCBRIDE, J. W; CAMARGO, L. M; AGUIAR, D. M; YABSLEY, M. J; DAVIDSON, W. R; STROMDAHL, E. Y; WILLIAMSON, P. C; STICH, R. W; LONG, S. W; CAMARGO, E. P; WALKER, D. H. A 48mergência investigation of Ehrlichia species in ticks, humans, dogs, and capybaras from Brazil. *Veterinary Parasitology*, v. 143, p.189-195, 2007.

LAPPIN, M. R; BREITSCHWERDT, E. B. Infecções por Ehrlichia e Anaplasma: Infecção por *Ehrlichia spp.* I Erlichiose monocitotrófica felina. In: GREENE, C.E. *Doenças Infeciosas em Cães e Gatos*. 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015.

LAPPIN, M. R. Doenças riquetsianas polissistêmicas. In: NELSON, R. W.; COUTO, C. G. *Medicina Interna de Pequenos Animais*. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015. p. 1006 – 1011.

LITTLE, S. E. Ehrlichiosis and Anaplasmosis in Dogs and Cats. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*, v. 40, p.1121-1140, 2010. Doi:10.1016/j.cvsm.2010.07.004.

LOBETTI, R. G. Canine babesiosis. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian*, Yardley, v.20, p.418–430, 1998.

LOBETTI, R. G.; DVIR, E.; PEARSON, J. Cardiac Troponins in Canine Babesiosis. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, Philadelphia, v.16, p.63-68, 2002.

MACEDO, A. B.; LEAL, E. R. V. Ehrlichiose canina: estudo retrospectivo e principais achados hematológicos. *Revista Nosso Clínico*, n. 45, p. 30-34, 2005.

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, 2005.

MAIA, M. G. *Aspectos epidemiológicos da babesiose canina em área semi-árida do estado de Minas Gerais*. 2005. 46f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Pós-graduação em Ciência Animal, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 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*, Chicago, v.220, p.325– 329, 2002.

McDADE J. E. Ehrlichiosis a disease of animals and humans. *Journal of Infectious Diseases*, Chicago, n.161, p.609-617, 1990.

McGAVIN, M. D.; ZACHARY, J. F. *Bases da Patologia em Veterinária*. Rio de Janeiro: Elsevier, 2009. P.1504.

MENDONÇA, C. S.; MUNDIM, A. V.; COSTA, A. S.; MORO, T. V. Erliquiose canina: alterações hematológicas em cães domésticos naturalmente infectados. *Bioscience Journal*, Uberlândia, v. 21, n. 1, p. 167-174, 2005.

MORAES, L. F.; TAKAHIRA, R. K.; GOLIM, M. A.; BAGGIO, M. S. Avaliação das alterações hemostáticas e do risco tromboembólico em cães com AHIM. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 36, p. 405-411. 2016.

MURPHY, G. L.; EWING S. A.; WHITWORTH, L. C; FOX, J. C.; KOCAN, A. A. A molecular and serologic survey of *Ehrlichia canis*, *E. chaffeensis* and *E. ewingii* in dogs and ticks from Oklahoma. *Veterinary Parasitology*, v. 79, n. 4, p. 325-339, 1998.

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*, Santa Maria, v. 38, n. 3, p.766-770, 2008.

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

NOVAIS, C. M.; PIRES-ALVES, M. PCR em tempo real. *Revista Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento*, p.10-13, n.33, 2004.

NYINDO, M.; HUXSOLL, D. L.; RISTIC, M.; KAKOMA, I.; BROWN, J. L.; CARSON, C. A.; STEPHENSON, E. H. Cell-mediated and humoral immune response of German Shepherd dogs and beagles to experimental infection with *Ehrlichia canis*. *American Journal Veterinary Research*, Schaumburg, v.41, n.2, p. 250-254,1980.

O'DWYER, L. H.; MASSARD, C. L. Babesiose em pequenos animais domésticos e como zoonoses. In: ALMOSNY, N.R.P. *Hemoparasitoses em pequenos animais domésticos e como zoonoses*. Rio de Janeiro: L.F. Livros de Veterinária Ltda, p. 135, 2002.

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

OLIVEIRA, L. S.; OLIVEIRA, K. A.; MOURÃO, L. C.; PESCATORE, A. M.; ALMEIDA, M. R.; CONCEIÇÃO, L. G.; GALVÃO, M. A. M.; MAFRA, C. First 49mergênci *Ehrlichia ewingii* detected by molecular investigation in dogs from Brazil. *Clinical Microbiology and Infection*, Paris, v. 15, n. 2, p. 55-56, 2009.

ORIÁ, A. P.; PEREIRA, M. P.; LAUS, J. L. Uveitis in dogs infected with ehrlichia canis – Revisão de literatura. *Ciência Rural*, v. 34, n. 4, p. 1289-1295, 2004.

PINYOOWONG, D.; JITTAPALAPONG, S.; SUKSAWAT, F.; STICH, R.W.; THAMCHAIPENET, A. Molecular characterization of Thai Ehrlichia canis and Anaplasma platys strains detected in dogs. *Infection, Genetics and Evolution*, v.8 , p. 433-438, 2008.

SANTOS, F.; COPPEDE, J. S.; PEREIRA, P. L. A.; OLIVEIRA, L. P.; ROBERTO, P. G.; BENEDETTI, R. B. R.; ZUCOLOTO, L. B.; LUCAS, F.; SOBREIRA, L.; MARINS, M. Molecular evaluation of the incidence of *Ehrlichia canis*, *Anaplasma platys* and *Babesia* spp. In dogs from Ribeirão Preto, Brazil. *The Veterinary Journal*, v. 179, p.145–148, 2009.

