

**UNIVERSIDADE SANTO AMARO**

**Doutorado em Saúde Única**

**Camila de Abreu Aires Ribeiro Costa**

**Erliquiose e Babesiose em São Paulo: Impacto de condutas  
clínicas na seleção de patógenos**

**São Paulo - SP**

**2025**

**Camila de Abreu Aires Ribeiro Costa**

**Erliquiose e Babesiose em São Paulo: Impacto de condutas  
clínicas na seleção de patógenos**

Tese apresentada ao Programa de Pós- Graduação  
*Stricto Sensu* da Universidade Santo Amaro –  
UNISA, como requisito para obtenção do título de  
Doutor em Saúde Única

Orientador: Prof. Dr. Arlei Marcili

**SÃO PAULO - SP**

**2025**

C871s

Costa, Camila de Abreu Aires Ribeiro

Erlíquiose e Babesiose em São Paulo: Impacto de condutas clínicas na seleção de patógenos / Camila de Abreu Aires Ribeiro Costa. – São Paulo, 2025.

98 p. : il., Color.

Orientador: Prof. Dr. Arlei Marcili

Tese. (Doutorado em Medicina Veterinária) - Universidade Santo Amaro, 2025.

Bibliografia incluída.

1. Epidemiologia. 2. Hemoparasitas. 3. Cães. I. Marcili, Arlei. II. Universidade Santo Amaro. III. Título.

CDD 614.4

**Camila de Abreu Aires Ribeiro Costa**

**Erliquiose e Babesiose em São Paulo: Impacto de condutas clínicas na  
seleção de patógenos**

Tese apresentada ao programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* da Universidade Santo Amaro – UNISA, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Saúde Única.

Orientador: Prof. Dr. Arlei Marcili.

São Paulo, 23 de janeiro de 2025

**Banca Examinadora**

---

Dra. Isabella Pereira Pesenato

---

Prof. Dr. Ryan Emiliano Silva

---

Prof. Dr. Jonas Moraes Filho

---

Prof. Dr. Herbert Soares

---

Prof. Dr. Arlei Marcili

Conceito final: \_\_\_\_\_

“ É exatamente disso que a vida é feita, de momentos.

Momentos que temos que passar, sendo bons ou ruins, para o nosso próprio aprendizado. Nunca esquecendo do mais importante: nada nessa vida é por acaso, absolutamente nada! Por isso, temos que nos preocupar em fazer a nossa parte, da melhor forma possível. A vida nem sempre segue a nossa vontade, mas ela é perfeita naquilo que tem que ser!” (Chico Xavier)

Dedico para meu filho amado Mateus, meu presente de Deus, que eu seja sempre o exemplo e demonstração de força, coragem, determinação e vontade de viver, quando tudo estiver difícil lembre-se que Jesus está sempre conosco, você é o impulso que me faz querer ser melhor, e obrigada por sempre me lembrar que prefere uma mãe que trabalha como eu do que uma mãe que assa bolo a tarde para você

rs

Aos animais, com todo meu amor, carinho e compaixão!

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus em primeiro lugar, pela dom da vida, pela oportunidade de estar aqui nesse planeta podendo exercer a profissão que escolhi por amor aos animais. A Jesus Cristo que tem me sustentado e me carregado de mãos dadas com ele, em todas as provas que me deparo na vida.

Quando eu estava na graduação há 20 anos atrás, eu tinha um sonho, esse sonho era ser professora universitária de medicina veterinária, e eis que aquela menina que entrou perdida no mestrado em 2019, sai 6 anos depois do doutorado como professora, como sempre sonhei! Escrevo essas palavras com muita gratidão no meu coração!

Agradeço a minha família, aos meus pais, meu pai que sempre investiu em mim desde a graduação, nunca ouvi um não sequer dele quando se tratava de cursos, livros, pós e afins, e eu era boa em querer tudo ao mesmo tempo, até hoje sou assim, mas enfim pai agora você terá uma filha oficialmente “doutora” .A minha mãe, minha melhor amiga, a pessoa que está sempre do meu lado, me dando apoio, conselhos, sua amizade a amor! Nunca me abandone aqui mãe, te falo sempre isso, não sei viver sem você!

Meu agradecimento com amor e carinho ao Rick e ao Mateus, por terem me apoiado, entendido minhas ausências em casa para me dedicar ao meu sonho e me incentivado dia após dia. Rick obrigada por segurar a minha mão nos momentos difíceis, principalmente nesse último ano. Sem a sua ajuda eu não teria chegado até o fim!

Ao meu orientador Professor Dr. Arlei Marcili por esta caminhada juntos de 6 anos entre mestrado e doutorado, por todos os ensinamentos e orientações transmitidas que com certeza me fizeram crescer como profissional e pessoa!

A UNISA que foi minha “casa”por 6 anos , aos professores, mestres e doutores, que nos ensinaram tanto e que cada um saiba que nos espelhamos em vocês! Um agradecimento em especial aos Professores: Jonas Moraes Filho que me ajudou muito para a realização deste trabalho, já te disse isso outras vezes, mas sua ajuda foi fundamental, muito obrigada por tudo; Prof Herbert Soares por sempre ser solícito

em me ajudar quando eu pedia alguma coisa! A prof Adriana sempre solícita também, me ajudando nessa caminhada!

A todos do laboratório URC – UNISA, Professora Dra. Marina Shio, e aos técnicos de laboratório Juscelino e Fernando , expresso minha gratidão por todo auxílio, paciência e prestatividade.

A minha companheira de laboratório e doutorado Roberta, por dividirmos o desespero muitas vezes naquele laboratório e por sempre me ajudar quando eu solicito algo, obrigada Ro!

A minha outra companheira de laboratório, Mara Silva, fazer as longas sorologias com você foi muito mais divertido e leve, e ainda fiz uma amiga!

A minha companheira de doutorado Ingridi Oliveira, choramos juntas, nos desesperamos juntas muitas vezes, uma dando conselho a outra, muitas vezes conselhos motivacionais e muitas vezes desmotivacionais mesmo kkk, mas enfim estamos na reta final!!!!

A minhas amigas Lara, Nathy, Danielly, por serem minhas confidentes, amigas, e estarem ao meu lado, sempre me aconselhando e torcendo por mim, obrigada amigas por vocês existirem na minha vida!

A equipe veterinária do plano espiritual que sempre guia meus passos e me orienta para eu tomar as decisões mais assertivas, estamos sempre juntos!

Ao todos que me ajudaram indiretamente para que eu conseguisse seguir meus objetivos!

Que Deus ilumine a todos!

## RESUMO

Doenças hemoparasitárias são proeminentes em animais domésticos, particularmente no Brasil, um país tropical com uma ampla gama de vetores. Este estudo investigou a epidemiologia de *Babesia vogeli* e *Ehrlichia canis* em amostras de sangue total de cães nas regiões sul, norte e leste de São Paulo e Osasco (região da Grande São Paulo), Brasil. Amostras de sangue total de 1219 cães foram testadas para a presença de DNA de *B. vogeli* por qPCR usando o gene da proteína de choque térmico de 70 kDa de *B. vogeli* (hsp 70), e 1041 cães foram testados para a presença de *E. canis* usando sorologia com o método ELISA para anticorpos anti *Ehrlichia canis*. Alinhado a isso foi realizado um questionário avaliando a conduta de médicos veterinários da respectiva região de estudo em relação a exames solicitados e tratamentos realizados para as doenças em questão. Das 1219 amostras de sangue de cães, 16,16% foram positivas para *B. vogeli* e das 1041 amostras de sangue de cães rastreadas para a presença de *E. canis*, 17,87% foram positivas. As variáveis avaliadas do questionário foram determinadas como não associadas à ocorrência de *B. vogeli* e *E. canis* na cidade de São Paulo e Osasco, Brasil.

**Palavras-chave:** Epidemiologia; Cães; Carrapato; Diagnóstico; Hemoparasitas

## SUMMARY

Hemoparasitic diseases are prominent in domestic animals, particularly in Brazil, a tropical country with a wide range of vectors. This study investigated the epidemiology of *Babesia vogeli* and *Ehrlichia canis* in whole blood samples from dogs in the southern, northern and eastern regions of São Paulo and Osasco (Greater São Paulo region), Brazil. Whole blood samples from 1219 dogs were tested for the presence of *B. vogeli* DNA by qPCR using the *B. vogeli* 70 kDa heat shock protein (hsp 70) gene, and 1041 dogs were tested for the presence of *E. canis* using serology with the ELISA method for antibodies to *Ehrlichia canis*. In line with this, a questionnaire was conducted to assess the conduct of veterinarians in the respective study region regarding requested tests and treatments performed for the diseases in question. Of the 1219 dog blood samples, 16.16% were positive for *B. vogeli* and of the 1041 dog blood samples screened for the presence of *E. canis*, 17.87% were positive. The assessed variables of the questionnaire were determined to be not associated with the occurrence of *B. vogeli* and *E. canis* in the city of São Paulo and Osasco, Brazil

**Keywords:** Epidemiology; Dogs; Tick; Diagnosis; Hemoparasites

## LISTA DE FIGURAS

|  |    |
|--|----|
| Figura 1 – Carrapato <i>Rhipicephalus sanguineus linnaei</i> .....   | 22 |
| Figura 2 – Ciclo de vida <i>Babesia</i> spp.....   | 23 |
| Figura 3 - Esfregaço sanguíneo mostrando o parasita <i>Babesia vogeli</i> dentro de uma hemácia .....  | 28 |
| Figura 4 – Mapa de incidência da erliquiose no Brasil .....  | 35 |
| Figura 5 - Cão com epistaxe grave devido a infecção por <i>Ehrlichia canis</i> .....   | 40 |
| Figura 6 - Inclusão leucocitária de <i>Ehrlichia canis</i> em sangue periférico da paciente. Seta indica a estrutura em divisão (mórula) ..... | 42 |
| Figura 7 – Localização da área de estudo .....   | 54 |
| Figura 8 – Localização dos hospitais. ....   | 55 |
| Figura 9 – Casos positivos de babesiose canina em São Paulo e Osasco .....   | 59 |
| Figura 10 – Casos positivos de erliquiose canina em São Paulo e Osasco .....   | 59 |
| Figura 11– Casos positivos de babesiose e erliquiose canina em São Paulo e Osasco.....   | 67 |
| Figura 12 - Animais testados para <i>Babesia vogeli</i> conforme o local da coleta. São Paulo e Osasco, ano 2024.....                          | 68 |
| Figura 13 - Animais testados para <i>Ehrlichia canis</i> conforme o local da coleta. São Paulo e Osasco, ano 2024.....                         | 69 |

## LISTA DE TABELAS

|   |    |
|---|----|
| Tabela 1 – Distribuição das amostras coletadas para testes de <i>Ehrlichia</i> e <i>Babesia</i> conforme o local da coleta. São Paulo e Osasco, ano 2024..... | 58 |
| Tabela 2 - Frequência e IC95% do teste positivo para <i>Ehrlichia canis</i> . São Paulo e Osasco, ano 2024 .....  | 60 |
| Tabela 3 - Frequência e IC95% do teste positivo para <i>Babesia vogeli</i> . São Paulo e Osasco, ano 2024.....  | 61 |
| Tabela 4 - Caracterização geral do Questionário de impacto de conduta clínicas (Pergunta 1 até Pergunta 4.4). São Paulo e Osasco, ano 2024 .....              | 63 |
| Tabela 5 - Caracterização geral do Questionário de impacto de conduta clínicas (Pergunta 5 até Pergunta 9). São Paulo e Osasco, ano 2024 .....                | 65 |
| Tabela 8 - A avaliação da associação entre a Perguntas 6 x Pergunta 8. São Paulo e Osasco, ano 2024 .....   | 79 |

## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Animais testados para *Babesia vogeli* conforme o local da da coleta. São Paulo e Osasco, ano 2024..... 60

Gráfico 2: Animais testados para *Ehrlichia canis* conforme o local da coleta. São Paulo e Osasco, ano 2024..... 62

