

Detecção molecular de *Anaplasma platys*, *Ehrlichia canis* e *Babesia* spp. em cães atendidos em clínica da região metropolitana do estado do Rio de Janeiro

Molecular detection of *Anaplasma platys*, *Ehrlichia canis* and *Babesia* spp. in dogs served at a clinic in the metropolitan region of the state of Rio de Janeiro

Matheus Dias Cordeiro,** Fabrício do Nascimento Gaudêncio,*** Jônathan David Ribas Chagas,****
Nathalie Costa da Cunha,***** Aivaldo Henrique da Fonseca,***** Bruna de Azevedo Baêta*****

Resumo

O presente estudo teve como objetivo detectar por meio da Reação em cadeia da Polimerase (PCR) a frequência de *Ehrlichia canis*, *Babesia* spp. e *Anaplasma platys* em cães, relacionando a prevalência dos achados hematológicos aos resultados positivos pela PCR. Foram avaliadas 209 amostras de sangue de cães atendidos em clínica veterinária particular do município de Queimados, RJ, Brasil, no período de julho a outubro de 2014. Foram realizados hemograma completo e extração de DNA para técnica de PCR. Do total de 209 animais, 19,1% (40/209) animais apresentaram resultado positivo para hemoparasitos pela técnica de PCR. Destes, 52,5% (21/40) foram positivos para *E. canis*, 27,5% (11/40) positivos para *Babesia* spp. e 10% (4/40) positivos para *A. platys*. Quatro animais (1,91%), dos 209 testados, foram positivos para pelo menos dois agentes, caracterizando assim coinfeção. Dos 40 cães positivos para algum dos agentes testados, 25 (62,5%) estavam trombocitopênicos. Ou seja, 15 cães (37,5%) reagiram positivos para hemoparasitos, mas não apresentavam trombocitopenia. A anemia foi um achado comum, sobretudo nas infecções por *Babesia* spp., 100% (11/11) e *E. canis*, 90,5% (19/21). A técnica de PCR foi um importante método diferencial na detecção das principais hemoparasitoses caninas, juntamente com os achados clínicos e hematológicos para o diagnóstico preciso da infecção em questão.

Palavras-chave: achados hematológicos, anaplasmoze, babesiose, erliquiose, hemoparasitos.

Abstract

The present study aimed to detect, by means of Polymerase chain reaction (PCR), the frequency of *Ehrlichia canis*, *Babesia* spp. and *Anaplasma platys* in dogs, relating the prevalence of hematological findings to positive PCR results. A total of 209 blood samples from dogs treated at a private veterinary clinic in the city of Queimados, RJ, Brazil, from July to October 2014 were evaluated. Complete blood count and DNA extraction were performed for the PCR technique. Of the total of 209 animals, 19.1% (40/209) animals were positive for hemoparasites by the PCR technique. Of these, 52.5% (21/40) were positive for *E. canis*, 27.5% (11/40) were positive for *Babesia* spp. and 10% (4/40) positive for *A. platys*. Four animals (1.91%) of the 209 tested were positive for at least two agents, thus characterizing coinfection. Of the 40 dogs positive for any of the agents tested, 25 (62.5%) were thrombocytopenic. That is, 15 dogs (37.5%) were positive for hemoparasites, but did not have thrombocytopenia. Anemia was a common finding, especially in infections by *Babesia* spp., 100% (11/11) and *E. canis*, 90.5% (19/21). The PCR technique was an important differential method in the detection of the main canine hemoparasitoses, together with the clinical and hematological findings for the accurate diagnosis of the infection in question.

Keywords: anaplasmosis, babesiosis, ehrlichiosis, hemoparasites, hematological findings.

*Recebido em 31 de janeiro de 2023 e aceito em 14 de junho de 2023.

**Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) – Programa de Pós-Graduação em Práticas em Desenvolvimento Sustentável (PPGPDS) – Departamento de Epidemiologia e Saúde Pública (DESP) – Instituto de Veterinária (IV) *Autor para correspondência: mathcordeiro@hotmail.com

***Centro Universitário de Valença (UNIFAA) E-mail: fabriciogaudencio@hotmail.com.

****UFRRJ – Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias (PPGCV) - Departamento de Parasitologia (DPA) – IV E-mail: jonatachagas@hotmail.com

*****Universidade Federal Fluminense (UFF) – Faculdade de Veterinária – E-mail: nathaliecunha@id.uff.br.

*****UFRRJ – PPGCV – IV - E-mail: aivaldofonseca@yahoo.com.

*****UFRRJ – PPGCV – DPA – IV - E-mail: babaeta@hotmail.com.

Introdução

Os principais agentes transmitidos por carrapatos aos cães estão relacionados a microrganismos das famílias Anaplasmataceae e Babesiidae (ALMOSNY, 2002), sendo o carrapato ixodídeo *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato (s.l.) o principal incriminado pela transmissão desses agentes nas regiões tropicais e subtropicais do mundo (SILVA, 2015; AKTAS et al., 2015).

A babesiose está entre as protozooses de maior importância que acometem os cães. Essa enfermidade é causada por espécies do gênero *Babesia*, destacando-se no Brasil a espécie *Babesia vogeli* (CAMILO et al. 2021; DANTAS-TORRES; FIGUEREDO, 2006). A patogenia causada por esses agentes pode levar tanto à hemólise intravascular como extravascular, e ocasionar um amplo espectro de sinais clínicos, tais como anemia, febre e inapetência, que podem variar de acordo com a virulência da estirpe adquirida e a suscetibilidade do hospedeiro (ZACHARY & MCGAVIN, 2013).

A família Anaplasmataceae compreende espécies de bactérias gram-negativas, parasitas intracelulares obrigatórias de células sanguíneas. Dentro do gênero *Ehrlichia*, a espécie *Ehrlichia canis* é um agente etiológico de grande importância na medicina veterinária, causador da Ehrliquiose monocítica canina (EMC) (DUMLER et al., 2001). Por outro lado, a espécie *Anaplasma platys*, uma riquetsia que infecta, principalmente, plaquetas de cães, causando a doença conhecida como trombocitopenia cíclica infecciosa canina (CARVALHO et al., 2017).

Na rotina clínica de pequenos animais, o diagnóstico pode ser realizado através do exame microscópico de esfregaços sanguíneos para visualização dos agentes na fase aguda da doença. No entanto, devido à baixa sensibilidade desta técnica, a reação em cadeia da polimerase (PCR) tem demonstrado maior sensibilidade e especificidade comparadas às outras técnicas de diagnóstico (BITTENCOURT et al., 2022).

O objetivo do presente estudo foi detectar por meio da PCR a frequência de *E. canis*, *Babesia* spp. e *A. platys* em cães atendidos em uma clínica veterinária localizada na Região metropolitana do estado do Rio de Janeiro.

Material e métodos

Foram avaliadas 209 amostras de sangue de cães atendidos na Clínica Veterinária Queimados, município de Queimados, RJ, Brasil. Fizeram parte do estudo os cães que foram atendidos entre os meses de julho e outubro de 2014, independentemente da suspeita clínica ou laboratorial de hemoparasitose. As amostras de sangue foram coletadas em tubos contendo o anticoagulante EDTA por meio de venopunção da veia cefálica ou jugular para a realização do hemograma completo durante o atendimento clínico. O excedente do sangue foi mantido congelado a -20 °C até a extração de DNA.

O hemograma foi realizado utilizando as técnicas manuais de microhematócrito pela centrifuga de tubo capilar (5 minutos a 10.000 rpm), leucometria global através da contagem em câmara de Neubauer, plaquetometria indireta pela estimativa em esfregaço sanguíneo e leucometria específica através do esfregaço de sangue periférico corado com corante tipo Panóptico (Intant-Prov®) (BUSH, 2004).