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.

SILVA, L. S. *Erliquiose e anaplasmoze canina em Teresina, Piauí*. Trabalho de conclusão de curso (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal do Piauí, 2010.

SILVA, J. R.; MEIRELLES, G. P.; ZAVILENSKI, R. B., GRAVINATTI, M. L.; SILVA, J. P. M.; BERTÉLI, M. B. D.; MARTINS, R. R.; RIBEIRO, M. G.; RIBEIRO, L. V. P. Avaliação do perfil renal de equinos submetidos ao tratamento com dipropionato de Imidocarb. *Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 9, p. 57-58. 2011.

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*, Amsterdam, v.157, p.211–221, 2008.

SOUZA, B. M. P. S.; LEAL, D. C.; BARBOZA, D. C. P. M.; UZÊDA, R. S.; DE ALCÂNTARA, A. C.; FERREIRA, F.; LABRUNA, M. B.; GONDIM, L. F. P.; FRANKE, C. R. Prevalence of ehrlichial infection among dogs and ticks in Northeastern Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 19, n. 2, p. 89-93, 2010.

TABOADA, J.; LOBETTI, R. Babesiose. In.: GREENE, C.E. *Doenças Infeciosas em Cães e Gatos*. 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015. 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, 2004. Cap. 68, p.554-572.

TRAPP, S.M.; DAGNONE, A.S.; VIDOTTO, O.; FREIRE, R.L.; AMUDE, A.M.; MORAIS, H.S. Seroepidemiology of canine babesiosis and ehrlichiosis in a hospital population. *Veterinary Parasitology*, v.140, p.223-230, 2006^a.

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*, v. 18, n. 3, p. 57-61, 2009.

UILENBERG, G. Babesia – A historical overview. *Veterinary Parasitology*, Amsterdam, v.138, p. 3–10, 2006.

VALLI, V. E. O. Hematopoietic system. In: MAXIE, M.G. *Jubb, Kennedy, and Palmer's pathology of domestic animals*. Philadelphia: Elsevier, 2007. V.3, cap. 2, p.107-324.

VIAL, H. J.; GORENFLOT, A. Chemoteraphy against babesiosis. *Veterinary Parasitology*, Amsterdam, v. 138, n. 1/2, p. 147-160, 2006.

VIDOTTO, O.; TRAPP, S. M. Babesiose canina. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, São Paulo, v.13, p.58-62, 2004.

WEISS, D. J.; WARDROP, K. J. *Schalm's Veterinary Hematology*. Iowa: Wiley – Blackwell, 2010. Cap. 104, p. 801.

WELZL, C.; LEISEWITZ, A. L.; JACOBSON, L. S.; VAUGHAN-SCOTT. T.; MYBURGH E. Systemic inflammatory response syndrome and multiple-organ damage/dysfunction in complicated canine babesiosis. *Journal of South African Veterinary Association*, Petroria, v. 72, n. 3, p. 158-162, 2001.

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 35 dogs treated with doxycycline. *Journal Clinical Microbiology*, v. 35, n. 7, p. 1852-1855, 1997.

YABSLEY, M.J.; MCKIBBEN, J.; MACPHERSON, C.N.; CATTAN, P. F.; CHERRY, N.A.; HEGARTY, B. C.; BREITSCHWERDT, E. B.; O'CONNOR, T.; CHANDRASHEKAR, R.; PATERSON, T.; PEREA, M. L.; BALL, G.; FRIESEN, S.; GOEDDE, J.; HENDERSON, B.; SYLVESTER, W. Prevalence of *Ehrlichia canis*, *Anaplasma platys*, *Babesia canis vogeli*, *Hepatozoon canis*, *Bartonella vinsonii berkhoffii*, and *Rickettsia spp.* In dogs from Grenada. *Veterinary Parasitology.*, v.151, p. 279-285, 2008.

POLICITEMIA VERA EM UM CÃO – RELATO DE CASO.

Maria Victória de Luca Delgado Alves¹, Giorgio Queiroz Pereira², Mirella Tomaz Soares², Daniela Scapini Mendes², Deise Mara Cantos Galina², Guilherme Felippelli Martins³.

9.1 RESUMO

A policitemia, também denominada eritrocitose, refere-se ao aumento do número de hemácias circulantes. Pode ser classificada em policitemia relativa e absoluta, que por sua vez são subdivididas em policitemia absoluta primária e absoluta secundária. O presente trabalho relata o caso de um cão encaminhado ao Hospital Veterinário da Unifil, localizado no município de Londrina-Paraná, com sinais clínicos como mucosas hiperêmicas, taquicardia e taquipneia, fraqueza muscular nos quatro membros e sialorreia, onde a policitemia vera foi confirmada pelos aumentos do hematócrito (84,3%), de hemoglobina [(1,5 (g/dl)], e do número de hemácias [(12,14 (x10⁶/uL))], sendo posteriormente submetido ao tratamento com Hidroxiureia (25 mg/kg uma vez ao dia nos primeiros 7 dias, após isso, 15 mg/kg uma vez ao dia até estabilização do hematócrito e, posteriormente, 15 mg/kg a cada 48 horas), terapia suporte e flebotomias para a melhora do quadro até o momento da alta médica, onde o hematócrito manteve-se em 54%.

Palavras-chave: Hematócrito, Eritrocitose, Patologia Clínica, Hemácias, Hemoglobina.