## LISTA DE ABREVIATURAS

|                |  |
|----------------|--|
| <b>ABINPET</b> | Associação Brasileira da Indústria de Produtos para Animais de Estimação |
| <b>ACVIM</b>   | <i>American College Veterinary Internal Medicine</i>                     |
| <b>BID</b>     | <i>Bis in die</i> (duas vezes ao dia)                                    |
| <b>DC</b>      | <i>Dense-cored</i>   |
| <b>DNA</b>     | Ácido desoxirribonucleico  |
| <b>EDTA</b>    | Ácido etilenodiamino tetra-acético                                       |
| <b>ELISA</b>   | Ensaio de imunoabsorção enzimático                                       |
| <b>EMC</b>     | Erliquiose Monocítica Canina   |
| <b>EMH</b>     | Erliquiose Monocitotrópica Humana  |
| <b>EUA</b>     | Estados Unidos da America  |
| <b>FDA</b>     | Food and drug administration   |
| <b>IBGE</b>    | Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística                          |
| <b>IFAT</b>    | Teste de anticorpo fluorescente indireto                                 |
| <b>IgG</b>     | Imunoglobulina G   |
| <b>IgM</b>     | Imunoglobulina M   |
| <b>IM</b>      | Intramuscular  |
| <b>IV</b>      | Intravenoso  |
| <b>MIC</b>     | Concentração Inibitória Míninima   |
| <b>ONU</b>     | Organização das Nações Unidas  |
| <b>PCR</b>     | Reação em cadeia da polimerase   |
| <b>qPCR</b>    | Reação em cadeia da polimerase em tempo real                             |
| <b>RC</b>      | <i>Reticulate-cells</i>  |
| <b>RIFI</b>    | Reação de Imunofluorescência Indireta                                    |
| <b>RNA</b>     | Ácido ribonucleico ribossômico   |
| <b>SC</b>      | Subcutâneo   |
| <b>VO</b>      | Via oral   |

## SUMÁRIO

|   |    |
|---|----|
| 1. Introdução .....   | 17 |
| 2. <i>Babesia vogeli</i> .....  | 20 |
| 2.1. Taxonomia .....  | 20 |
| 2.2. Epidemiologia .....  | 22 |
| 2.3. Morfologia .....   | 23 |
| 2.4. Transmissão .....  | 23 |
| 2.5. Ciclo de Vida .....  | 24 |
| 2.6. Patogênese .....   | 26 |
| 2.7. Sintomatologia e Achados Laboratoriais .....   | 27 |
| 2.8. Diagnóstico .....  | 29 |
| 2.8.1. Detecção de <i>Babesia vogeli</i> em esfregaços de sangue corados ou por citometria de fluxo ..... | 29 |
| 2.8.2. Reação em cadeia de polimerase (PCR) .....   | 30 |
| 2.8.3. Testes sorológicos .....   | 31 |
| 2.9. Tratamento .....   | 31 |
| 2.9.1. Dipropionato de Imidocarbe .....   | 32 |
| 2.9.2. Acetato de diminazeno .....  | 34 |
| 2.10. Prevenção .....   | 35 |
| 3. <i>Ehrlichia canis</i> .....   | 36 |
| 3.1. Taxonomia .....  | 36 |
| 3.2. Epidemiologia .....  | 37 |
| 3.3. Morfologia .....   | 38 |
| 3.4. Transmissão .....  | 39 |
| 3.5. Ciclo de Vida .....  | 40 |
| 3.6. Patogênese .....   | 40 |
| 3.7. Sintomatologia e Achados laboratoriais .....   | 42 |
| 3.8. Diagnóstico .....  | 44 |
| 3.8.1. Exame direto de esfregaço sangüíneo .....  | 45 |
| 3.8.2. Reação em cadeia de polimerase (PCR) .....   | 46 |
| 3.8.3. Testes sorológicos .....   | 47 |
| 3.8.4. Teste Rápido .....   | 49 |
| 3.9. Tratamento .....   | 49 |
| 3.9.1. Doxiciclina .....  | 51 |
| 3.9.2. Minociclina .....  | 52 |
| 3.9.3. Rifampicina .....  | 52 |
| 3.9.4. Dipropionato de Imidocarbe .....   | 53 |
| 3.10. Cura clínica X cura parasitológica .....  | 53 |
| 3.11. Prevenção .....   | 54 |
| 4. Importância do médico veterinário .....  | 55 |
| 5. Justificativa .....  | 58 |
| 6. Objetivo Geral .....   | 59 |
| 6.1. Objetivos específicos .....  | 59 |
| 7. Materiais e Métodos .....  | 60 |
| 7.1. Considerações éticas .....   | 60 |
| 7.2. Área de estudo .....   | 60 |
| 7.3. Obtenção e origem das amostras .....   | 61 |
| 7.4. Diagnóstico molecular para <i>Babesia vogeli</i> .....   | 63 |

|  |     |
|--|-----|
| 7.4.1. Extração do DNA.....                                      | 63  |
| 7.4.2. PCR Real Time.....  | 63  |
| 7.5. Diagnóstico sorológico para <i>Ehrlichia canis</i> .....    | 63  |
| 7.6. Mapeamento dos positivos.....                               | 64  |
| 7.7. Questionário para os médicos veterinários.....              | 64  |
| 8. Resultados.....   | 65  |
| 8.1. Total análises.....   | 65  |
| 8.2. Resultados sorológico para <i>Ehrlichia canis</i> .....     | 67  |
| 8.3. Resultado molecular para <i>Babesia vogeli</i> .....        | 71  |
| 8.4. Resultado do Questionário para os médicos veterinários..... | 72  |
| 8.5. Mapeamento dos positivos.....                               | 79  |
| 9. Discussão.....  | 85  |
| 9.1. <i>Babesia vogeli</i> .....                                 | 86  |
| 9.2. <i>Ehrlichia canis</i> .....                                | 88  |
| 9.3. Conduta do médico veterinário.....                          | 90  |
| 10. Conclusão.....   | 94  |
| REFERÊNCIAS.....   | 76  |
| ANEXOS.....  | 114 |

## 1. INTRODUÇÃO

As doenças vetoriais que acometem os cães são de grande relevância e um desafio na medicina veterinária devido à alta frequência de casos relatados durante o atendimento clínico. As doenças hemoparasitárias fazem parte deste grupo complexo e variado, e são proeminentes em animais domésticos, principalmente no Brasil, país tropical com grande variedade de vetores. Os artrópodes e as infecções transmitidas por eles estão expandindo seus limites zoogeográficos devido as mudanças climáticas e ao aumento da acessibilidade a certos nichos ambientais (Shaw et al., 2001)

Há um aumento na ocorrência das doenças transmitidas por carrapatos em cães em áreas urbanas e rurais no Brasil, algumas, inclusive, são de importância para a saúde pública (Pereira et al., 2020). Dado o contato próximo entre as pessoas e os seus animais de estimação, é claramente importante considerar os animais de companhia no desenvolvimento do conceito One Health (Gibbs; Gibbs, 2012).

Cada vez mais nas últimas décadas, o animal de companhia passa a maior parte da sua vida no interior do ambiente doméstico, em associação física muito próxima com os seus tutores. Embora muitos destes animais gozem de um padrão muito elevado de cuidados de saúde com o aumento da longevidade, há uma série de patógenos infecciosos zoonóticos que podem ser transmitidos direta ou indiretamente por estas espécies. A transmissão de tais patógenos depende do estilo de vida do animal de estimação, sendo influenciada por fatores como falta de vacinação e falta de controle de parasitas, exposição a outros animais domésticos ou selvagens (incluindo vida selvagem urbana, como canídeos silvestres ou pequenos roedores).

Considerando que os cães são frequentemente infestados por carrapatos, são animais de companhia e, dependendo do seu estilo de vida, podem ter acesso a diferentes ambientes, eles são capazes de trocar ectoparasitas com outras espécies animais e introduzir patógenos em determinados locais, muitos dos quais causam zoonoses (Szabó et al., 2010), cabe ao médico veterinário orientar os tutores e responsáveis.

As hemoparasitoses podem ser definidas como enfermidades cosmopolitas causadas por parasitos circulantes no sangue, transmitidas biologicamente e/ou mecanicamente pela picada de artrópodes hematófagos. Esses patógenos podem causar sérias complicações clínicas até a morte do animal e ainda alguns possuem potencial zoonótico. Outra característica relevante é a expansão contínua desses agentes por todo o mundo devido as alterações climáticas e o aumento da globalização. Por esses motivos esses agentes são um grande desafio na medicina veterinária e na saúde pública.

Em muitas partes do Brasil, há registros de cães infectados por patógenos transmitidos por carrapatos em amplas faixas de ocorrência e prevalência (Saito et al., 2008; Ramos et al., 2010; Spolidorio et al., 2013; Vieira et al., 2011; Costa et al., 2015; Rotondano et al., 2015; Ribeiro et al., 2017). Em contrapartida, há escassez de dados sobre a epidemiologia das doenças transmitidas por carrapatos na região do município de São Paulo e Osasco localizados no Estado de São Paulo. Neste contexto, o presente estudo avaliou a prevalência de infecção por *Babesia vogeli* e *Ehrlichia canis* nestas cidades.

A babesiose canina é uma doença potencialmente fatal que é causada por parasitas protozoários intraeritrocíticos do gênero *Babesia* (Dantas-Torres; Figueredo, 2006). Casos de babesiose canina têm sido relatados em muitos estados brasileiros como Rio de Janeiro, Ceará, Maranhão e Pernambuco.

A erliquiose monocítica canina foi reconhecida pela primeira vez no Brasil na década de 1970 (Costa et al., 1973). Esta doença é causada por *Ehrlichia canis* uma bactéria que parasita células mononucleares. A erliquiose canina é prevalente em praticamente todas as regiões do Brasil. Esta doença afeta cerca de 20-30% dos cães encaminhados para clínicas e hospitais veterinários no Brasil, mas a prevalência da infecção varia muito de região para região. (Dantas-Torres, 2008).

O carrapato marrom do cão *Rhipicephalus linnaei* (Slapeta et al., 2022) é considerado um importante vetor de doenças parasitárias. O único vetor comprovado de *B. vogeli* no Brasil é *Rhipicephalus linnaei*, que também é o vetor suspeito de *B. gibsoni*. Sendo responsável pela transmissão de *Babesia* spp., principalmente no Brasil (Dantas-Torres, 2008).

Considerando que as infecções hemoparasitárias são importantes na rotina da clínica médica canina devido à alta casuística e que há escassez de informações sobre a prevalência de hemoparasitos na região da cidade de São Paulo e Osasco, estando esta última inserida na região da Grande São Paulo, o presente estudo teve como objetivo determinar a prevalência de infecção por *Ehrlichia canis* e *Babesia vogeli* nesta região. Além disso, tendo em vista a grande dispersão das hemoparasitoses no mundo, falta de confirmação dos casos suspeitos, diagnósticos e tratamentos realizados de forma

incorreta, este estudo teve como objetivos avaliar a conduta clínica dos médicos veterinários no que tange ao diagnóstico e tratamento das respectivas doenças para assim poder aprimorar estas condutas, visando melhorar a prática médica dos médicos veterinários.

## 2. *Babesia vogeli*

### 2.1. TAXONOMIA

Pesquisas publicadas entre 1895 e 1938 demonstraram claramente que *B. canis* era na verdade três entidades distintas, com vetores específicos. Por alguma razão desconhecida, esse conhecimento foi negligenciado ou ignorado por 50 anos. Deve-se ter cuidado ao avaliar a literatura sobre a manifestação clínica, tratamento e prevenção da babesiose/piroplasmose canina publicada entre 1940 e 1989 (e além), uma vez que o organismo causador é geralmente referido apenas como *B. canis* (Penzhorn, 2020).

Uilenberg et al. (1989) apresentaram evidências sorológicas e lembraram à comunidade científica que não um, mas três táxons específicos de vetores estavam envolvidos, que eles denominaram *B. canis canis*, *B. canis vogeli* e *B. canis rossi*. Em 1998, foi demonstrado que a variação no gene 18S rRNA (ácido ribonucleico ribossômico) segregava genótipos de *B. canis* (s.l.) em grupos distintos correspondentes às subespécies propostas. A opinião variou sobre se esses táxons deveriam ser considerados subespécies de *B. canis* ou espécies distintas. Não existe um critério universalmente aceito (% de diferença de sequência) para classificar os organismos em nível de espécie com base na variação do gene 18S rRNA.

Para os propósitos deste estudo, os três táxons são considerados espécies. Os três táxons são: *Babesia canis*, transmitida pelo carrapato *Dermacentor reticulatus* e historicamente confinada à Europa, mas recentemente relatada na China; *Babesia rossi*, transmitida por *Haemaphysalis elliptica* (e possivelmente *Haemaphysalis leachi*) e confinada à África subsaariana; e a cosmopolita *Babesia vogeli* transmitida por *Rhipicephalus linnaei* (Penzhorn, 2020).

O gênero *Babesia* pertence ao filo Apicomplexa, classe Aconoidasida, ordem Piroplasmida e família Babesiidae. Os termos esporozoíto, merozoíto e trofozoíto são usados para a descrição dos estágios de vida no ciclo de vida da *Babesia* (Solano; Baneth, 2011)

### 2.2. EPIDEMIOLOGIA

A babesiose canina é uma doença de grande importância veterinária no Brasil; é endêmica em todo o país e sua prevalência está aumentando em certas áreas (Dantas-

Torres, 2006). *Babesia* spp. infecta animais domésticos e animais selvagens. Nos últimos anos, o número de casos de babesiose canina tem aumentado em todo o mundo, se tornando uma importante ameaça veterinária (Panti-May; Rodriguez-Vivas, 2020).