O DNA do sangue foi extraído utilizando o kit comercial Wizard Genomic DNA Purification Kit (Promega®) seguindo o protocolo

indicado pelo fabricante. A detecção de DNA de *E. canis* foi realizada utilizando iniciadores (ECC/ECB para primeira reação e ECAN5/HE3 para a segunda reação) descritos por Murphy et al. (1998), que amplificam uma sequência parcial de 389 pb do gene 16S rRNA. Para *Babesia* spp. os iniciadores utilizados PiroA1/PiroB amplificam um fragmento de aproximadamente 450 pb do gene 18S rRNA de agentes da Ordem Piroplasmida (FÖLDVÁRI et al., 2005). A pesquisa de DNA de *A. platys* foi feita com os iniciadores PLATYS/ EHR16RS para uma amplificação de um fragmento de 678 pb do DNA ribossomal 16s (BROWN et al., 2001). Todas as reações foram realizadas nas mesmas condições descritas pelos autores citados.

Os produtos amplificados foram submetidos à eletroforese horizontal em gel de agarose a 1,5%, corado com brometo de etídeo e visualizados por meio de um transiluminador – UV.

Para análise de associação entre os resultados encontrados dos hemoparasitos e achados hematológicos foi utilizado o teste Exato de Fisher. Para comparação dos parâmetros hematológicos foi realizado o teste de Kruskal-Wallis, após verificar que os dados não seguiram a normalidade pelo teste Shapiro-Wilk. Todas as análises consideraram nível de significância de 5% e foram realizadas no pacote BioEstat 5.0.

Resultados e discussão

Do total de 209 animais, 40 (19,1%) cães foram considerados positivos para pelo menos um dos hemoparasitos pela técnica de PCR. Destes, 52,5% (21/40) foram positivos somente para *E. canis*, 10% (4/40) foram positivos para *A. platys* e 27,5% (11/40) dos cães avaliados no presente estudo foram positivos somente para *Babesia* spp. Em relação à presença de mais de um agente em uma mesma amostra clínica, 2,5% (1/40) apresentaram coinfeção para *E. canis* e *A. platys*, 5% (2/40) para *E. canis* e *Babesia* spp. e 2,5% (1/40) dos animais testaram positivo para *A. platys* e *Babesia* spp.. Comparando-se as infecções únicas, a prevalência de *E. canis* foi significativamente maior frente *A. platys* e *Babesia* spp., corroborando os achados de alta prevalência de *E. canis* em cães no Brasil (LINS et al., 2019; FARIA et al., 2010; RAMOS et al., 2010; DAGNONE et al., 2009; DINIZ et al., 2006).

Analisando-se todos os animais estudados, 62,7% (131/209) apresentaram anemia, 34,9% (73/209) trombocitopenia, 33,5% (70/209) com leucocitose, e 10% (21/209) com leucopenia. Houve diferença estatística entre todas as frequências encontradas ($p < 0.05$), com exceção entre trombocitopenia e leucocitose. E, dentre os 40 animais com hemoparasitos, 87,5% (35/40) apresentaram anemia, 62,5% (25/40) estavam com trombocitopenia, 32,5% (13/40) com leucocitose e 12,5% (5/40) com leucopenia. Houve diferença estatística entre todas as frequências encontradas ($p < 0.05$).

Os achados mostram prevalências altas de anemia em cães, independente de associação com hemoparasitos, além de achados como trombocitopenia e leucocitose. Tesser et al. (2016) analisando o perfil hematológico de cães, observaram anemia em 24,9% (605/2425), trombocitopenia em 22,2% (538/2425) e leucocitose em 30,5% (739/2425) dos cães, o que demonstra serem achados comuns dentro da rotina clínica veterinária. Segundo Holanda et al. (2019) a trombocitopenia

foi a alteração hematológica mais frequente em cães positivos para *Ehrlichia* spp., presente em 93,7% (15/16) ($p=0,015$) dos animais, enquanto a anemia macrocítica e hipocrômica prevaleceu em 66,7% (4/6) ($p=0,010$) dos animais infectados por *Anaplasma* spp.

Na tabela 1 estão apresentados os resultados hematológicos gerais de acordo com cada hemoparasito encontrado. Destaca-se que os parâmetros hematológicos não apresentaram diferença estatística em relação aos patógenos encontrados, mostrando um mesmo padrão independente do agente.