¹: Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Clínicas Veterinárias, Departamento de Clínicas Veterinárias – DCV, Universidade Estadual de Londrina – UEL, Londrina, PR, Brasil.

²: Médicos Veterinários – Hospital Veterinário do Centro Universitário Filadélfia de Londrina – UniFil, Londrina, PR, Brasil.

³: Professor Doutor, Orientador do Programa de Pós-Graduação em Clínicas Veterinárias, Universidade Estadual de Londrina – UEL, Londrina, PR, Brasil.

POLYCYTHEMIA VERA IN A DOG – CASE REPORT.

9.2 ABSTRACT

Polycythemia, also called erythrocytosis, refers to an increase in the number of circulating red blood cells. It can be classified into relative and absolute polycythemia, which in turn are subdivided into primary absolute and secondary polycythemia. The present work reports the case of a dog referred to the Veterinary Hospital with clinical signs such as hyperemic mucous membranes, tachycardia and tachypnea, muscle weakness in the four limbs and salivation, where polycythemia vera was confirmed by increases in hematocrit (84.3%), hemoglobin (1.5 (g / dl)), and the number of red blood cells ($12.14 \times 10^6 / \mu\text{L}$), being subsequently treated with Hydroxyurea (25 mg / kg SID in the first 7 days, after that , 15 mg / kg SID until Hematocrit stabilization and, subsequently, 15 mg / kg every 48 hours), supportive therapy and phlebotomies for the improvement of the condition until the moment of medical discharge, where the hematocrit remained at 54%.

Key words: Hematocrit, Erythrocytosis, Clinical Pathology, Red blood cells, Hemoglobin.

9.3 INTRODUÇÃO

A policitemia, ou eritrocitose, pode ser caracterizada como o aumento no número de eritrócitos e aumento da concentração de hemoglobina e do hematócrito (ou volume globular) acima dos padrões de referência para cada espécie (THRALL, 2015). Porém, de acordo com Bush (2004), esses valores podem variar de acordo com características raciais e geográficas do animal, como as raças braquicefálicas e animais que vivem em locais de elevada altitude, quando comparados aos que vivem ao nível do mar.

Animais com hematócrito com valores acima de 65% apresentam hiperviscosidade sanguínea, o que compromete a oxigenação e perfusão tecidual, o que já pode ser considerado policitemia (BUSH, 2004).

Segundo Morrinson (2004), a policitemia pode ser classificada em relativa e absoluta, sendo a absoluta subdividida ainda em primária e secundária.

A policitemia relativa ocorre quando há redução do volume plasmático sem alterar a massa eritrocitária, fazendo com que as hemácias permaneçam concentradas devido à diminuição de líquidos dentro do vaso (MORRINSON, 2004; WATSON, 2010). Animais que apresentem volume globular ou hematócrito com valores acima do normal que indiquem policitemia, devem ser avaliados para descartar causas como estresse, excitação ou desidratação (BUSH, 2004). Dessa forma, esse tipo de eritrocitose refere-se ao aumento do hematócrito decorrente de desidratação por vômito e/ou diarreia, privação hídrica, queimaduras extensas, estado febril, diurese, perda de fluidos internos, ocorrendo também em casos de contração esplênica (onde há liberação do estoque de hemácias) por dor ou estresse ou intenso pânico (considerada policitemia transitória, que dura em média 1 hora), tanto em grandes quanto em pequenos animais. Há também o aumento na contagem de proteínas plasmáticas e de albumina, o qual é corrigido com reidratação (REBAR et al., 2003).

Mucosas secas, apatia, fraqueza, turgor de pele aumentado, vômito e/ou diarreia e aumento no tempo de preenchimento capilar conferem sinais clínicos evidenciados em pacientes com eritrocitose relativa (STRAIT et al., 2005).

Na policitemia absoluta há um aumento absoluto de hemácias, o que por sua vez eleva o hematócrito e o volume total de sangue, diferentemente da policitemia relativa, onde ocorria somente o aumento de hematócrito. (REBAR et al, 2003).

A elevação no número das hemácias pode ou não ocorrer por interferência da eritropoietina, o que será determinante para diferenciá-la em primária ou secundária (WATSON, 2010).

O aumento na concentração de hemácias resulta em mucosas mais coradas que o normal e aumento na viscosidade do sangue. Com um sangue mais “espesso”, o fluxo sanguíneo fica mais lento e, por consequência, a oxigenação sanguínea também, o que acaba gerando hipóxia tecidual (REBAR et al., 2003).

De acordo com Watson (2010), a policitemia absoluta primária, também denominada de policitemia vera, trata-se de uma desordem mieloproliferativa onde há produção excessiva de eritrócitos pela medula óssea, independente de eritropoietina, que, por sua vez, pode estar em níveis normais ou diminuídos. Considera-se a policitemia vera uma desordem clonal de células pluripotentes hematopoiéticas, com exacerbada produção de glóbulos vermelhos pela medula óssea (BUSH, 2004).

Segundo Watson (2010), em alguns casos, além da eritrocitose, podem ocorrer de forma concomitante leucocitose com neutrofilia e desvio à esquerda e também trombocitose. A relativa deficiência de ferro pode resultar em hemácias microcíticas, e algumas vezes, circulares e com tamanho diminuído.

Um dos principais sinais clínicos apresentados por animais com policitemia vera é o avermelhamento de pele e mucosas (WATSON, 2010).