Entre as quatro grandes espécies de *Babesia* (*B. canis*, *B. rossi*, *B. vogeli*, *B. coco*), a *B. vogeli* é a mais prevalente globalmente. Isso decorre devido ao comportamento nidícola do seu vetor *R. linnaei*, da capacidade de causar infecções predominantemente leves ou subclínicas e de sua longa associação evolutiva com cães (Zygner et al., 2023).

Uma revisão da literatura sobre prevalência, distribuição e diagnóstico de Babesiose canina na América Latina e no Caribe conduzida por Panti-May e Rodriguez-Vivas (2020) observou que a *Babesia vogeli* foi a espécie mais difundida, incluindo nos países da América do Norte (México), América Central e Caribe (Costa Rica, Granada, Haiti, Nicarágua, Saint Kitts e Nevis e Trinidad e Tobago) e América do Sul (Argentina, Brasil, Chile, Colômbia, Paraguai, Peru, e Venezuela). Em contraste, *B. gibsoni* foi registrado em poucos países da América Central e Caribe (Costa Rica, Nicarágua e Saint Kitts e Nevis) e no Brasil. *Babesia caballi*, uma espécie não canina, foi encontrada em um cão doméstico no Mato Grosso do Sul - Brasil.

Até 2005 a caracterização de isolados de *Babesia* spp. em uma base molecular era completamente ausente, foi quando Passos et al. (2005) caracterizou por métodos moleculares *B. vogeli* em cães no Brasil.

O conhecimento da prevalência e dos aspectos clínico-patológicos das espécies de *Babesia* que infectam cães em todo o mundo é de interesse epidemiológico e médico. A detecção precisa e o reconhecimento das espécies são importantes para a seleção da terapia correta e a previsão do curso da doença (Solano; Baneth, 2011).

### 2.3. MORFOLOGIA

*Babesia* spp. são protozoários parasitas transmitidos por carrapatos (Baneth, 2018b). Esses parasitas são pleomórficos, mas normalmente vistos como inclusões intraeritrocíticas piriformes no exame citológico de esfregaços de sangue corados (Dantas-Torres; Alves; Uilenberg, 2017).

Historicamente, eles foram classificados como formas pequenas (1,0–2,5 µm) ou grandes (2,6–5,0 µm), dependendo do tamanho das inclusões intraeritrocíticas. Tradicionalmente, todas as formas grandes de *Babesia* que infectavam cães eram designadas como *Babesia canis*, enquanto todas as formas pequenas de *Babesia* eram consideradas *Babesia gibsoni*. No entanto, o desenvolvimento de análises moleculares e sequenciamento de DNA (ácido desoxirribonucleico) tem demonstrado que várias

espécies de *Babesia* morfológicamente semelhantes, mas geneticamente distintas, infectam cães. Atualmente, as formas grandes de *Babesia* relatadas em cães incluem *Babesia canis*, *Babesia vogeli* e *Babesia rossi*, e as formas pequenas incluem *Babesia gibsoni*, *Babesia conradae* e *Babesia vulpes* (Baneth, 2018b; Panti- May; Rodriguez-Vivas, 2020).

## 2.4. TRANSMISSÃO

A transmissão natural de *Babesia* para hospedeiros vertebrados ocorre por meio da picada, no momento da ingestão do sangue, através de saliva infectada, de um carrapato que é o vetor biológico. Todas as *Babesia* spp. cujo ciclo de vida é conhecido são transmitidos por carrapatos durante a alimentação sanguínea

(Corduneanu, 2020). O vetor de *Babesia vogeli* é o *Rhipicephalus linnaei* (Figura 1)

Figura 1 - Carrapato *Rhipicephalus linnaei*



Fonte: Little, 2010

## 2.5. CICLO DE VIDA

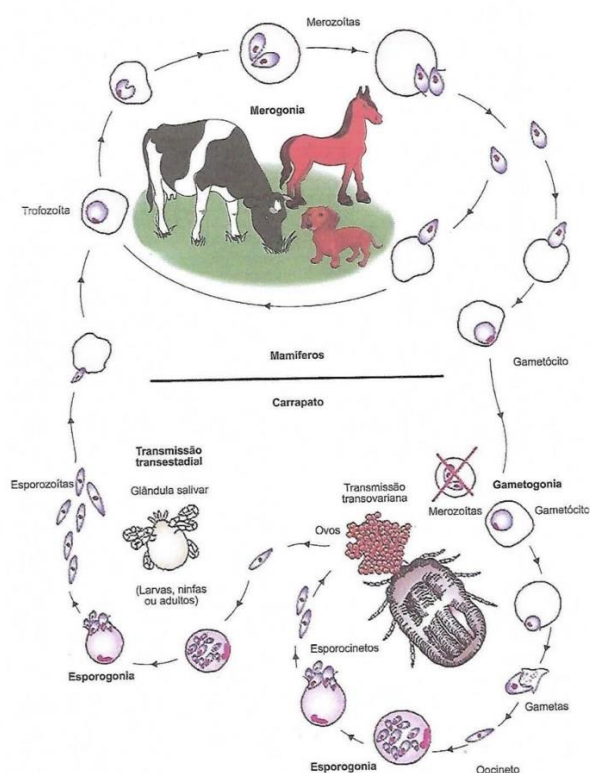
Algumas espécies de *Babesia*, incluindo *B. canis*, o carrapato necessita ficar fixado se alimentando no animal por no mínimo de 2 a 3 dias para que a transmissão ocorra. Presume-se que a mudança de temperatura ou a presença de repasto sanguíneo no intestino do carrapato atue como um estímulo de ativação para a maturação dos esporozoítos infectantes. Os animais são infectados quando esporozoítos de *Babesia* são injetados com saliva na pele do hospedeiro durante o repasto sanguíneo (Solano; Baneth, 2011).

No carrapato é onde ocorre a reprodução sexuada no ciclo da *Babesia* spp. Os merozoítos, ao serem ingeridos pelo carrapato, são destruídos no seu intestino. Assim, os gamontes são as formas infectantes que irão invadir as células intestinais do carrapato e rapidamente transformar-se em corpos raiados. A partir desta fase, haverá a fusão

destes gametas surgindo um zigoto, que passará por mudanças até se tornar esporocinetos, que saem das células intestinais e invadem vários tecidos do carrapato via hemolinfa, possuindo a capacidade de também invadirem os ovários e os ovos da fêmea, o que permite a transmissão vertical. Após a invasão das células do carrapato, há mudança desta forma móvel para uma forma polimórfica com cromatina nuclear frouxa e lobulada, iniciando a fase de esporogonia. Nesta fase, haverá o crescimento do parasito e posterior fissão, com produção de inúmeros citômeros, ao qual finalmente, irão produzir mais esporocinetos, que continuarão este

processo de invasão de novos tecidos, podendo também, invadir os ovários e a glândula salivar (Figura 2) (Irwin, 2010).

Figura 2 – Ciclo de vida *Babesia* spp.



FONTE: Monteiro, 2017

Quando ocorre a muda ou o repasto sanguíneo, os esporocinetos presentes na glândula salivar, são ativados e começam ciclos de replicação para gerarem novos esporozoítos infectantes, que sairão dos alvéolos glandulares e irão entrar em contato com o novo hospedeiro vertebrado via saliva, recomeçando o ciclo (Irwin, 2010).

Em geral, *Babesia* spp. é transmitida transtestadialmente de um estágio do ciclo de vida do carrapato para outro, e também transovariamente através dos ovos do carrapato, como

mostrado para algumas *Babesia* spp., e podem, portanto, ser transmitidos por gerações de carrapatos sem ter que se alimentar de um hospedeiro infectado (Solano e Baneth, 2011; Trapp et al, 2006). O ciclo de vida de *Babesia* spp. no hospedeiro mamífero ocorre exclusivamente em eritrócitos (Solano; Baneth, 2011).

## 2.6. PATOGÊNESE

A patologia que *Babesia* inflige no hospedeiro varia consideravelmente com as diferentes espécies e subespécies envolvidas, e também com o estado imunológico individual do hospedeiro, idade, infecções ou doenças concomitantes e resposta à infecção (Irwin, 2009; Solano; Baneth, 2011). Os parasitas que vivem em células vermelhas têm maneiras bastante engenhosas de entrar nessas células, escapando assim dos perigos do sistema imunológico do hospedeiro (Lobo; Rodriguez; Cursino-Santos, 2012). A anemia hemolítica e a síndrome da resposta inflamatória sistêmica levando à síndrome de disfunção de múltiplos órgãos são responsáveis pela maioria dos sinais clínicos observados na babesiose canina (Taboada; Lobetti, 2006).

Em geral, as espécies de *Babesia* causam uma anemia hemolítica que é multifatorial e é a manifestação clínica predominante induzindo uma série de respostas imunes que podem ter uma influência devastadora (Ayoob et al., 2010). A anemia hemolítica pode ocorrer devido à lise direta dos glóbulos vermelhos pela replicação de parasitas intracelulares que causam uma combinação de hemólise intravascular e extravascular. Vários mecanismos estão envolvidos na destruição dos glóbulos vermelhos. Estes incluem a ligação de anticorpos à superfície celular e ativação do complemento, foi demonstrado que a formação de ligação de IgG (imunoglobulina G) e IgM (imunoglobulina M) à membrana do eritrócito por mecanismos imunes parece estar presente na maioria das infecções por *B. vogeli* (Carli et al., 2009), produção de fatores hemolíticos séricos, dano oxidativo dos eritrócitos e aumento da fagocitose dos glóbulos vermelhos, criação de esferócitos e diminuição da fragilidade osmótica dos glóbulos vermelhos (Solano; Baneth, 2011).

Anticorpos contra glóbulos vermelhos foram documentados em cães infectados com *B. gibsoni* (Adachi et al., 1994) e *B. vogeli*, mas não em *B. canis*. (Carli et al., 2009).

A trombocitopenia isolada é observada em muitos casos de babesiose e pode estar relacionada ao sequestro imunológico e esplênico ou ao consumo coagulatório de plaquetas por lesão hemolítica ou vascular (Wilkerson et al., 2001). No entanto, parâmetros de coagulação anormais não foram relatados com frequência em cães com babesiose (Taboada; Lobetti, 2006) .

A hipóxia tecidual é um importante contribuinte para muitos dos sinais clínicos causados pela maioria das *Babesia* spp. e estudado em profundidade na infecção por *B. rossi* (Jacobson, 2006). As causas de hipóxia incluem anemia, choque hipotensivo, estase vascular por sedimentação de eritrócitos, produção endógena excessiva de monóxido de carbono, danos parasitários à hemoglobina e diminuição da capacidade da hemoglobina de descarregar oxigênio de cães infectados com *Babesia* (Taboada; Lobetti, 2006). O sistema nervoso central, os rins e os músculos são os órgãos mais afetados pela hipóxia tecidual resultante. Acredita-se que a hipóxia seja mais importante do que a hemoglobinúria em danificar os rins de cães com babesiose (Ayoob et al., 2010).

As manifestações clínicas da infecção por outras grandes babesias são geralmente menos graves e geralmente variam de uma doença leve a moderada para *B. vogeli* e uma doença moderada para *B. canis* (Taboada; Lobetti, 2006).

O baço tem importante função no controle da babesiose. Cães esplenectomizados infectados experimentalmente desenvolvem rapidamente parasitemia e doença clínica e podem atingir altos níveis de parasitemia. A esplenectomia é um fator de risco importante para o desenvolvimento de babesiose natural e potencialmente fatal em humanos e também foi documentada como associada à babesiose canina natural clínica (Solano; Baneth, 2011).

## **2.7. SINTOMATOLOGIA E ACHADOS LABORATORIAIS**

A infecção por *Babesia* causa doença com manifestações clínicas que podem variar com as diferentes espécies e cepas envolvidas e sua virulência específica, e também com fatores que determinam a resposta do hospedeiro à infecção, como idade, estado imunológico individual e presença de infecções concomitantes ou outras doenças (Baneth, 2018b; Leisewitz et al., 2001; Lobetti, 1998).

A anemia hemolítica com destruição eritrocitária e uma resposta inflamatória sistêmica, que pode levar à disfunção orgânica, respondem pela maioria dos sinais clínicos observados na babesiose canina (Baneth, 2018b). Anemia hemolítica grave a fatal é possível em cães jovens e filhotes. A anemia imunomediada regenerativa hemolítica é um achado comum na infecção por *B. vogeli* (Solano; Baneth, 2011).