Tabela 1: Média, desvio padrão e amplitude dos parâmetros hematológicos dos animais

Parâmetros Hematológicos	<i>Ehrlichia canis</i>	<i>Anaplasma platys</i>	<i>Babesia</i> spp.	Referência*
He ($\times 10^6$) céls/ μ L	3,59 \pm 1,3040 ^a (0,9-6,12)	4,21 \pm 2,41 ^a (1,15-7)	3,93 \pm 0,96 ^a (2,5-5,26)	5,50-8,5
Hb (g/dL)	8,62 \pm 2,92 ^a (2,2-14,4)	9,75 \pm 5,36 ^a (2,7-15,6)	8,9 \pm 2,25 ^a (5,5-11,6)	12,0-18,0
Ht (%)	25,47 \pm 8,57 ^a (7-42)	29 \pm 15,87 ^a (8-46)	26,64 \pm 6,58 ^a (17-35)	37,0-55,0
VCM (fL)	70,23 \pm 3,69 ^a (65,2-77,7)	67,92 \pm 2,62 ^a (65,7-70,8)	67,75 \pm 2,6 ^a (64,8-72,5)	60,0-77,0
CHCM (g/dL)	33,82 \pm 0,69 ^a (31,4-34,8)	33,85 \pm 0,1000 ^a (33,7-33,9)	33,3 \pm 0,50 ^a (32,3-34,1)	31,0-35,0
Leucócitos/ μ L	16952,38 \pm 10411,66 ^a (3800-45200)	23875 \pm 17475 ^a (9000-44000)	14636,36 \pm 11987,85 ^a (2000-48000)	6000-17000
Basófilos (%)	NE	NE	NE	Raros
Eosinófilos (%)	2,52 \pm 3,54 ^a (0-11)	4,57 \pm 6,32 ^a (0-24)	3,27 \pm 3,2 ^a (0-10)	2-10
Segmentados (%)	70,38 \pm 14,72 ^a (37-87)	58,75 \pm 28,86 ^a (16-78)	57,72 \pm 20,07 ^a (19-86)	60-77
Linfócitos (%)	13,76 \pm 8,89 ^a (4-35)	15,25 \pm 7,41 ^a (9-25)	28,09 \pm 20,19 ^a (4-73)	13-30
Monócitos (%)	6,9 \pm 6,11 ^a (0-31)	16 \pm 20,44 ^a (3-46)	6,0 \pm 3,1 ^a (3-46)	3-10
Plaquetas/ μ L	175619,04 \pm 132260,90 ^a (55000-480000)	241500 \pm 13937 ^a (67000-38000)	15272,73 \pm 77983,45 ^a (60000-315000)	200-700 $\times 10^3$
Proteína total (g/dL)	7,19 \pm 2,31 ^a (2-13)	7,7 \pm 1,83 ^a (6,8-9,4)	5,96 \pm 1,76 ^a (4,4-10)	5,3-7,7

Letras iguais na horizontal indicam que não há diferença estatística ($p < 0,05$).

*Referência: THRALL et al., 2014. NE: Não encontrados

A tabela 2 apresenta os achados de anemia, trombocitopenia, leucocitose e leucopenia. Destaca-se a alta frequência de anemia em todos os grupos, chegando a 100% dos animais

com babesiose e 90,5% com erliquiose. Em seguida, a trombocitopenia também teve altas frequências nos animais estudados.

Tabela 2: Animais positivos para *Ehrlichia canis*, *Anaplasma platys* e *Babesia* spp. segundo os principais parâmetros encontrados (anemia, trombocitopenia, leucocitose e leucopenia)

	<i>Ehrlichia canis</i> (n=21)	<i>Anaplasma platys</i> (n=4)	<i>Babesia</i> spp. (n=11)
Anemia	19 (90,5%) ^a	3 (75%)	11 (100%)
Trombocitopenia	13 (61,9%) ^{a,c}	2 (50%)	8 (72,7%) ^a
Leucocitose	9 (42,9%) ^{b,c}	2 (50%)	1 (9,1%) ^b
Leucopenia	2 (9,5%) ^{b,c}	-	2 (18,2%) ^b

Letras diferentes na vertical indicam que há diferença estatística ($p < 0,05$). n=número de diagnósticos

A plaquetometria muitas vezes na rotina clínica é considerada o parâmetro mais importante para o diagnóstico de hemoparasitoses caninas, quando não realizados testes mais específicos para o estabelecimento do diagnóstico, como a PCR. No entanto, ressalta-se que os valores de volume globular (VG) tiveram maior relevância nos achados deste estudo em relação à plaquetometria.