Clinicamente, um animal com policitemia vera apresenta sinais referentes à eritrocitose e à hiperviscosidade sanguínea, tais como letargia, apatia, inapetência e anorexia, fraqueza, hemorragias, poliúria, polidipsia, êmese, diarreia, crises epiléticas e vasos retinianos dilatados e tortuosos. Em alguns casos pode ocorrer esplenomegalia (MORRINSON, 2004).

Anormalidades neurológicas, como ataxia, desorientação, por exemplo, podem ocorrer de forma secundária à hiperviscosidade sanguínea, que por sua vez, acarreta em hipóxia do sistema nervoso (PERKINS, 2000). Em cães e gatos, além dos sinais neurológicos citados, inclui-se também cegueira, comportamento anormal e aparente depressão mental (WATSON, 2010).

O diagnóstico definitivo para policitemia vera deve ser feito com base na análise do aumento da massa eritrocitária, pressão arterial de oxigênio (PO₂) normal e níveis séricos diminuídos de eritropoietina, além dos sinais clínicos apresentados (MORRINSON, 2004).

A policitemia absoluta secundária difere da policitemia vera, uma vez que, a eritropoietina está diretamente relacionada com a intensa produção de hemácias. Nesses casos, a concentração de eritropoietina no plasma estará aumentada, além da massa eritrocitária (BUSH, 2004). Apesar de não ser comum nas espécies domésticas, uma das causas desse tipo de eritrocitose em pequenos animais é decorrente da Tetralogia de Fallot (WATSON, 2010).

A eritropoietina pode estar aumentada de forma autônoma ou por hipóxia. Na primeira forma, a acelerada produção de eritropoietina ocorre devido à formações neoplásicas, como: linfossarcoma, neoplasia renal, carcinoma, fibrossarcoma; e patologias renais não-neoplásicas, tais como cistos renais e hidronefrose (WATSON, 2010). Nesses casos, há um aumento na secreção de eritropoietina ou de substâncias similares secretadas em casos de doenças renais não neoplásicas ou hipóxia renal localizada e liberação de células imaturas na corrente sanguínea (BROCKUS & ANDREASEN, 2011).

Em casos de hipóxia tecidual, resultante de doença pulmonar crônica (ventilação inadequada) ou cardiopatias (perfusão inadequada), onde a oxigenação no organismo é baixa, pode resultar em aumento de eritropoietina, o que por sua vez, estimula, de forma fisiológica, a medula óssea a produzir mais hemácias para tentar suprir o processo de hipóxia, elevar os níveis de hemoglobina e melhorar a oxigenação tecidual. Animais obesos, neonatos e aqueles que vivem em altitudes elevadas (3.500m) acima do nível do mar, estão sujeitos à apresentarem hipoxemia. Os sinais clínicos predominantes são dispneia, intolerância ao exercício e cianose (WATSON, 2010).

A diferenciação de policitemia relativa e absoluta primária ou secundária não deve ser feita única e exclusivamente pelo hematócrito, uma vez que, em todas elas este apresentará valores alterados. Deve-se empregar técnicas para distingui-las, como, por exemplo, a dosagem de eritropoietina, a qual terá valores distintos em cada uma das eritrocitoses. Animais que apresentem aumento de hematócrito e esplenomegalia podem apresentar policitemia absoluta primária. Já em animais com quadro de desidratação e aumento de proteínas plasmáticas, que normaliza após hidratação, sugere-se policitemia relativa. Pacientes com neoplasias renais, por exemplo, e que apresentem aumento nos valores de eritropoietina, podem demonstrar policitemia absoluta secundária (WATSON, 2010).

Na policitemia vera, deve-se verificar a existência de doença cardiopulmonar por meio de exames de imagem (ultrassom e radiografia), além de ultrassonografia renal para auxiliar no diagnóstico (WATSON, 2010).

O tratamento das policitemias varia conforme a apresentação clínica do paciente. Na policitemia relativa, deve ser feito o controle da doença primária que esteja desencadeando vômitos e/ou diarreia e a correção hídrica com fluidoterapia (THRALL, 2015).

Na policitemia primária ou vera, o tratamento feito a longo prazo consiste em sucessivas flebotomias. A flebotomia, procedimento onde há a retirada de sangue pela veia, pode ser feita periodicamente para diminuir valores de hematócrito globular e mantê-lo em valores normais e também para diminuir a viscosidade do sangue (THRALL, 2015).

A fluidoterapia deve ser feita para repor fluidos equivalentes à quantidade de sangue retirada. Em alguns pacientes, a suplementação de ferro pode ser feita à longo prazo para suprir sua deficiência (WATSON, 2010).

Além disso, por ser uma desordem clonal a nível medular, existe a possibilidade de utilização de quimioterápicos, como Hidroxiureia, para auxiliar na diminuição da produção de hemácias (THRALL, 2015).

Em cães, o tratamento com Hidroxiureia é feito na dose de 30 mg/kg (podendo ser ajustada), uma vez ao dia, por 7 – 10 dias. Após esse período e de acordo com a resposta hematológica do paciente, as doses e a frequência do tratamento podem ser adaptadas. Para gatos, a dose sugerida é de 125 mg a cada dois dias por duas semanas, passando para 250 mg, duas vezes por semana, por duas semanas, seguido por 500 mg, uma vez por semana (BONAFINE, 2000).