O quadro clínico apresentado pelos cães brasileiros com babesiose é variado (Dantas-Torres, 2008). O início da doença é frequentemente agudo, cães com babesiose podem apresentar prostração, febre, letargia, anorexia, esplenomegalia, icterícia, linfadenopatia, anemia, ceratite, convulsões, disfunção hepática, pulmonar, renal ou cerebral e anormalidades hemostáticas, incluindo coagulação e desequilíbrios eletrolíticos. Fora as infecções agudas, foram descritas infecções subclínicas e subagudas também (Baneth, 2018b; Lobetti, 1998; Uslu-Canbar, 2022).

A manifestação clínica da forma complicada é variável e decorrente da intensa crise hemolítica ocasionada pelo parasita e da liberação sistêmica de fatores inflamatórios (Brandão; Hagiwara, 2002). Neste caso, há envolvimento adicional de órgãos que resulta em anemia, coagulopatia, icterícia, insuficiência renal aguda, hepatopatia, síndrome da angústia respiratória aguda, sinais nervosos, lesões miocárdicas e choque (Lobetti, 1998).

Embora a hemorragia tenha sido previamente relatada como um sinal clínico de babesiose canina, a possibilidade de co-infecção com *Ehrlichia canis* deve ser considerada se a hemorragia estiver presente. Desidratação, perda de peso, dor abdominal e sensibilidade renal à palpação também podem ser observadas (Dantas-Torres, 2008).

No Brasil, a forma subclínica é provavelmente a apresentação predominante nos cães com babesiose (Vidotto; Trapp, 2004) e tem importância relevante na manutenção dessa enfermidade, já que esses animais se apresentam normais ao exame físico e à pesquisa direta do parasita em esfregaço sanguíneo (Maia, 2005).

Anemia e trombocitopenia são as anormalidades hematológicas primárias na babesiose canina (Abdullahi et al., 1990; Uslu; Canbar, 2022). Cães infectados por *B. canis* apresentaram anemia não-regenerativa, enquanto aqueles infectados por *B. vogeli* revelaram anemia regenerativa (Carli et al., 2009).

A trombocitopenia na doença tem sido descrita por diversos autores, embora sua causa ainda não esteja completamente elucidada (Brandão; Hagiwara, 2002; Dantas-Torres e Figueredo, 2006). Acredita-se que os mecanismos mais prováveis são a destruição mediada por anticorpos e o consumo acelerado em decorrência de vasculite endotelial ou sequestro esplênico (Brandão; Hagiwara, 2002).

Os testes bioquímicos são inespecíficos, podendo ser observadas azotemia e acidose metabólica geralmente causadas pela desidratação e/ou choque (Brandão e Hagiwara, 2002). Em um estudo a hipoalbuminemia foi observada em 31% dos casos de babesiose canina (Furlanello et al., 2005). As enzimas hepáticas podem estar aumentadas durante a doença complicada em consequência da hipóxia anêmica do órgão (Taboada; Merchant, 1997). Na urinálise, pode-se observar bilirrubinúria (Furlanello et al., 2005) e hemoglobinúria, acompanhada ou não de proteinúria, cilindrúria granular e presença de células do epitélio renal, indicativa de lesão renal aguda decorrente da hemoglobinúria ou hipoperfusão do órgão (Brandão; Hagiwara, 2002).

## **2.8. DIAGNÓSTICO**

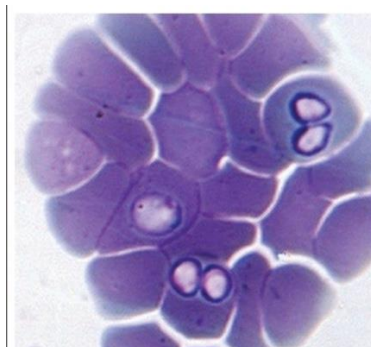
O diagnóstico da babesiose canina geralmente é baseado no exame físico, no histórico do paciente e nos exames laboratoriais.

### **2.8.1. Detecção de *Babesia* em esfregaços de sangue corados ou por citometria de fluxo**

A detecção de *Babesia* em esfregaços de sangue corados tem sido a técnica de diagnóstico padrão por muitos anos (Figura 3). Este método é confiável quando uma parasitemia moderada a alta está presente. No entanto, nem sempre é encontrada uma correlação direta entre o nível de parasitemia de *Babesia* e a magnitude dos sinais clínicos. O diagnóstico de cães cronicamente infectados e portadores permanece um desafio diagnóstico devido à parasitemia baixa e muitas vezes intermitente, que muitas vezes é difícil de observar apenas por avaliação microscópica. Portanto, o uso de ensaios de diagnóstico molecular é fortemente recomendado nesses casos. Esfregaços feitos de sangue capilar (da ponta da orelha ou da unha) podem ser benéficos, um esfregaço fresco é recomendado para o diagnóstico preciso da infecção. No entanto, a distinção entre espécies pequenas ou grandes de *Babesia* canina e felina com base apenas na morfologia não é possível e a análise molecular é necessária para a especificação. Técnicas automatizadas de citometria de fluxo têm sido empregadas para detectar *Babesia* em reticulócitos

E eritrócitos caninos maduros com sensibilidades semelhantes à avaliação microscópica (Solano; Baneth, 2011).

Figura 3 - Esfregaço sanguíneo mostrando o parasita *Babesia vogeli* dentro de uma hemácia



FONTE: PENZHORN, 2016

### 2.8.2. Reação em Cadeia de Polimerase (PCR)

A reação em cadeia da polimerase (PCR) é uma técnica diagnóstica sensível e específica, frequentemente empregada para o diagnóstico da babesiose. É particularmente útil para detecção de infecção em cães com baixos níveis de parasitemia e para especiação de parasitas. A sensibilidade deste teste diminui se já tiver entrado com o tratamento, principalmente se a amostra utilizada for sangue periférico. Um grande número de ensaios e protocolos de PCR usando uma variedade de alvos de genes foi descrito (Solano; Baneth, 2011).

O gene hsp70 é um alvo eficiente para a detecção de *B. vogeli*, ele é um marcador molecular capaz de classificar *Babesia* spp. que infectam cães com maior precisão quando comparados com o marcador de 18S rDNA (Paulino, 2018). O gene hsp70 também apresenta importância significativa em análises filogenéticas. Em comparação ao gene 18S rDNA, amplamente utilizado em estudos filogenéticos de *Babesia*, o hsp70 demonstra maior variabilidade nucleotídica. Essa característica confere maior poder discriminatório na diferenciação de espécies e linhagens genéticas de *Babesia*, permitindo uma classificação filogenética mais acurada (Yamasaki, 2007).

Estudos moleculares indicam que o gene hsp70 possui elevada sensibilidade e especificidade na detecção de *B. vogeli* em amostras clínicas. Em ensaios de PCR convencional (cPCR), primers específicos para o gene hsp70 apresentaram sensibilidade de

96,15% e especificidade de 99,63%, destacando-se como uma ferramenta robusta para o diagnóstico molécula (Paulino, 2018).

A PCR em tempo real (qPCR) é mais sensível do que a PCR convencional. Ela é menos propensa a contaminações do que a PCR convencional pois é realizado em um sistema fechado e não requer manipulação pós-PCR da amostra e, quando a contaminação está presente, ela pode ser facilmente detectada. Portanto, a PCR em tempo real tem se tornando rapidamente o método preferido para diagnóstico (Harrus; Waner, 2011; Heid et al., 1996)

### **2.8.3. Testes sorológicos**

A sorologia pode indicar uma infecção persistente passada ou presente. O teste de anticorpo fluorescente indireto (IFAT) é o teste mais comumente usado para babesiose canina; no entanto, ocorre reatividade cruzada entre diferentes espécies de *Babesia* e outros parasitas protozoários. Ensaios de imunoabsorção enzimática (ELISA) é um teste imunoenzimático que têm sido usado principalmente para pesquisas e levantamentos epidemiológicos. Resultados falso-negativos são possíveis em infecção superaguda ou aguda (Solano; Baneth, 2011).

Os resultados obtidos no estudo de Furuta et al. (2009) sugerem que o ELISA tem maior sensibilidade do que o IFAT. .

## **2.9. TRATAMENTO**

O diacetato de diminazeno e o dipropionato de imidocarbe são as drogas de escolha para o tratamento da babesiose canina no Brasil (Dantas-Torres, 2008).

O modo de ação exato dos babesicidas atuais é incerto, tem sido afirmado que a droga tem diferentes mecanismos de ação (Dantas-Torres, 2008). Os mecanismos de ação dessas drogas contra *Babesia* são amplamente desconhecidos ou não estudados em detalhes e a explicação para o valor agregado de algumas combinações de drogas, embora evidente em ensaios clínicos, não é bem compreendida. Além disso, *Babesia* spp. que infectam cães têm suscetibilidades diferentes às drogas e respondem diferentemente às drogas (Baneth, 2018b).

Formas grandes de *Babesia* são comumente tratadas com dipropionato de imidocarbe com boa resposta clínica, enquanto formas pequenas de *Babesia* parecem ser mais difíceis de tratar e resistentes a as drogas convencionais que são eficazes contra as formas grandes de *Babesia* (Solano; Baneth, 2011).

### 2.9.1. Dipropionato de imidocarb

O dipropionato de imidocarbe é excretado pelos rins e fígado e eliminado na urina e nas fezes. O dipropionato de imidocarb é aprovado pela Food and Drug

Administration (FDA) nos Estados Unidos da América (EUA) para o tratamento de infecções por *B. canis* em cães, mas também é eficaz no tratamento de outras grandes infecções por *Babesia* spp. (Baneth, 2018b). A dose rotulada aprovada pela FDA de dipropionato de imidocarb (Imizol<sup>®</sup>, Izoot<sup>®</sup>, Carbesia<sup>®</sup>) é de 6,6 mg/kg por via intramuscular (IM) ou subcutânea (SC) com uma dose repetida em 2 semanas. O dipropionato de imidocarb não deve ser administrado por via intravenosa (IV) em cães. (Baneth, 2018b; Dantas-Torres, 2008; Uslu; Canbar, 2022).

O dipropionato de imidocarb é uma diamidina aromática derivada da carbanilida (Uslu; Canbar, 2022). O imidocarbe interfere na produção e/ou utilização de poliaminas por parasitas como encontrado para *Trypanosoma brucei*, ou no bloqueio da entrada de inositol nos eritrócitos infectados, resultando na inanição do parasita ou combinação com DNA em espécies babesiais suscetíveis, causando dano ao ácido nucléico e inibição do reparo e replicação celular alterando a forma do núcleo e a morfologia do citoplasma, induzindo a interrupção da multiplicação do parasito (Baneth, 2018b).

Um estudo da farmacocinética do imidocarb mostrou que a meia-vida plasmática foi de 207 minutos e 80% foi eliminado em 8 horas em cães que receberam um bolus intravenoso. Parece ser eliminado através da urina e das fezes. As maiores concentrações de resíduos foram encontradas no fígado e nos rins. Casos suspeitos de babesiose canina com história de exposição recente a carrapatos devem ser tratados, mesmo na ausência de confirmação parasitológica (Dantas-Torres, 2008).

Afirma-se que o imidocarbe, a terapia com fluidos e eletrólitos e a transfusão de sangue podem ser as opções de tratamento mais bem-sucedidas em cães com babesiose. Foi relatado que em cães infectados experimentalmente com *Babesia canis*, os pacientes se recuperaram completamente com a aplicação de imidocarb, os parasitas foram erradicados, mas o nível de anticorpos foi baixo no grupo de tratamento e os pacientes podem ser susceptíveis à reinfecção (Uslu; Canbar, 2022). Dependendo da gravidade da doença, pode ser necessária terapia de suporte, como fluidos intravenosos e transfusão de sangue. A decisão de transfundir deve sempre ser baseada em sinais clínicos e exames hematológicos. A presença de sinais clínicos como taquicardia, taquipnéia, pulso fraco, fraqueza e colapso podem indicar a necessidade de transfusão sanguínea. A transfusão também deve ser considerada se o hematócrito for menos do que

15% e sempre ser realizada quando for menor do que 10%. Em certos casos, o uso de prednisolona na dose de 1–2 mg/kg/dia por até 1 semana pode beneficiar a inibição de fenômenos imunopatológicos indutores ou acentuadores de glomerulonefrite (Danta-Torres, 2008).

Em alguns casos, foi relatado que mais de um fator diferente pode causar a infecção, podendo ocorrer co-infecção com sintomatologia semelhante tal como diarreia, polidipsia, mucosas anêmicas, aumento da frequência respiratória e cardíaca, anemia, trombocitopenia, hiperbilirrubinemia. Observou-se que nestes casos de co-infecção houve melhora após administração de doxiciclina: 10 mg/kg, VO (via oral) , BID (*bis in die*), 4 semanas, e imidocarb: 6,6 mg/kg, IM (intramuscular), 2 vezes com intervalo de 2 semanas no tratamento (Uslu; Canbar, 2022).