Segundo Almosny (2002), as alterações hematológicas mais frequentes observadas em infecções naturais por *E. canis* são anemia, trombocitopenia e leucopenia, uma vez que *E. canis* infecta medula óssea, local onde há maturação destes três tipos celulares. A anemia esteve presente em 90,5% (19/21) dos animais positivos na PCR para *E. canis*. Além disso, no presente estudo, 52,4% (11/21) dos cães além da anemia também apresentaram trombocitopenia e nenhum um cão apresentou a tríade clássica da infecção.

Ressalta-se que a leucopenia (9,5%) foi o achado menos frequente em cães com infecção somente por *E. canis*, inclusive inferior à leucocitose (42,9%). Estes achados sugerem que estes animais poderiam estar em diferentes fases da doença. Hasegawa (2005) observou que a leucopenia se fez presente no final da infecção e de raro aparecimento na fase aguda. Em estudos feitos por Shipov et al. (2008), os animais que apresentaram leucopenia grave, anemia ou pancitopenia acentuada, alterações encontradas na fase crônica da doença, tinham um mau prognóstico.

Os achados de aumento na contagem de bastonetes neutrófilos (desvio à esquerda) e leucocitose neutrofílica com linfopenia e eosinopenia no presente estudo também já foram relatados por outros autores (ALBERNAZ et al., 2007; BHADSIYA; RAVAL, 2015). Apesar de Thongsahuan et al. (2020) relatarem a alta frequência da monocitose como achado hematológico importante, o presente estudo revelou que 81% (17/21) dos animais positivos para *E. canis* possuíam contagem de monócitos dentro da normalidade.

Em relação à infecção somente por *Babesia* spp., ressalta-se que 100% dos animais apresentaram anemia e, destes, 5 (72,7%) apresentavam-se trombocitopênicos e 8 (45,5%) animais apresentavam, concomitantemente, anemia, trombocitopenia e leucopenia. Os resultados sugerem que a anemia é um achado frequente nos animais parasitados por *Babesia* spp., uma vez que, na babesiose, a hemólise intra ou extravascular é comumente observada. Outra observação é que todo animal trombocitopênico na babesiose apresentava anemia associada, sugerindo que o mecanismo da destruição plaquetária seja provavelmente do tipo imunomediado desencadeado por um parasitismo eritrocitário massivo que acarreta uma exacerbação do sistema imune do hospedeiro. Zygnier et al. (2007) e Vilela et al. (2013), tal como no presente estudo, não observaram alterações significativas no número de eosinófilos em cães infectados por *Babesia* spp.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ), pelo apoio financeiro.

Quanto à infecção por *A. platys*, observou-se uma baixa prevalência frente aos demais hemoparasitos (n=4), destacando-se a anemia nestes animais (75%). Trombocitopenia e leucocitose foram mais relevantes em comparação com leucopenia. Em um estudo de infecções naturais realizado por Antognoni et al. (2014), os autores sugerem que a anemia ocorre devido a um mecanismo imunomediado, porém ainda não totalmente esclarecido. O presente estudo se mostrou diferente de outros, em que cita a leucopenia em cães com infecção por esse agente (ANJOS et al., 2012; BOUZOURAA et al., 2016). Contudo, Krause et al., (2016) observaram leucocitose em 37,1% (33/89) dos casos e leucopenia em 4,5% (4/89), o que corrobora os achados apresentados.

Os casos de coinfeções provavelmente se deveram ao fato de a vetoração das doenças ser feita possivelmente pelo mesmo carrapato, *R. sanguineus* s.l., apesar da transmissão de *A. platys* ainda não estar esclarecida (MILKEN et al., 2004; UNGAR DE SÁ et al., 2007). Pinto (2009) alerta que a diversidade de sinais clínicos observados nas diversas manifestações da babesiose canina provavelmente é devido a infecções mistas, por *Babesia* spp. e *E. canis*. O cão demonstra uma severa anemia normocítica normocrômica, causada pela destruição de eritrócitos maduros e de um impedimento da eritropoiese, desenvolvendo uma doença mais grave, muitas vezes fatal, principalmente em cães jovens (SÁ, 2007).