9.4 RELATO DE CASO

Foi encaminhado ao Hospital Veterinário do Centro Universitário Filadélfia, um canino, adulto, fêmea, sem raça definida, pesando 2,5 kg, apresentando duas crises convulsivas e dificuldades em permanecer em estação. Durante anamnese, foi relatado que, durante as crises, o animal defecou, urinou e, após isso, manteve-se em decúbito. Foi relatado também um contactante saudável, vacinação e vermifugação

atualizadas. Ao exame físico, o paciente encontrava-se hidratado, as mucosas estavam hiperêmicas, animal apresentava taquicardia e taquipneia, fraqueza muscular nos quatro membros e salivação. Após solicitado hemograma completo, foi constatado quadro de policitemia, com Hematócrito em 84,3%, Eritrócitos em $12,14 \times 10^6/uL$, Hemoglobina em 31,5 (g/dl), volume corpuscular médio de 69,5 (fl) e concentração de hemoglobina corpuscular média de 37,3 (%). Não foram notadas alterações em leucograma, contagem de plaquetas, função renal e hepática e dosagem de glicose. Após avaliação clínica, a paciente foi internada para melhora do quadro, controle das crises convulsivas e manejo para diminuição do hematócrito, com suspeita de policitemia vera. Durante o período de internamento, o animal ainda apresentou episódios convulsivos no primeiro dia, causados possivelmente por hipóxia cerebral devido à hiperviscosidade sanguínea, além de vômito e diarreia. A dosagem de eritropoietina foi realizada para descartar a possibilidade de policitemia absoluta secundária, a qual apresentou-se com valores de 3,60 mUI/mL, abaixo dos valores de referência (5 a 35 mUI/mL). Foram realizadas sucessivas flebotomias com repetição do hematócrito para maior controle do quadro, o qual se apresentou da seguinte forma nos dois primeiros dias de internação: 81% e 76%. O tratamento estipulado foi de Hidroxiureia (25 mg/kg uma vez ao dia (SID) nos primeiros 7 dias, após isso, 15 mg/kg SID até estabilização do Hematócrito e, posteriormente, 15 mg/kg a cada 48 horas), além do tratamento suporte para controle de vômito e diarreia. A realização de flebotomias contribuiu para melhora do quadro, onde o hematócrito teve os seguintes resultados no terceiro e quarto dia de internação, respectivamente: 59,3% e 51,4%. Após estabilização do quadro e início do tratamento com Hidroxiureia, a paciente recebeu alta, mas com retornos periódicos para realização de exames de sangue e avaliação de hematócrito. Dez dias após a primeira consulta, proprietária relatou que continua com a administração de Hidroxiureia e a paciente encontrava-se em bom estado geral, sem crises convulsivas. Ao exame de sangue, hematócrito estava em 54%.

9.5 DISCUSSÃO

A policitemia vera trata-se de uma enfermidade de início silencioso e desenvolvimento lento, onde há o aumento na produção de eritrócitos devido à uma desordem mieloproliferativa (MESSICK, 2000).

De acordo com Campos (2005), o excesso de hemácias acaba aumentando o volume sanguíneo, tornando-o mais espesso e fluído com menor velocidade pelos vasos. Essa hiperviscosidade sanguínea pode acarretar em hipóxia tecidual, como foi vista no paciente relatado, o qual apresentava crises convulsivas decorrentes, provavelmente, de hipóxia cerebral.

Na eritrocitose absoluta primária, a proliferação de células da linhagem eritróide acarreta em um aumento significativo no hematócrito, levando-o a níveis de 65 – 80% (PERKINS, 2000). Além disso, o nível sérico de eritropoietina pode estar abaixo dos valores de referência. O volume globular apresentado pelo paciente deste trabalho foi de 84% no primeiro hemograma realizado e a dosagem de eritropoietina foi de 3,60 mUI/mL, mostrando-se abaixo do normal para cães (5 a 35 mUI/mL), corroborando com o que foi exposto pelo autor. A dosagem de eritropoietina também foi de fundamental importância para diferenciar policitemia absoluta primária de policitemia absoluta secundária.

Segundo Morrison (2004), os sinais clínicos apresentados por animais com policitemia vera incluem sinais referíveis à eritrocitose e o aumento da viscosidade sanguínea, tais como mucosas hiperêmicas, vômito, diarreia, anorexia, fraqueza, convulsões e sinais cardiorrespiratórios. O paciente relatado apresentou, além das crises convulsivas, vômitos (que persistiram nos primeiros dias de internação), diarreia, fraqueza nos quatro membros (permanecendo-se em decúbito na primeira consulta), além de mucosas avermelhadas, corroborando com os dados apresentados na literatura acima citada.

De acordo com Watson (2010), exames de imagem, como ultrassonografia e radiografia torácica para investigação de doença cardiopulmonar e ultrassonografia renal, devem ser empregados a fim de buscar a causa base e diferenciar as eritrocitoses. No presente relato, não há histórico de requisição de exames de imagem

para auxílio diagnóstico no caso clínico, uma vez que a policitemia vera foi confirmada com exame físico, anamnese e exames laboratoriais.

Quanto ao tratamento, de acordo com Thrall (2015), cães com policitemia absoluta primária devem ser submetidos à sucessivas flebotomias a fim de manter o hematócrito próximo da normalidade. Outro tratamento que age de forma satisfatória é a Hidroxiureia, um quimioterápico que age a nível medular para diminuir a produção de hemácias. No relato deste trabalho, o paciente em questão recebeu Hidroxiureia, além de sucessivas flebotomias realizadas no período de internação, onde houve diminuição considerável do valor de hematócrito até o momento de sua alta.