Os efeitos indesejáveis do imidocarb incluem injeção dolorosa e efeitos colinérgicos como tremores, vômitos, cólicas, diarreia e ptialismo. Há relatos de efeitos indesejáveis como depressão, ataxia e convulsão. A administração de atropina na dose de 0,04 mg/kg, 10 min antes da aplicação do imidocarb pode prevenir efeitos colinérgicos adversos (Baneth, 2018b; Dantas-Torres, 2008; Uslu; Canbar, 2022; Baneth, 2018b).

Efeitos colaterais menos comuns podem incluir dificuldade para respirar, inquietação, diarreia, necrose renal tubular/hepática e inflamação e úlceras no local da injeção que geralmente cicatriza em dias ou semanas (Baneth, 2018b). Foi afirmado que deve ser usado com cautela em cães com nefropatia (Uslu; Canbar, 2022).

Estudos experimentais observaram que o imidocarb quando administrado na dose de 5,5 mg/kg (IM) a cães saudáveis não teve efeito significativo no hemograma e nas enzimas hepáticas, mas quando administrado por via intravenosa na dose de 4 mg/kg , o cão veio a óbito, observando-se congestão e edema nos pulmões, aumento e sangramento nos rins na autópsia. Foi relatado que depressão severa, taquicardia, cianose, tremor dos membros posteriores, colapso, necrose hepática difusa e morte foram observados no cão um dia após a administração acidental de 10 vezes a dose recomendada (Uslu; Canbar, 2022).

### **2.9.2. Aceturato de diminazeno**

Aceturato de diminazeno é uma diamidina aromática, como o dipropionato de imidocarb. Seu mecanismo de ação contra a *Babesia* não é bem compreendido e

sugere-se que interrompa a síntese de DNA do parasita e a glicólise aeróbica, conforme relatado para *Trypanosoma* e *Leishmania* spp. Aceturato de diminazeno (Babecid<sup>®</sup>, Ganaseg<sup>®</sup>) não foi aprovado pela FDA para tratamento de babesiose canina nos EUA; no entanto, é amplamente utilizado em alguns outros países, incluindo a África do Sul, onde é o principal medicamento usado contra a babesiose canina causada por *Babesia rossi* (Baneth, 2018b)

A dosagem para babesiose canina é de 3,5 mg/kg IM uma vez. A eficácia do tratamento é variável e a droga tende a ser mais efetiva contra formas grandes de *Babesia* spp.; entretanto, apresenta efeitos adversos tóxicos com sinais neurológicos graves que podem ser imprevisíveis mesmo em doses terapêuticas, e seu índice de segurança é considerado baixo com doses acima de 10 mg/kg IM ou doses menores repetidas em curto prazo causando efeito cumulativo e toxicidade grave a fatal. O diminazeno é excretado pelos rins e fígado e eliminado na urina e nas fezes. Os efeitos adversos do aceturato de diminazeno em cães administrados em doses terapêuticas incluem distúrbios gastrointestinais, como vômitos e diarreia, dor e inflamação no local da injeção, queda transitória da pressão arterial e, mais raramente, sinais neurológicos, incluindo ataxia, convulsões e morte (Baneth,2018b).

Aceturato de diminazeno usado para o tratamento de ambas *Babesia* , tanto para infecções por grande como pequena *Babesia* tem uma margem de segurança de dose relativamente pequena com uma grande variação farmacocinética interindividual e, se selecionada para tratamento, deve ser usado com cautela (Solano; Baneth, 2011).

## 2.10. PREVENÇÃO

A prevenção da babesiose depende principalmente de tratamentos acaricidas tópicos e ambientais com o objetivo de reduzir a exposição a carrapatos vetores e a transmissão de patógenos ao cão ou gato. Coleiras, formulações pontuais e sprays são os meios mais populares e eficazes de controlar infestações de carrapatos em animais individuais e uma variedade de produtos que incluem permetrina, amitraz, fipronil, imidacloprida e outros produtos químicos para proteção de animais individuais estão disponíveis em empresas comerciais (Berrada e Telford, 2009; Brianti et al., 2010; Last et al., 2007; Otranto et al., 2010).

Vários estudos demonstraram que o tratamento de cães com acaricidas pode reduzir o risco de transmissão de *Babesia* por carrapatos infectados (Jongejan et al., 2015) tais como fluralaner (Taenzler et al., 2016), lotilaner (Cavalleri et al., 2017), afoxolaner

(Beugnet, Lebon; Vos, 2019). Esses ectoparasiticidas repelem os carrapatos e impedem a fixação ou matam os carrapatos dentro de 24 a 48 horas após a aplicação (Solano; Baneth, 2011). A transmissão do patógeno depende da duração da fixação necessária para que os carrapatos o transmitam, para *Babesia* requer vários dias (36 a 72 h) para que seus esporoblastos amadureçam em esporozoítos infecciosos dentro das glândulas salivares do carrapato antes de poderem ser transmitidos (Piesman; Spielman, 1980).

Estratégias adicionais para reduzir as infestações de carrapatos incluem a restrição do acesso a áreas infestadas por carrapatos e o uso de acaricidas no ambiente. A diminuição da carga de carrapatos no ambiente pode ser alcançada usando formulações acaricidas convencionais e de liberação lenta aplicadas por spray ou pó (Labruna; Pereira, 2011).

Tratamentos periódicos com dipropionato de imidocarb não são recomendados atualmente para a profilaxia de rotina da babesiose canina (Vercammen; De Deken; Maes, 1996).

Como as espécies de *Babesia* são transmitidas por transfusões de produtos sanguíneos, é altamente recomendável rastrear regularmente doadores de sangue canino para infecção por *Babesia*. A transmissão não vetorial de *Babesia* por transfusões de sangue é evitável e deve ser uma preocupação especial, pois pode ser responsável pela incursão da babesiose em áreas anteriormente não endêmicas (Zygner et al., 2023).

As brigas entre cães não são consideradas um fator de risco para a infecção por *Babesia vogeli*, e sim para *Babesia gibsoni*. As infecções causadas por *Babesia* spp. também podem ser transmitidas verticalmente (da mãe para a prole) (Baneth, 2018a; Solano-Gallego, 2016).

Vacinas contra *B. canis* e *B. rossi* estão disponíveis comercialmente em alguns países da Europa, estas vacinas induzem proteção parcial contra a doença causada por *B. canis*, manifestada pela diminuição da gravidade dos sinais clínicos, parasitemia ou duração da doença clínica induzida pelo desafio da infecção (Solano e Baneth, 2011).

### **3. Ehrlichia canis**

#### **3.1. TAXONOMIA**

O primeiro relato de erliquiose é datado de 1935, no Instituto Pasteur na Argélia por Donatien e Lestoquard. Eles observaram no esfregaço sanguíneo de cães, febris e anêmicos, infestados por *Rhipicephalus linnaei*, a presença de pequenos organismos

semelhantes à rickettsia no interior de monócitos, nomeando-os *Rickettsia canis*. Posteriormente, no ano de 1945, Moshkovshi renomeou para *Ehrlichia canis*, em homenagem ao famoso bacteriologista alemão, Paul Ehrlich. No entanto, na Guerra do Vietnã ganhou mais destaque por induzir a morte em cães militares americanos (Mc Dade, 1990). Ela foi reconhecida pela primeira vez nos Estados Unidos em 1962 (Little, 2010). No Brasil, a primeira descrição da doença causada por *E.canis* foi feita em Belo Horizonte, Estado de Minas Gerais por Costa et al. (1973). E foi realizado seu sequenciamento genético pela primeira vez em 2002, no Rio de Janeiro (Aguiar, 2023).

A erliquiose em cães pode ser causada por *Ehrlichia canis*, *Ehrlichia chaffeensis*, *Ehrlichia ewingii*. *E. canis* é o agente da erliquiose descrito pela primeira vez em cães e continua a ser um importante patógeno de cães em todo o mundo, responsável por doenças graves e com risco de morte. *E. chaffeensis* é mais conhecido como o agente da erliquiose monocitotrófica humana (EMH) no sul dos Estados Unidos, mas também infecta cães. Infecções experimentais sugerem que *E. chaffeensis* produz doença relativamente leve em cães. No entanto, quando a co-infecção com outros agentes erliquiais está presente, os cães podem ser mais severamente afetados. *E. ewingii*, descrito pela primeira vez em um cão com doença febril em 1971, desde então demonstrou infectar e causar doenças em cães e pessoas (Little, 2010).

Em 2001, a taxonomia do grupo das erliquias foi modificada e as espécies de *Ehrlichia* são classificadas como pertencentes à ordem Rickettsiales, família Anaplasmataceae (Dumler et al., 2001)

### 3.2. EPIDEMIOLOGIA

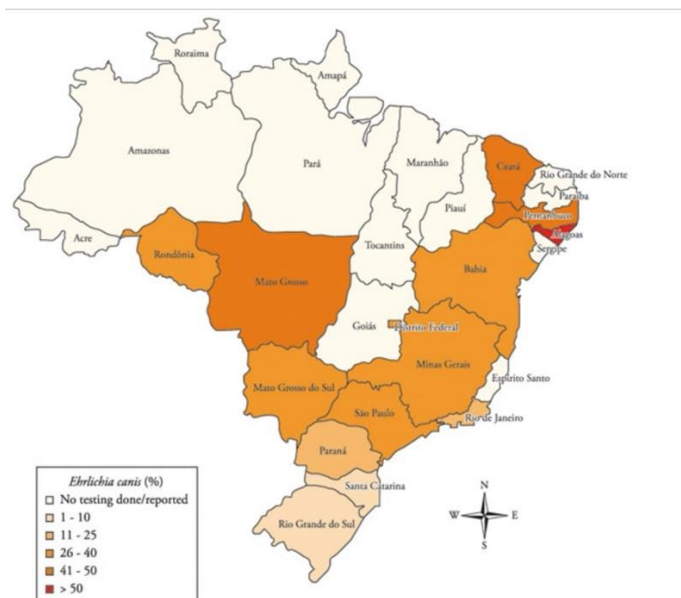
A erliquiose monocítica canina como a babesiose canina têm distribuição mundial, sendo mais prevalentes nas regiões tropicais (Trapp et al, 2006). A doença é endêmica em todos os continentes, exceto na Austrália (Sykes, 2014).

Na América Latina de acordo com estudo molecular realizado por Moraes-Filho (2011, 2015) comprovou que no cone sul da América do Sul (Chile, Uruguai, Argentina e sul do Brasil no estado do Rio Grande do Sul) uma região de clima temperado se tem a quase ausência de *E. canis*, isso se dá pela incompetência vetorial do grupo *R. sanguineus* sensu lato, já o grupo de *R. linnaei* que ocorre do México ao Brasil (exceto no extremo sul do Brasil, que inclui o estado do Rio Grande do Sul) tem alta competência vetorial com grande incidência de *E. canis*, amplamente confirmada por métodos moleculares.

No Brasil (figura 4) o diagnóstico da doença é mais frequente nos cães da região Sudeste-Centro-Oeste e Nordeste, e esporádica na região Sul. O clima brasileiro é ideal

para a manutenção dos carrapatos. Além disso, a população de cães errantes é grande, contribuindo para a disseminação da enfermidade (Aguiar, 2023).

Figura 4 – Mapa de incidência da erliquiose no Brasil



FONTE: Vieira et al., 2011

### 3.3. MORFOLOGIA

Os membros do gênero *Ehrlichia* são pequenos organismos cocóides ou elipsoidais, frequentemente pleomórficos, gram-negativos, que parasitam principalmente monócitos, macrófagos e neutrófilos de hospedeiros mamíferos (Isola; Cadioli; Nakage, 2010).

Nyindo et al. (1971) observaram que *E. canis* apresenta três estádios de desenvolvimento: corpúsculos elementares, corpúsculos iniciais e mórulas. Os corpúsculos elementares, formas individuais de *Ehrlichia*, entram nos monócitos por fagocitose. Medem cerca de 0,5  $\mu\text{m}$  de diâmetro, tornando difícil a visualização à microscopia óptica. Crescem e se dividem dentro do fagossomo por 4 fissão binária, entretanto não há fusão fago lisossomal nas células hospedeiras infectadas. Em três a cinco dias após a infecção é observado um pequeno número de estruturas compactas, medindo de 1,0 a 2,5  $\mu\text{m}$  de diâmetro, chamados de corpúsculos iniciais. Durante os próximos nove a doze dias ocorrem crescimento e replicação, originando as mórulas. As células infectadas geralmente contêm muitas mórulas, que se rompem liberando os corpúsculos elementares que irão infectar novas células, repetindo o ciclo (McDADE, 1990).