As manifestações clínicas das hemoparasitoses em geral são inespecíficas, assim como os achados laboratoriais. No entanto, conhecer as particularidades de cada hemoparasito é mandatório para o sucesso da confirmação diagnóstica, da conduta terapêutica, estabelecimento do prognóstico e predominância epidemiológica na região geográfica em questão (ARAÚJO et al., 2022).

Os sinais clínicos das infecções por *E. canis* e *A. platys* são similares, e o diagnóstico desses patógenos feito por esfregaços sanguíneos é difícil devido à sensibilidade. Por outro lado, os diagnósticos moleculares são altamente sensíveis e específicos, e a técnica de nested-PCR tem otimizado o diagnóstico desses patógenos em cães (RAMOS et al., 2009).

Diante dos resultados obtidos no presente estudo, confirma-se a importância da PCR como um método diferencial na detecção das principais hemoparasitoses canina juntamente com os achados clínicos e hematológicos para o diagnóstico preciso da infecção em questão. Pois, ao contrário do que a maioria dos veterinários pensam na rotina clínica, a trombocitopenia não foi um achado hematológico patognomônico para as enfermidades avaliadas. Porém, durante a infecção por *E. canis*, o hemoparasito mais frequente no presente estudo, a anemia e trombocitopenia foram relatados.