9.6 CONCLUSÃO

A Policitemia Vera compreende uma séria afecção, pouco relatada na medicina veterinária, devido a fatores culturais, uma vez que, muitos proprietários não possuem o hábito de realizar check-ups em seus animais. Nesse tipo de eritrocitose, o aumento no número de hemácias com posterior diminuição da oxigenação tecidual devido à hiperviscosidade sanguínea, pode acarretar sérias complicações, como crises convulsivas por hipóxia cerebral, como relatado neste artigo. Sendo assim, o correto diagnóstico, quando instituído rapidamente, promove alívio e conforto ao paciente. Com isso, conclui-se que a frequência de cães com eritrocitose é subestimada devido à falta de diagnósticos precoces e pouca difusão acerca dessa patologia no meio clínico.

9.7 REFERÊNCIAS

BONAFINE, R. *Aproximación a la emergencia oncológica*. In: CURSO DE CAPACITACIÓN EN ONCOLOGIA, 1., 2000, Buenos Aires. Resumos. Buenos Aires: Sociedad Argentina de Medicina Veterinaria, Sociedad de los Veterinarios de los Animales Pequeños, 2000. P. 3-9.

BROCKUS, C. W.; ANDREASEN, C. B. Erythrocytes In: LATIMER, K. S.; MAHAFFEY, E. A.; PRASSE, K. W. *Duncan e Prasse's Veterinary Laboratory Medicine Clinical Pathology*, 5th ed. Ames: Iowa State Press, 2011. Cap. 1, p.42-43.

BUSH, B. M; *Interpretação de resultados laboratoriais para clínicos de pequenos animais*. 1 ed. São Paulo: Roca, p. 93, 2004.

CAMPOS, S. *Policitemia Vera*. São Paulo: Medicina Avançada, 2005, p. 2.

MESSICK, J. B. Chronic Myeloid Leukemias. In: FELDMAN, B. F.; ZINKL, J. G.; JAIN, N. C. *Schalm's Veterinary Hematology*. 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000. Chap. 108, p. 737-738.

MORRISON, W. B. Policitemia. In: ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. *Tratado de Medicina Veterinária*. 5 ed. São Paulo: Guanabara Koogan, 2004. V. 1, cap.47, p.277-280.

REBAR, A.H; MACWILLIAMS, P.S; FELDMAN, B.F; METZGER, F.L; POLLOCK, R.V.H; ROCHE, J. *Guia de hematologia para cães e gatos*. 1 ed., São Paulo: Roca, p. 77-79, 2003.

STRAIT, K. R.; LATIMER, K. S.; TARPLEY, H. L. An Overview of Eritrocythosis in Dogs and Cats. In: *Veterinary Clinical Pathology*, Athens, v. 8, n. 1, p. 1- 9, July 2005.

THRALL, M. *Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária*. 2 ed. Roca: São Paulo, p.114-117, 2015.

WATSON, A.D.J. Erythrocytosis and Polycythemia. In: FELDMAN, B.F.; ZINKL, J.G.; JAIN, N.C. *Schalm's veterinary hematology*. 6.ed. Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins, 2000, p.200-204, 2010.

APÊNDICES

APÊNDICE A: Aceite da Comissão de Ética no Uso de Animais



Parecer CEUA. Nº 002/2019

Londrina, 06 de maio de 2019.

Prezado(a) Pesquisador(a),

A CEUA reunida em 26 de abril de 2019 avaliou o projeto intitulado “**Aspectos clínicos e epidemiológicos das hemoparasitoses em cães atedidos no Hospital Veterinário da Unifil no município de Londrina - Paraná**” registrado no CEUA sob o nº 001/2019, desenvolvido sob sua responsabilidade para o curso de Mestrado em Medicina Veterinária, julgando-o **APROVADO**, para execução por entender que os princípios éticos postulados pelo Colegio Brasileiro de Experimentação Animal estão respeitados.

Cumprir orientar que ao longo do projeto, caso se pretenda qualquer alteração no protocolo experimental aprovado, o novo protocolo deveria ser submetido a apreciação da CEUA/Unifil anteriormente a execução das modificações.

Sem mais para o momento,

Cordialmente.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Joice Elaine Teixeira Campanha', written over a horizontal line.

Profa. Ms. Joice Elaine Teixeira Campanha

Coodenadora da CEUA/Unifil

APÊNDICE B: Instruções para submissão de artigo – Revista Semina Ciências biológicas e da saúde.