### 3.4. TRANSMISSÃO

Os cães servem como hospedeiro para *E. canis* e também como hospedeiro de manutenção para o carrapato vetor primário, *Rhipicephalus linnaei* (Figura 1). Os estágios imaturos de *R. linnaei* são infectados quando se alimentam de um cão com bacteremia e então mantêm essa infecção transestadialmente, permitindo que a transmissão ocorra quando o carrapato se alimenta novamente como ninfa ou adulto (Groves; Dennis; Amyx, 1975). *R. linnaei* adultos são capazes de perpetuar *E. canis* transestadialmente, uma rota que pode ser importante em situações de surto, já que os carrapatos machos demonstraram se mover prontamente entre os cães enquanto eles se alimentam e acasalam intermitentemente (Bremer et al., 2005). O ciclo de manutenção de *E. canis* é particularmente pernicioso porque as populações de *R. linnaei* podem se estabelecer e sobreviver dentro de casas e canis, fornecendo uma fonte quase constante de infecção para cães em um ambiente infestado (Bremer et al., 2005; Little, 2010).

A infecção com *Ehrlichia* spp. também pode ocorrer após a subinoculação sanguínea. Os organismos sobrevivem e permanecem infecciosos em sangue total preservado e refrigerado, sugerindo que tanto a exposição a agulhas contaminadas quanto as transfusões de sangue são rotas de infecção viáveis, embora incomuns (McQuiston et al., 2000).

Os carrapatos vetores de *Ehrlichia* spp. são mais ativos nos meses de primavera e verão, os cães são mais propensos a serem infectados durante esses períodos (Dryden; Payne, 2004).

### 3.5. CICLO DE VIDA

O ciclo de vida da *E. canis* inicia-se quando essa bactéria é inoculada no hospedeiro pela picada do carrapato *Rhipicephalus linnaei*. Em estudo do ciclo de vida da *Ehrlichia chaffeensis*, a microscopia eletrônica mostrou que *Ehrlichia* possui duas formas: células densamente coradas (DC – *dense-cored*) e as células reticuladas (RC – *reticulate-cells*) que residem dentro das mórulas nas células dos hospedeiros mamíferos. Durante o período de incubação do parasita, que pode durar de 8 a 20 dias, a bactéria se adere à parede e é fagocitada pelas células do hospedeiro, sob a forma de células densamente coradas. Rapidamente, essas DC transformam-se em células reticuladas, que se multiplicam por fissão binária, durante aproximadamente 48 horas. Novamente tornam-se células densamente coradas em 72 horas após infecção para serem liberadas e, então, fagocitadas por outras células (Zhang et al., 2008).

Nos carrapatos infectados, *E. canis* multiplica-se nos hemócitos e células da glândula salivar, eventualmente entram no trato digestivo e se desenvolvem no epitélio do intestino médio. Os carrapatos perpetuam a doença transestadialmente, mas não por via transovariana. A forma adulta infectada com *E. canis* pode continuar transmitindo o patógeno por até 155 dias após ter abandonado o cão. No momento do repasto sangüíneo, o carrapato inocula secreção da glândula salivar com *E. canis* (Rikihisa, 1991).

### 3.6. PATOGÊNESE

A variedade de *Ehrlichia* spp. que infecta cães, juntamente com variações documentadas na patogenicidade de diferentes cepas de *E. canis*, resulta em um amplo espectro de doenças que variam de clinicamente inaparentes a graves, e que são ainda agravadas por variações em cães e/ou cães individuais, ou respostas imunes específicas da raça, diferenças na dose do patógeno transmitido durante a alimentação do carrapato, presença de agentes coinfectantes e a saúde geral do cão antes da infecção. Em áreas onde as populações de carrapatos vetores são altas e ativas durante grande parte do ano, uma porcentagem razoavelmente alta de cães pode ter anticorpos para *Ehrlichia* spp. (Aguiar, 2023; Little, 2010).

O carrapato se infecta pela ingestão de leucócitos circulantes parasitados em um cão infectado. As larvas do *R. linnaei* não transmitem a doença, pois a perpetuação é transestadial, ou seja, somente as fases ninfa e adultas que são capazes de transmitir o agente (Aguiar, 2023).

Cepas de *E. canis* variam em patogenicidade, portanto muitos cães soropositivos podem não ter evidência de doença clínica. No entanto, quando a doença clínica se desenvolve, podem ocorrer morbidade e mortalidade graves (Little, 2010).

No cenário experimental, após um período de incubação de 8 a 20 dias após a transfusão de sangue ou fixação do carrapato, o curso da infecção por *E. canis* pode ser dividido sequencialmente em agudo (duração de 2 a 4 semanas), subclínico (meses a anos) e crônico. Portanto a distinção entre estas fases não é simples identificar em cães com doença de ocorrência natural (Harrus et al., 2012).

Uma proporção imprevisível de cães infectados por *E. canis* progredirá para a fase de doença crônica, caracterizada por apresentações clínicas variáveis, das quais um subgrupo apresenta aplasia grave da medula óssea, pancitopenia profunda no sangue periférico e alta mortalidade devido à septicemia e/ou sangramento grave (Mylonakis et al., 2011). Ocasionalmente, a mielossupressão pode desenvolver-se sem quaisquer sinais premonitórios indicativos das fases aguda e subclínica da EMC (Erlíquiose Monocítica

Canina) (Mylonakis et al., 2004). Portanto, os termos EMC “não mielossupressora” e “mielossupressora” podem refletir melhor a gravidade da doença num contexto clínico, independentemente do início da doença ou da fase presumida da EMC ( Girardi, 2017; Shipov, 2008).

Cães expostos a carrapatos podem adquirir infecções adicionais ao longo do tempo; identificar e tratar essas infecções no início do processo pode prevenir o desenvolvimento da doença clínica. A atual declaração de consenso do Colégio Americano de Medicina Interna Veterinária não faz uma recomendação específica a favor ou contra a triagem de rotina. As vantagens da triagem incluem a capacidade de identificar e tratar cães infectados, reduzindo o desenvolvimento de doenças crônicas e o status de reservatório dentro de um canil ou população . As desvantagens de testar cães saudáveis para anticorpos desses agentes são que os cães positivos podem ser tratados desnecessariamente; o tratamento pode não prevenir o desenvolvimento de infecção crônica em alguns cães e, como acontece com qualquer antibiótico, tratamento pode ter efeitos adversos. Quando anticorpos para *Ehrlichia* spp. são identificados em um cão aparentemente saudável, exames de sangue, incluindo um sangue completo com contagem de plaquetas deve ser realizada para avaliar a presença de doença subclínica que pode indicar a necessidade de tratamento (Little, 2010)

### **3.7. SINTOMATOLOGIA E ACHADOS LABORATORIAIS**

A doença clínica pode não se desenvolver até que um cão tenha sido infectado por vários meses ou anos e os carrapatos que transmitiram a infecção tenham se destacado há muito tempo. Nem a época do ano nem a ausência de carrapatos na apresentação devem eliminar a suspeita de erliquiose canina em um paciente individual (Little, 2010).

Cães com erliquiose devido à infecção por *E. canis* podem desenvolver uma doença febril aguda ou crônica caracterizada por letargia, anorexia, mialgia, esplenomegalia, linfadenopatia e diáteses hemorrágicas. A doença aguda geralmente se desenvolve dentro de 2 a 4 semanas após a transmissão do carrapato; a doença pode ser mais grave com certas cepas de *E. canis* e parece ser exacerbada quando ocorrem coinfeções com outros patógenos rickettsiais ou protozoários transmitidos por carrapatos. Apesar da natureza severa de alguns casos de infecção aguda por *E. canis*, incluindo fatalidades, muitos cães parecem tolerar a infecção sem desenvolver doença clínica evidente. Esses cães podem entrar em uma fase subclínica de infecção na qual permanecem infectados cronicamente por meses a anos, mas sem evidência evidente de doença; esses cães geralmente apresentam trombocitopenia leve, mas nenhuma outra evidência de patologia (Mylonakis et al, 2019).

Febre, depressão ou letargia, anorexia, linfadenomegalia generalizada, esplenomegalia, palidez da mucosa, tendência a sangramento e anormalidades oculares (por exemplo, uveíte anterior ou posterior) são manifestações clínicas típicas na EMC de ocorrência natural. Cães com doença aguda têm maior probabilidade de estar infestados de carrapatos (Mylonakis et al, 2019).

Para alguns cães, no entanto, uma forma grave e potencialmente fatal de erliquiose crônica pode se desenvolver meses a anos após a infecção inicial por *E. canis*, na qual febre, anorexia e perda de peso são acompanhadas por mialgia, tendências hemorrágicas e anormalidades neurológicas também são descritas, como ataxia, inclinação da cabeça, nistagmo e convulsões, mas estão presentes em uma minoria de cães com erliquiose e foram relatados com mais frequência na doença crônica (Little, 2010; Mylonakis et al, 2019)

A claudicação pode ser observada em cães infectados apenas com *E. canis*, mas acredita-se que seja causada por uma relutância em se mover devido a mialgia ao invés de artralgia. Estomatite ulcerativa e glossite necrótica, edema de membros posteriores e/ou escrotal também foram relatados (Little, 2010; Mylonakis et al, 2019).

A diátese hemorrágica pode ocorrer nas fases aguda e crônica da EMC, mas é mais comum e grave na fase crônica e se manifesta como petéquias e equimoses cutâneas e mucosas, epistaxe, hematúria, melena e sangramento prolongado nos locais de punção venosa (Figura 5) (Little 2010; Mylonakis et al, 2019).

Na fase subclínica do EMC, as manifestações clínicas e/ou alterações hematológicas podem estar ausentes ou ser leves (por exemplo, esplenomegalia, febre intermitente, trombocitopenia, anemia) (Little, 2010).

Embora os cães da raça pastor alemão pareçam ser particularmente suscetíveis ao desenvolvimento de doenças causadas pela infecção por *E. canis*, doenças graves podem ser observadas em qualquer cão infectado por uma cepa moderada ou altamente patogênica (Harrus; Waner, 2011).

Figura 5 - Cão com epistaxe grave devido a infecção por *Ehrlichia canis*.



Fonte: Little, 2010

Embora uma gamopatia policlonal ou monoclonal possa se desenvolver, altos títulos de anticorpos não protegem contra infecções futuras ou eliminam infecções existentes. Em vez disso, parte da patologia observada na erliquiose parece ser mediada por imunocomplexos, e cães com gamopatia monoclonal podem desenvolver sequelas como glomerulopatia ou hemorragia sub-retiniana (Harrus et al., 1998b).

Um hemograma completo é um constituinte essencial no diagnóstico de EMC. Durante o estágio agudo, trombocitopenia moderada a grave é um achado hematológico comum. A avaliação do esfregaço sanguíneo dos números de plaquetas é obrigatória para confirmar a presença de uma trombocitopenia verdadeira em vez de pseudotrombocitopenia *in vitro*. Trombocitopenia significativa se desenvolve em cães infectados experimentalmente em aproximadamente 10 dias, atingindo um nadir na terceira semana pós-infecção, com contagens de plaquetas variando de 20.000 a 52.000/IL (Harrus; Waner, 2011).

Durante a fase subclínica, uma trombocitopenia leve pode estar presente na ausência de achados clínicos. Em cães infectados experimentalmente, contagens de plaquetas reduzidas em até 42% foram observadas com contagens tão baixas quanto 140.000/IL (Harrus et al., 1998a; Harrus; Waner; Neer, 2015). Na fase crônica, a trombocitopenia é geralmente grave e acompanhada por anemia e leucopenia acentuadas. Pancitopenia acentuada devido à hipoplasia da medula óssea é uma característica da forma crônica grave (Harrus et al., 1997).

A diminuição da função plaquetária contribui para as diáteses hemorrágicas observadas em cães com erliquiose aguda e crônica. A diminuição da produção de plaquetas da medula óssea hipoplásica, juntamente com o sequestro, aumento do consumo e secreção do fator de inibição da migração de plaquetas pelos linfócitos expostos a células infectadas por *Ehrlichia*, contribuem para a trombocitopenia e o sangramento clínico (Harrus; Waner; Neer, 2015; Queiroz et al, 2022).

### 3.8. DIAGNÓSTICO

A erliquiose canina é uma doença de diagnóstico difícil, por possuir várias características atípicas, as quais vêm sendo notadas em cães afetados espontaneamente, o que dificulta consideravelmente o diagnóstico clínico. O diagnóstico da erliquiose canina pode ser realizado através da presença de mórulas nos leucócitos parasitados encontrados no exame direto de esfregaços sanguíneos (Moreira et al., 2005; Nakaghi et al., 2008), por testes de biologia molecular como a reação em cadeia da polimerase (PCR) e ainda outros testes como os de sorologia (Nakaghi et al., 2008).