Referências

- ALBERNAZ, A. P.; MIRANDA, F. J. B.; MELO JR, O. A.; MACHADO, J. A.; FAJARDO, H. V. Erliquiose canina em campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro, Brasil. *Ciência Animal Brasileira*, v. 8, n.4, p.799-806, 2007.
- ALMOSNY, N. R. P. *Hemoparasitoses em pequenos animais domésticos e como zoonoses*. Rio de Janeiro: L.F. Livros de Veterinária Ltda, 2002, 135 p.
- AKTAS, M.; ÖZÜBEK, S.; ALTAY, K.; IPEK, N. D. S.; BALKAYA, İ.; UTUK, A. E.; DUMANLI, N. Molecular detection of tickborne rickettsial and protozoan pathogens in domestic dogs from Turkey. *Parasites & Vectors*, v. 8, p. 157, 2015.
- DOS ANJOS, D. S.; METZDORF, I. P.; MARQUES, B. C.; & BABO-TERRA, V. J. Alterações hematológicas de cães naturalmente infectados por membros da família Anaplasmataceae diagnosticados pelo esfregaço de sangue periférico. *PUBVET*, Londrina, v. 6, n. 20, Ed. 207, Art. 1386, 2012.
- BHADESIYA, C. M., RAVAL, S. K. Hematobiochemical changes in ehrlichiosis in dogs of Anand region, Gujarat. *Veterinary World*, v. 8, n.6, p. 713-7, 2015.
- BITTENCOURT, J., HIURA, E., SOBRAL, S. A., DE TOLEDO VIEIRA, F., BRAGA, F. R., TOBIAS, F. L., LANGONI, H. A. ocorrência de *Babesia* sp., *Ehrlichia canis* e *Hepatozoon canis* em cães domiciliados, em dois municípios do estado do espírito santo-brasil. *Veterinária e Zootecnia*, v. 29, p. 1-9, 2022.
- BOUZOURAA, T., RENÉ-MARTELLET, M., CHÊNE, J., ATTIPA, C., LEBERT, I., CHALVET-MONFRAY, K., CHABANNE, L. Clinical and laboratory features of canine Anaplasma platys infection in 32 naturally infected dogs in the Mediterranean basin. *Ticks and tick-borne diseases*, v.7, n.6, 1256-1264, 2016.
- BROWN, G. K.; MARTIN, A. R.; ROBERTS, T. K.; & AITKEN, R. J. Detection of *Ehrlichia platys* in dogs in Australia. *Australian Veterinary Journal*, v.79, p.554-558, 2001.
- BUSH, B.M. *Interpretação de resultados laboratoriais para clínicos de pequenos animais*. São Paulo: Roca LTDA. 2004, 384p.
- CAMILO, T. A.; MENDONÇA, L. P.; DOS SANTOS, D. M.; RAMIREZ, L. H.; SENNE, N. A.; PAULINO, P. G.; SANTOS, H. A. Spatial distribution and molecular epidemiology of *Babesia vogeli* in household dogs from municipalities with different altitude gradients in the state of Rio de Janeiro, Brazil. *Ticks and TickBorne Diseases*. v.12, n.5, p.101785, 2021.
- DA COSTA, R. L.; PAULINO, P. G.; DA SILVA, C. B.; VITARI, G. L. V.; PEIXOTO, M. P., DE ABREU, A. P. M., MASSARD, C. L. Molecular characterization of *Ehrlichia canis* from naturally infected dogs from the state of Rio de Janeiro. *Brazilian journal of microbiology*, v.50, n.1, p.1-12, 2019.
- DAGNONE, A. S.; SOUZA, A. I. D.; ANDRÉ, M. R. & MACHADO, R. Z. Molecular diagnosis of Anaplasmataceae organisms in dogs with clinical and microscopical signs of ehrlichiosis. *Revista Brasileira Parasitologia Veterinária*, v.18, n.4, p.20-25, 2009.
- DANTAS-TORRES, F.; FIGUEREDO, L. A. Canine babesiosis: a Brazilian perspective. *Veterinary Parasitology*, v.141, p. 197-203, 2006.
- DE ARAÚJO, R. R.; SANTOS, H. S. P.; SILVA, S. B.; LEAL, S. M. S.; ARAÚJO, E. M.; DE JESUS BARBOSA, B. & CARDOSO, J. D. F. S. Avaliação diagnóstica das hemoparasitoses em cães: Revisão. *PUBVET*, v.16, n.10, p. 1-16, 2022.
- DE PAIVA DINIZ, P. P. V.; SCHWARTZ, D. S.; DE MORAIS, H. S. A.; & BREITSCHWERDT, E. B. Surveillance for zoonotic vector-borne infections using sick dogs from southeastern Brazil. *Vector Borne Zoonotic Diseases*, v.7, n.4: p.689-697, 2006.
- DUMLER, J. S. et al. 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*, v.51, p.2145-2165, 2001.
- FARIA, J. L. M.; DAGNONE, A. S.; MUNHOZ, T. D.; JOÃO, C. F.; PEREIRA, W. A. B.; MACHADO, R. Z.; & TINUCCI-COSTA, M. *Ehrlichia canis* morulae and DNA detection in whole blood and spleen aspiration samples. *Revista Brasileira Parasitologia Veterinária*, v.19, n.2, p.98-102, 2010.
- FÖLDVÁRI, G; HELL, E.; FARKAS, R. *Babesia canis* in dogs from Hungary: Detection by PCR and sequencing. *Veterinary Parasitology*, v.127, p.221-226, 2005.
- HASEGAWA, H. Y. *Dinâmica da infecção experimental de cães por Ehrlichia canis: aspectos clínicos, laboratoriais e resposta imune humoral e celular*. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil, 2005. <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/10/10136/tde-18042007-111955/pt-br.php>
- HOLANDA, L. C. D.; ALMEIDA, T. L. A. C. D.; MESQUITA, R. M. D.; OLIVEIRA, M. B. D.; & OLIVEIRA, A. A. D. F. Achados hematológicos em sangue e medula óssea de cães naturalmente infectados por *Ehrlichia* spp. e *Anaplasma* spp.. *Ciência Animal Brasileira*, v.20, p.1-12, 2019.
- CARVALHO, L., ARMUA-FERNANDEZ, M. T., SOSA, N., FÉLIX, M. L., & VENZAL, J. M. *Anaplasma platys* in dogs from Uruguay. *Ticks and tick-borne diseases*, v. 8, n. 2, p. 241-245, 2017.
- KRAUSE, L. E., SAMPAIO, L. C., & RIBEIRO, C. L. Molecular characterization of *Anaplasma platys* in dogs in Pelotas city, Southern Brazil. *Scholars Journal of Agriculture and Veterinary Sciences*, v. 3, n. 1, p. 20-25, 2016.
- MILKEN, V. M. F.; CABRAL, D. D.; FIGUEIREDO, J. F.; & GONÇALVES, C. L. Ocorrência de babesiose canina no município de Uberlândia, Minas Gerais. *Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR*, v.7, p.19-22, 2004.
- 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, p.325-339, 1998.
- PINTO, R. L. *Babesiose canina – relato de caso*. Monografia de Especialização em Clínica Médica de Pequenos Animais. Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFERSA, Departamento de Ciências Animais, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil, 2009. <https://www.equalisveterinaria.com.br/wp-content/uploads/2018/12/Babesiose-Canina-Relato-de-Caso.pdf>
- RAMOS, R., RAMOS, C., ARAÚJO, F., OLIVEIRA, R., SOUZA, I., PIMENTEL, D., & ALVES, L. Molecular survey and genetic characterization of tick-borne pathogens in dogs in metropolitan Recife (north-eastern Brazil). *Parasitology Research*, v.107, n.5, p.1115-1120, 2010.
- RAMOS, C. A., RAMOS, R. A., ARAÚJO, F. R., GUEDES JR, D. S., SOUZA, I. I., ONO, T. M., & ALVES, L. C. Comparação de nested-PCR com o diagnóstico direto na detecção de *Ehrlichia canis* e