1. Os manuscritos deverão ser submetidos à Revista Semina: Ciências Biológicas e da Saúde exclusivamente pelo Sistema Eletrônico de Editoração de Revistas, disponível no endereço: <<http://www.uel.br/revistas/uel/index.php/seminabio/author/index>>.
2. O manuscrito poderá ser redigido em português ou inglês e deverá ser elaborado no editor de texto *Microsoft Word for Windows*, fonte *Times New Roman*, tamanho 11, normal, com margens de 2 cm e espaçamento entrelinhas de 1,5 cm. **Manuscritos redigidos em inglês terão prioridade de publicação.** As páginas devem ser numeradas, respeitando o número de páginas de acordo com a categoria na qual o manuscrito se enquadra.
3. Categoria dos manuscritos:
 - a) artigos, no máximo 30 páginas;
 - b) revisões, no máximo 30 páginas (**autores convidados**);
 - c) comunicações curtas e relatos de caso, no máximo 20 páginas;
 - d) resenhas de livros e revistas, no máximo 4 páginas;
4. **Nos artigos de pesquisas que envolveram seres humanos e experimentação com animais vertebrados, em seguimento a Resolução CNS 196/96, deverá ser enviada cópia do parecer de aprovação, com o respectivo número do Certificado de Apresentação para Apreciação Ética (CAAE), emitido por Comitê de Ética em Pesquisa e de acordo com a legislação do país de origem do manuscrito.**
5. Na primeira página do manuscrito deverá constar o título do trabalho, acompanhado de sua tradução para o inglês, seguidos do resumo e abstract. O nome dos autores e as informações referentes à titulação não devem constar no documento de submissão a fim de assegurar a avaliação a cegas pelos pareceristas. As informações relativas à autoria do manuscrito devem ser inseridas no sistema de submissão do artigo no terceiro passo "Metadados da submissão".
6. Publica artigos originais e artigos de revisão, comunicações e resenhas de pesquisadores **doutores e doutorandos. Mestrandos e graduandos** podem publicar em co-autoria com **doutores**.
7. O resumo e o abstract devem conter até 250 palavras, elaborados em espaçamento 1,5 cm e contemplarem de maneira sucinta o(s) objetivo(s), material e método, principais resultados e conclusão. Recomenda-se não utilizar abreviações no título e no resumo.
8. Palavras-chave e Keywords: devem constar de 3 a 5 Descritores. Para artigos da área da saúde utilizar os "*Descritores em Ciências da Saúde*" da Biblioteca Virtual em Saúde (<http://decs.bvs.br/>). Recomenda-se que os descritores não sejam os mesmos utilizados no título do artigo.
9. Os manuscritos devem ser estruturados de acordo com a metodologia científica, contemplando os itens INTRODUÇÃO, MATERIAL e MÉTODO, RESULTADOS, DISCUSSÃO e CONCLUSÃO. A conclusão do estudo poderá ser inserida no final da discussão do artigo. Não há necessidade de quebras de página entre essas seções, devendo o texto ser contínuo.
10. Os agradecimentos a auxílios recebidos para a elaboração do trabalho deverão ser mencionados no final do artigo, antes das referências bibliográficas.
11. Os apêndices poderão ser empregados no caso de listagens extensivas, estatísticas e outros elementos de suporte.
12. As figuras e fotografias deverão estar inseridas no texto pelo seu número de ordem e serem enviadas no formato JPEG, com resolução mínima de 300 dpi, como documento suplementar. Se as ilustrações enviadas já tiverem sido publicadas, mencionar a fonte e a permissão para reprodução.
13. Os quadros e/ou tabelas deverão ser acompanhados na parte superior de cabeçalho que permita compreender o significado dos dados reunidos, sem necessidade de referência ao texto.
14. Nas ilustrações de qualquer natureza (tabela, quadro, desenho, esquema, fluxograma, fotografia, mapa, gráfico, figura, entre outros) o título deve ser inserido na parte superior, seguido de seu número arábico, travessão e o respectivo título. A indicação da fonte consultada (elemento obrigatório, mesmo que seja produção do próprio autor), legendas, notas e outras informações necessárias à compreensão da ilustração devem localizar-se na parte inferior da ilustração em fonte tamanho 10.

15. As grandezas, unidades e símbolos deverão obedecer às normas nacionais correspondentes (Associação Brasileira de Normas Técnicas - ABNT)
16. **Citações**- deve ser utilizado o Estilo "**Vancouver**", numeradas consecutivamente. Os números de identificação dos autores devem ser indicados em algarismos arábicos, sobrescritos e entre parênteses, **sem menção do nome dos autores** (exceto os que constituem referencial teórico). Se forem sequenciais, deverão ser indicados o primeiro e o último, separados por hífen, ex.: ⁽¹⁻⁴⁾; quando intercalados, os números deverão ser separados por vírgula, ex.: ^(2,6,8).
Obs: Os artigos que não apresentarem a ordem numérica rigorosa de citação serão devolvidos aos autores.
17. **Referências:** As referências dos documentos impressos e eletrônicos devem ser normalizadas de acordo com o Estilo "**Vancouver**", elaborado pelo International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE), atualizado em 2009, disponível no endereço eletrônico (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7256/>) e os títulos dos periódicos abreviados de acordo com a List of Journals Indexed for MEDLINE (www.ncbi.nlm.nih.gov/nlmcatalog/journals). Recomenda-se que o número de referências não ultrapasse a 35. A lista apresentada no final do artigo deve ser numerada de acordo com a sequência em que os autores foram citados no texto.
18. A exatidão das referências é de responsabilidade dos autores

Exemplos:

Artigos de periódico

Inclua seis autores, seguidos de "et al" se o número exceder 6

Menezes FJ, Menezes LG, Silva GP, Melo-Filho AA, Melo DH, Silva CA. Arq Bras Cir Dig. 2016;29(2):81-5. doi: 10.1590/0102-6720201600020004

Ribeiro JHM, Otrenti E, Takahashi RF, Nichiata LYI, Padoveze MC, Pereira ÉG, et al. Clinical and epidemiological teaching of dengue through simulated practice. Rev Bras Enferm. 2018 Mar-Apr;71(2):451-456. doi: 10.1590/0034-7167-2016-0503.

Artigo disponível na internet

Observe o uso das expressões do formato da referência conforme o idioma: português "citado" e "disponível em"; espanhol "citado" e "disponible en"; inglês "cited" e "available"

Kaul S, Diamond GA. Good enough: a primer on the analysis and interpretation of noninferiority trials. Ann Intern Med [Internet]. 2006 [cited 2007 Jan 4];145(1):62-9. Available from: <http://www.annals.org/cgi/reprint/145/1/62.pdf>

Pachla A, Cruz SFS, Colet CF. Efeito cicatrizante do extrato de plantago tomentosa em cadelas submetidas a ovariectomia. Semina: Ciênc Biol Saúde [Internet]. 2018 [citado 2018 mar 9];38(2):137-44. Disponível em: <http://www.uel.br/revistas/uel/index.php/seminabio/article/view/28174/23152>

Instituição como autor e publicador

Institute of Medicine (US). Looking at the future of the Medicaid program. Washington: The Institute; 1992.