O diagnóstico de erliquiose geralmente começa com a avaliação clínica de um paciente febril e prostrado. Uma história de exposição a carrapatos e hemograma completo revelando trombocitopenia aumentam ainda mais o índice de suspeita. (Little, 2010).

Em se tratando da eficácia e da confiabilidade dos diferentes métodos diagnósticos disponíveis, sabe-se que a sorologia e a PCR são os testes mais adequados para confirmar o diagnóstico da erliquiose canina, porém devem ser sempre tratados como um dado complementar à avaliação clínica e hematológica. Para a melhor interpretação dos resultados laboratoriais, é importante considerar o estágio da infecção e as limitações desses testes. Na fase aguda, a PCR pode detectar o DNA de *E. canis* mais cedo do que os testes sorológicos são capazes de determinar a presença de anticorpos anti- *E. canis*. Além disso, a reação cruzada de DNA é incomum na PCR, enquanto falsos positivos podem ocorrer na sorologia, devido à reação cruzada com outras espécies erliquiais ou a títulos de anticorpos persistentes pós-tratamento. Sorologias positivas e PCR negativas sugerem que a sorologia é o teste mais adequado para o diagnóstico da infecção natural por *E. canis* em cães, especialmente na fase crônica, quando *E. canis* é raro no sangue circulante (Nakaghi et al., 2008).

### 3.8.1. Exame direto de esfregaço sangüíneo

A identificação de mórulas dentro de células infectadas em esfregaços de sangue corados permite a confirmação direta e imediata do diagnóstico de erliquiose (Figura 6) (Harrus; Waner, 2011).

*E. canis* podem ser detectada por um curto período em monócitos, mas não pode ser encontrado durante os estágios subclínicos e crônicos da infecção. Mesmo assim, a busca por mórulas em monócitos circulantes ainda é o método diagnóstico de rotina para erliquiose, na maioria dos casos não é recompensador (Moreira et al., 2005), infelizmente, além de ser difícil e demorada, estima-se que se tenha sucesso em apenas cerca de 4% dos casos (Harrus; Waner, 2011).

O exame de um número maior de células em esfregaços de camada leucocitária ou preparações de aspirados de medula óssea pode aumentar a probabilidade de identificação de mórulas desses agentes, mas cães cronicamente infectados raramente possuem bacteremia a um nível detectável microscopicamente (Little, 2010).

Figura 6 - Inclusão leucocitária de *Ehrlichia canis* em sangue periférico da paciente. Seta indica a estrutura em divisão (mórula)



FONTE: Marcili et al, 2022

### 3.8.2. Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)

Se os pacientes estiverem em bacteremia no momento da coleta da amostra, a identificação da infecção por *Ehrlichia* spp. pode ser prontamente obtida por meio de ensaios baseados em PCR em laboratórios de referência. Um resultado de PCR positivo confirmado em um ensaio validado é considerado evidência de infecção, embora as técnicas usadas variem entre os diferentes laboratórios de diagnóstico (Little, 2010).

Os ensaios de PCR melhoraram muito a capacidade de identificar infecções por *Ehrlichia* spp. Os resultados negativos de um teste de PCR são mais difíceis de interpretar e não devem ser usados para descartar a presença de infecção. Resultados negativos podem ocorrer quando os organismos em circulação estão abaixo do nível de detecção, como pode acontecer quando as infecções progridem ou após o início do tratamento com antibióticos. Amostras de sangue a serem submetidas à PCR para *Ehrlichia* spp., idealmente, devem ser coletadas antes da administração de antibióticos e enviadas a laboratórios de diagnóstico com rigoroso controle de qualidade (Little, 2010).

A detecção do DNA de *E. canis* pode ser obtida tão cedo quanto 4–10 dias após a inoculação (Iqbal et al., 1994). Vários ensaios são baseados em diferentes genes alvo, no entanto, os ensaios de PCR baseados em 16S rRNA e p30 são os mais comumente usados (Harrus; Waner, 2011) além do gene DSB amplamente utilizado atualmente (Doyle et al., 2005).

Durante a fase subclínica da EMC, cães imunocompetentes podem eliminar a infecção ou, alternativamente, diminuir a bacteremia e a carga bacteriana tecidual para níveis não passíveis de detecção molecular pela amplificação da PCR (Mylonakis et al, 2019).

A PCR realizada em amostras de baço é considerada mais sensível para a avaliação de *Ehrlichia* spp. quando comparada a amostras de sangue e medula óssea (Harrus et al., 2004)

### 3.8.3. Testes sorológicos

Vários métodos sorológicos foram desenvolvidos para o diagnóstico de EMC e são considerados ferramentas valiosas de triagem e/ou diagnóstico (Harrus; Waner, 2011). Dentre os testes sorológicos disponíveis, os mais utilizados para diagnóstico de hemoparasitoses são o ELISA e RIFI (Reação de imunofluorescência indireta), ambos de grande importância clínica, principalmente durante as fases subclínica e crônica da doença, já que a baixa parasitemia dificulta a detecção do agente no exame direto. Estes testes detectam anticorpos precoces em até sete dias após infecção, no entanto, a maioria dos animais é soropositiva apenas após vinte e oito dias de infecção (Silva et al, 2023).

São considerados um dos pilares do diagnóstico de erliquiose, os ensaios sorológicos permanecem úteis para avaliar os pacientes quanto à evidência de infecção com esses agentes (Little, 2010).

Os ensaios de RIFI para anticorpos IgG anti-*E. canis* estão amplamente disponíveis em laboratórios de diagnóstico, ele é considerado o ‘padrão ouro’ sorológico, indicando exposição a *E. canis*. IgM não é considerado um indicador confiável de exposição a *E. canis* devido ao desenvolvimento inconsistente de anticorpos IgM no curso da doença (Harrus; Waner, 2011).

O ELISA, é uma sorologia de caráter qualitativa, que é muito utilizada na rotina clínica devido a sua rápida e fácil realização, apesar de serem bastante úteis, o baixo número de anticorpos no início da infecção torna-se um fator desafiador, evidenciando que um resultado negativo neste teste não descarta a possibilidade de um animal estar infectado (Silva et al, 2023).

Existem no mercado, diversos “kits” sorológicos utilizados na detecção da erliquiose canina, que é capaz de determinar anticorpos da classe IgG específicos para o agente infectante (Isola; Cadioli; Nakage, 2010).

De acordo com resultados encontrados por Nakaghi et al. (2008) é reforçada a possibilidade do uso de testes sorológicos como auxiliares no diagnóstico da erliquiose canina, desde que aliados ao histórico e ao exame clínico do cão.

Os títulos de IgG > 1:40 são considerados positivos para exposição a *E. canis*. Para infecções agudas, dois testes consecutivos, com intervalo de 7 a 14 dias, são recomendados, e um aumento de 4 vezes nos títulos de anticorpos é sugestivo de

uma infecção ativa. Os anticorpos IgG anti-erliquial persistem por vários meses a anos após o tratamento e eliminação da bactéria (Harrus; Waner, 2011)

Independentemente do ensaio utilizado, a doença clínica pode se desenvolver antes da soroconversão. Conseqüentemente, um teste de anticorpos negativo não deve ser usado para eliminar o diagnóstico de erliquiose em um paciente com doença aguda. Por outro lado, cães saudáveis podem ter anticorpos detectáveis sem nenhum efeito adverso aparente. Além disso, alguns cães toleram a infecção sem desenvolver doença clínica evidente, e os títulos de anticorpos podem persistir por meses a anos mesmo após tratamento e resolução dos sinais clínicos. A presença prolongada de anticorpos é particularmente comum em cães com *E. canis*, presumivelmente devido a infecção persistente ou reinfecção. Como muitos cães com anticorpos para *Ehrlichia spp.* são clinicamente normais, o valor da triagem de cães para exposição a esses organismos não está claro (Little, 2010).

Em um estudo que avaliou a ligação entre a presença de anticorpos e doença subclínica, 39% dos cães soropositivos para *E. canis* em um ensaio imunoenzimático eram trombocitopênicos, sugerindo que esses ensaios podem permitir a identificação de cães com infecções inaparentes, mas ainda assim patogênicas (Hegarty et al, 2009).

#### **3.8.4. Teste Rápido**

SNAP<sup>®</sup> 4Dx<sup>®</sup> (IDEXX Laboratories, Westbrook, ME) é um kit de teste comercialmente disponível para uso em consultório para a detecção simultânea do antígeno de *Dirofilaria immitis* e anticorpos para *Borrelia burgdorferi*, *Anaplasma phagocytophilum* e *Ehrlichia canis* no sangue, plasma ou soro de cães. O kit de teste é um ensaio imunoenzimático que usa a proteína p30 e p30-1 de *E. canis*. Estudos com amostras caninas sugerem que o SNAP<sup>®</sup> 4Dx<sup>®</sup> é particularmente útil em áreas endêmicas porque pode ser usado de forma conveniente e confiável na clínica para determinar o estado de infecção de um cão, este teste apresenta uma sensibilidade de 93,4% e especificidade de 96,8% para a detecção de anticorpos contra *Ehrlichia spp* (Chandrashekar et al., 2008).

### 3.9. TRATAMENTO

A recuperação clínica espontânea de cães com infecção aguda é comum; no entanto, os cães nesta fase aguda necessitam de tratamento médico para acelerar a sua recuperação clínica, para prevenir a exacerbação clínica ou morte. Ainda não está claro até que ponto os cães naturalmente infectados eliminam imunologicamente a infecção ou permanecem infectados subclínicamente após a transmissão do carrapato (Mylonakis et al., 2019).

Cães com anomalias clínicas e clinicopatológicas consistentes com EMC, em conjunto com sororreatividade a *E. canis* e/ou evidência molecular ou citológica de infecção por *E. canis*, devem receber terapia antimicrobiana. A decisão de tratar ou não um cão clinicamente saudável, soropositivo para *E. canis* e sem anormalidades hematológicas permanece controversa, especialmente em áreas endêmicas onde a exposição é altamente prevalente (Neer et al., 2002; Sykes, 2014). Para facilitar o uso criterioso de antibióticos e evitar a indução desnecessária de resistência antimicrobiana, é aconselhável acompanhar esses cães clínica, hematológica e sorologicamente, pelo menos semestralmente, em vez de administrar um antibiótico a um cão que possa ter eliminado imunologicamente a infecção (Neer et al., 2002).

A detecção molecular positiva (PCR positiva) para *E. canis* em qualquer fase da infecção no sangue ou outros tecidos (por exemplo, medula óssea ou aspirados esplênicos) ou um aumento de 4 vezes nos títulos de anticorpos deve ser considerada uma infecção ativa e justifica o tratamento antimicrobiano, independentemente da condição do cão e seu estado clínico porque a progressão ou não progressão da doença não pode ser prevista. O tratamento também seria recomendado para cães clinicamente saudáveis, soropositivos e PCR-negativos, com anormalidades clinicopatológicas compatíveis (por exemplo, anemia, trombocitopenia, hiperglobulinemia) que não possuem evidências de outras causas que incitem esses achados (Mylonakis et al, 2019).

Historicamente, as tetraciclina foram os antibióticos de primeira linha para o tratamento da EMC (Buhles; Huxsoll; Ristic, 1974). São agentes antibacterianos de amplo espectro que atuam inibindo a ligação do aminoacil-tRNA ao ribossomo bacteriano durante a síntese protéica. No entanto, apenas a doxiciclina, uma tetraciclina semissintética, foi avaliada criticamente *in vitro* ou em associação com infecções por *E. canis* induzidas naturalmente ou experimentalmente (Sykes, 2014).

Estudos *in vitro* indicam que a doxiciclina é muito eficaz contra as espécies monocíticas de *Ehrlichia* (ou seja, *E. canis* e *E. chaffeensis*), exigindo uma concentração mínima de inibição (MIC) muito baixa (0,03 mg/ml). É importante ressaltar que os dados de sensibilidade *in vitro* podem não se correlacionar consistentemente com a resposta clínica, particularmente no contexto de bactérias intracelulares com distribuição potencial por toda a vasculatura (Branger et al., 2004).

Além dos desafios na avaliação de antibióticos em infecções por *E. canis*, tanto no ambiente experimental como clínico, outros fatores influenciam a seleção de antimicrobianos e a duração do tratamento (Schulz et al., 2011).