- Anaplasma platys* em cães. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v.18, p.58-62, 2009.
- SÁ, A. G. *Babesiose canina*. Monografia de Especialização em Patologia Clínica Veterinária, Universidade Castelo Branco, Rio de Janeiro, Brasil, 2007.
- SILVA, I. P. M. Eriquiiose canina – revisão de literatura. *Revista Científica de Medicina Veterinária*, v. 13, n. 4, 2015.
- SHIPOV, A.; KLEMENT, E.; REUVENI-TAGER, L.; WANER, T.; & HARRUS, S. Prognostic indicators for canine monocytic ehrlichioses. *Veterinary Parasitology*, v.153, p.131-138, 2008.
- TESSER, S.; CAVAGNOLLI, N. I.; TORRIANI, T.; RODRIGUES, A. D. Perfil hematológico de cães e gatos na cidade de Bento Gonçalves, Rio Grande do Sul, Brasil. *Arq. Ciênc. Vet. Zool. UNIPAR*, Umuarama, v. 19, n. 1, p. 47-51, 2016.
- THRALL M. *Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária*. São Paulo: ROCA LTDA, 2020.
- THRALL, M. A. et al. *Hematologia e Bioquímica clínica veterinária*. 2ª edição, São Paulo: Editora Rocca, 2014.
- THONGSAHUAN S, CHETHANOND U, WASIKSIRI S, SAECHAN V, THONGTAKO W, MUSIKACHAROEN T. Hematological profile of blood parasitic infected dogs in Southern Thailand. *Vet World*, v. 13, n. 11, p. 2388-2394, 2020.
- UNGAR DE SÁ, M. F. M.; UNGAR DE SÁ, J. E.; BITTENCOURT, D. V. V.; BISPO, A. C. D.; RÉGIS, A. M. M.; SOUZA FILHO, N. J.; ... & FRANKE, C. R. Estudo retrospectivo (1991-2005), dos casos de babesiose canina na cidade de Salvador e Região Metropolitana, Bahia. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, v.8, p.178-183, 2007.
- VILELA, J. A. R.; PIRES, M. S.; DA SILVA, C. B.; PEIXOTO, M. P.; FALQUETO, A., SANTOS, H. A.; & FACCINI, J. L. H. Clinical-hematological changes due to *Babesia canis vogeli* infection in dogs from Seropédica, Rio de Janeiro, Brazil. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, v.35, p.63-68, 2013.
- ZACHARY, J. F.; MCGAVIN, M. D. *Bases da Patologia em Veterinária*. Elsevier: Rio de Janeiro, Brasil, 2013.
- ZYGNER, W.; RAPACKA, G.; GÓJSKA-ZYGNER, O.; DŁUGOSZ, E. & WEDRYCHOWICZ, H. Biochemical abnormalities in serum of dogs infected with large *Babesia* in Warsaw (Poland). *Polish Journal of Veterinary Sciences*, v.10, p.245-253, 2007.