Livros (Autor de todo o livro)

Garanhani ML, Valle ERM. Educação em enfermagem: análise existencial em um currículo integrado sob o olhar de Heidegger. Londrina: Eduel; 2010.

Capítulo de Livro

Pagel JF, Pegram GV. The role for the primary care physician in sleep medicine. In: Pagel JF, Pandi-Perumal SR, editors. Primary care sleep medicine. 2nd ed. New York: Springer; 2014. p. 1-9.

Shibatta AO, Bennemann ST, Mori H, Silva DF. Riqueza biológica e ecológica dos peixes do ribeirão Varanal. Em: Bennemann ST, Shibatta AO, Vieira AO, editores. A flora e a fauna do ribeirão Varanal: um estudo da biodiversidade no Paraná. Londrina: Eduel; 2008. p.76-97.

Teses e dissertações

Jones DL. The role of physical activity on the need for revision total knee arthroplasty in individuals with osteoarthritis of the knee [dissertation]. Pittsburgh (PA): University of Pittsburgh; 2001.

Carvalho VB. O pragmatismo de John Dewey e a educação infantil municipal de Londrina: relações possíveis? [dissertação]. Londrina (PR): Universidade Estadual de Londrina; 2011.

González AD. Ser docente na área da saúde: uma abordagem à luz da fenomenologia heideggeriana. [tese]. Londrina (PR): Universidade Estadual de Londrina; 2012.

Korir J, Karr-Kidwell PJ. The relationship between self esteem and effective educational leadership: a literary review, recommendations, and interviews [master's thesis]. Denton (TX): Texas Woman's University; 2000.

Evento (Anais/Proceedings de conferência)

Nogueira AS, Silva AP, Dantas ED, Yukita E, Lolis D. Aspectos que contribuem para a morte violenta de jovens em Londrina. Em: Kritsch R, Donat M, editores. Anais do 8º Seminário de Pesquisa em Ciências Humanas; 2010; Londrina: Eduel; 2010. p. 24-41.

Horrobin DF, Lampinkas P. The commercial development of food plants used as medicines. In: Prendergast HD, Etkin NL, Harris DR, Houghton PJ, editors. Plants for food and medicine. Proceedings of the Joint Conference of the Society for Economic Botany and the International Society for Ethnopharmacology; 1996 Jul 1-6; London (UK): Royal Botanic Gardens; 1998. p. 75-81.

Entidade Coletiva

Organização Mundial de Saúde (BR). Classificação internacional de doenças. 10ª ed. São Paulo: Ed. Universidade de São Paulo; 2003.

Ministério da Saúde (BR). Doenças relacionadas ao trabalho: manual de procedimentos para os serviços de saúde. Brasília (DF): Ministério da Saúde; 2001.

Resoluções

Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BR). Resolução nº 22, de 15 de março de 2000. Procedimentos de registro de dispensa da obrigatoriedade de registro de produtos importados pertinentes à área de alimentos. Diário da República Federativa do Brasil 16 mar 2000; Seção

1. Para submissões da **área da biológica e da saúde** devem ser observados os itens do [check-list](#).
2. O autor principal ou correspondente deverá enviar, pelo sistema eletrônico da revista, uma carta ao editor, autorização para publicação do trabalho na SEMINA, esclarecendo que se trata de um trabalho original e comprometendo-se a não publicá-lo em outro periódico.
3. A publicação dos trabalhos depende de parecer da Assessoria Científica *Ad hoc* da SEMINA.
4. As questões e problemas não previstos na presente norma serão dirimidos pelo Comitê Editorial da área para a qual foi submetido o artigo para publicação.

Condições para submissão

Como parte do processo de submissão, os autores são obrigados a verificar a conformidade da submissão em relação a todos os itens listados a seguir. As submissões que não estiverem de acordo com as normas serão devolvidas aos autores.

1. A contribuição é original e inédita, e não está sendo avaliada para publicação por outra revista; caso contrário, deve-se justificar em "Comentários ao Editor".
2. Dados de autoria de todos os autores devem ser preenchidos no processo de submissão. Utilize o botão "**incluir autor**".
3. **Todos os metadados em inglês devem ser preenchidos (title, abstract and key-words).**

Para incluí-los, depois de salvar os dados de submissão em português, clicar em "**editar metadados**" no topo da página - alterar o idioma para o inglês e inserir: título em inglês, abstract e key word.

4. As figuras e tabelas estão inseridas no texto e não no final do documento, como anexos.

As **figuras, gráficos, equações, esquemas, etc devem apresentar** qualidade gráfica adequada (usar somente fundo branco) e com a mesma dimensão, para que possam ser reduzidas uniformemente (largura máxima de uma coluna (8,0 cm)).

Obs: . se escaneadas, deverão ser em alta resolução (*800 dpi/bitmap para traços*).

5. **No artigo de pesquisa que envolvem seres humanos e experimentação com animais vertebrados deve ser enviado como documento suplementar cópia do parecer de aprovação, com o respectivo número do Certificado de Apresentação para Apreciação Ética (CAAE), emitido por Comitê de Ética em Pesquisa e de acordo com a legislação do país de origem do manuscrito.**