Na maioria dos cães com erliquiose ou anaplasmose aguda, leve a moderada, a melhora clínica é observada dentro de 1 a 2 dias após a instituição da terapia antibiótica. No entanto, cães que apresentam doença clínica mais grave ou com erliquiose crônica podem demorar mais para responder. Nesses casos, a terapia adjuvante com um curso curto (7 dias ou menos) de prednisona pode ser usada para apoiar a melhora clínica no início do tratamento, abordando diretamente a inflamação. Essa abordagem também tem utilidade clínica no início do tratamento, quando a confirmação laboratorial da erliquiose está pendente e a trombocitopenia imunomediada continua sendo um diagnóstico clínico potencial. Outros tratamentos de suporte, incluindo transfusão de sangue, administração parenteral de fluidos e/ou manejo da glomerulonefrite, podem ser indicados em casos individuais (Little, 2010).

Os cães permanecem suscetíveis à reinfecção por *E. canis* e *Ehrlichia chaffeensis* após a resolução bem-sucedida da infecção primária, embora a doença induzida pela reinfecção com uma cepa homóloga tenha sido menos grave, sugerindo que alguma imunidade protetora pode se desenvolver. Quando ocorre reinfecção e subsequente doença clínica, cursos adicionais de tratamento são indicados (Little, 2010).

### **3.9.1. Doxiciclina**

A doxiciclina é considerada o tratamento de escolha para erliquiose; esse antibiótico também foi usado com sucesso em gatos infectados com esse agente (Sykes et al, 2011). Apesar de um número substancial de estudos publicados, a determinação de uma duração ideal de administração de doxiciclina para cães nas várias fases do EMC, que muitas vezes não são determináveis no ambiente clínico, continua a ser um desafio (Mylonakis et al, 2019). Para a erliquiose, a declaração de

consenso da ACVIM (American College of Veterinary Internal Medicine) recomenda que a doxiciclina seja administrada na dose de 10 mg/kg por via oral a cada 24 horas durante 28 dias ou dividida duas vezes ao dia (5 mg/Kg a cada 12 horas), mas normalmente é administrada duas vezes ao dia. No entanto, a baixa MIC (concentração inibitória mínima) da doxiciclina para *E. canis* torna improvável que o nível do medicamento caia abaixo do limiar da MIC, independentemente do intervalo entre doses. Preocupações em relação à descoloração dos dentes com doxiciclina não são suportadas pela literatura atual e não devem impedir o uso desse antibiótico (Mylonakis et al, 2019; Sykes et al 2011).

Até os dias atuais, não há informações suficientes para apoiar uma duração mais curta do tratamento (por exemplo, 2 semanas) para cães com infecção aguda, em comparação com uma duração mais longa do tratamento com doxiciclina (por exemplo, 3–4 semanas) para cães cronicamente infectados (Mylonakis et al, 2019).

Embora alguns estudos relatem eliminação de infecções erliquiais, outros documentaram infecções persistentes após o tratamento com doxiciclina usando estratégias de xenodiagnóstico, PCR em aspirados esplênicos e isolamento de cultura de cães tratados com durações de tratamento com doxiciclina por 1 semana, 2 semanas, 4 semanas e 6 semanas com 10 mg/kg, VO (via oral), uma vez ao dia, não conseguiram erradicar a infecção por *E. canis* em 25-100% dos cães tratados, mas houve resolução das anomalias hematológicas. As razões para esses resultados discordantes não são claras, mas as diferenças no resultado podem estar relacionadas à via de infecção inicial (ou seja, alimentação com carrapatos versus inoculação intravenosa de organismos de cultura de células), duração da infecção antes do tratamento ou duração do próprio tratamento (Little, 2010).

Alguns cães podem não tolerar a administração de doxiciclina devido à anorexia, vômito, diarreia ou rápidas elevações pós-tratamento das atividades da alanina aminotransferase e da fosfatase alcalina (Schulz et al., 2011).

### **3.9.2. Minociclina**

Segundo Jenkins et al (2018) a minociclina tem sido utilizada como um tratamento eficaz da EMC na dose de 10 mg/kg, VO (via oral) , BID, durante 3–4 semanas; no entanto, a eficácia publicada só foi relatada muito recentemente num pequeno número de cães. No estudo de Jenkins, a minociclina eliminou a infecção em 5/5 cães naturalmente infectados, demonstrando eficácia semelhante em comparação com a doxiciclina. Mais estudos são necessários para avaliar de forma mais abrangente a eficácia da minociclina

no tratamento da EMC.

### **3.9.3. Rifampicina**

Já sobre a rifampicina, ela é um inibidor da subunidade B da RNA polimerase dependente de DNA, foi avaliada como uma potencial droga alternativa à doxiciclina para o tratamento da EMC na dose de 10 mg/kg, VO, uma vez ao dia, durante 3 semanas. Em estudos *in vitro*, a rifampicina revelou-se tão eficaz como a doxiciclina e com uma MIC igualmente baixa (ou seja, 0,03 mg/ml) contra *E. canis*. Estudos experimentais de infecção, em conjunto com a experiência clínica limitada, implicam que a rifampicina pode ser eficaz no tratamento da EMC, mas precisaria de mais estudos avaliando o perfil de segurança nas doses recomendadas, a duração ideal do tratamento e o potencial para o surgimento de resistência à rifampicina quando usada como terapia única na EMC (Kadlec et al., 2011).

### **3.9.4. Dipropionato de Imidocarbe**

O dipropionato de imidocarbe tem sido utilizado há muitos anos no tratamento da EMC. Embora inicialmente tenha sido considerado eficaz na obtenção da remissão clínica e tenha sido sugerido pelo grupo de estudo de doenças infecciosas do ACVIM como tratamento de segunda linha para EMC dados mais recentes demonstraram que foi ineficaz em proporcionar recuperação hematológica ou eliminar infecções experimentais naturais e agudas por *E. canis*. Portanto, o dipropionato de imidocarbe não é mais indicado no EMC, exceto em coinfeções por protozoários como *Babesia vogeli* (Neer et al., 2002)

## **3.10. CURA CLÍNICA X CURA PARASITOLÓGICA**

Estudos avaliando a eficácia do tratamento mostraram que a *Ehrlichia canis* pode persistir no cão. Os métodos atualmente utilizados para confirmar a eliminação de *Ehrlichia canis* após o tratamento, como PCR, cultura e xenodiagnóstico, apresentam sensibilidade variável. Um estudo avaliou a eficácia do tratamento com doxiciclina administrada uma vez ao dia por quatro semanas durante as fases aguda, subclínica e crônica da ehrlichiose monocítica canina pelo método de xenodiagnóstico (McClure et al., 2010), embora a maioria dos cães tratados tenha apresentado recuperação clínica e hematológica, além de resultados negativos na PCR sanguínea, todos os carrapatos *Rhipicephalus linnaei* alimentados nesses cães testaram positivo para *E. canis* por PCR. Esses achados indicam que, apesar da aparente recuperação clínica e dos resultados

negativos nos testes sanguíneos, o patógeno pode persistir (Neer et al., 2002; McClure et al., 2010).

Em outro estudo, *E. canis* persistiu após o tratamento na maioria dos cães inoculados com sangue de cães tratados com doxiciclina, estes cães inoculados tornaram-se positivos para PCR. (McClure et al., 2010; Schaefer et al., 2007).

Vários estudos enfatizaram a importância de avaliar a resposta ao tratamento da EMC através da aplicação de testes moleculares a uma variedade de tecidos, em vez de apenas PCR no sangue. Recomenda-se avaliar essa resposta pelo menos 1–2 meses após a interrupção do tratamento, para evitar resultados de PCR falso- negativos associados ao sequestro do organismo em outros tecidos que não o sangue ou à supressão temporária da erliquemia durante ou imediatamente após a conclusão do tratamento. Tanto a supressão da erliquemia como o sequestro de tecidos podem influenciar negativamente o sucesso da amplificação por PCR porque a carga do organismo pode estar abaixo da sensibilidade analítica dos ensaios moleculares atuais (Mylonakis et al, 2019; Schaefer et al., 2007).

Estudos de cães infectados natural e experimentalmente sugerem que a doxiciclina induz remissão clínica e normalização hematológica em cães com infecções agudas ou subclínicas por *E. canis*, sem eliminar consistentemente a infecção. Além disso, a eficácia subótima não parece ser claramente dependente da fase, sugerindo o envolvimento potencial de doenças infecciosas ou não infecciosas concomitantes ou uma resposta imunitária inadequada do hospedeiro. Outros fatores potenciais que podem explicar a inconsistência na eliminação da infecção entre os diferentes estudos podem incluir os seguintes: os diferentes regimes posológicos de doxiciclina; o estado imunológico do hospedeiro; a sensibilidade dos ensaios para detectar infecções; e as amostras usadas para teste (Mylonakis et al, 2019).

### **3.11. PREVENÇÃO**

As vacinas não estão disponíveis para prevenir a infecção por esses organismos em cães. A administração profilática de antibióticos de tetraciclina tem sido usada para prevenir a erliquiose canina durante os surtos, mas é considerada impraticável e potencialmente problemática. Atenção rigorosa ao controle de carrapatos é o único meio disponível de prevenir a infecção por *Ehrlichia* spp. (Little, 2010).

Aplicação rotineira e consistente (mensal) de acaricidas tópicos, incluindo imidacloprida/permetrina e fipronil, demonstraram prevenir a infecção por esses organismos, conforme evidenciado pela diminuição da soroconversão em cães protegidos

em estudos experimentais e de transmissão natural (Little, 2010). Vários estudos demonstraram que o tratamento de cães com acaricidas pode reduzir o risco de transmissão de *Ehrlichia* spp. por carrapatos infectados (Jongejan et al., 2015) tais como fluralaner (Taenzler et al., 2016), lotilaner (Cavalleri et al., 2017), afoxolaner (Beugnet, Lebon; Vos, 2019).

O uso rotineiro e durante todo o ano de acaricidas em cães é recomendado porque diferentes estágios e espécies de carrapatos estão ativos ao longo do ano em muitas áreas, o início da atividade do carrapato é um tanto imprevisível e os animais de estimação podem viajar. No entanto, nenhum acaricida é totalmente eficaz na eliminação de todos os carrapatos, e infecções e doenças foram relatadas em cães que receberam acaricidas. Recomenda-se a remoção imediata de carrapatos presos usando pinça ou dedos enluvados para prevenir a infecção (Little, 2010). Em um estudo de 2013 viu-se o tempo que um carrapato *R. linnaei* infectado teve que ser fixado antes de poder transmitir *E. canis*, este tempo foi determinado in vivo, bem como *in vitro*, este estudo revelou que a transmissão de *E. canis* começa em poucas horas (3 h em cães e 8 h em membranas artificiais), um intervalo consideravelmente menor do que o presumido anteriormente (Fourie et al., 2013).

Estratégias adicionais para reduzir as infestações de carrapatos incluem a restrição do acesso a áreas infestadas por carrapatos, o manejo do habitat ao redor da casa para desencorajar os carrapatos e o uso criterioso e seletivo de acaricidas no ambiente (Labruna; Pereira, 2011).

#### **4. IMPORTÂNCIA DO MÉDICO VETERINÁRIO**

A AVMA (*American Veterinary Medical Association*) estabeleceu a Iniciativa “*One Health*” em 2007 como um apelo à ação para interações transdisciplinares mais estreitas em todo o mundo, reconhecendo que o ambiente em mudança aumenta o contato humano e animal e cria desafios para todos os três domínios (homem, animal e natureza), isso levou à criação da Comissão “*One Health*” em 2009. “*One Health*” refere-se a duas idéias relacionadas: primeiro, é o conceito de que os humanos, os animais e o mundo em que vivemos estão inextricavelmente ligados. Em segundo lugar, refere-se ao esforço colaborativo de múltiplas disciplinas que trabalham local, nacional e globalmente para alcançar a saúde ideal para as pessoas, os animais e o ambiente (Avma, 2024)

O conceito por trás do “*One Health*” existe há séculos. Mas ainda hoje os estudos nas áreas das ciências humanas, animais e ambientais são em grande parte conduzidos de forma independente, e ligações óbvias podem ser perdidas. À medida que a população

humana continua a crescer e as nossas relações com os animais continuam a evoluir, a compreensão das interdependências das pessoas, dos animais e do ambiente torna-se ainda mais crítica para a nossa saúde e segurança (Avma, 2024).

Em seu trabalho junto aos animais, o médico veterinário tem todo um cuidado com o ambiente em que os animais vivem, sua alimentação, sanidade e faz o uso seguro de medicamentos e manejo nutricional adequado, proporcionando condições de saúde e bem-estar (Miranda, 2018).

Os animais de companhia e de assistência desempenham um papel cada vez mais importante na vida das pessoas, proporcionando muitos benefícios sociais e psicológicos. Ao proteger a saúde destes animais, os veterinários fortalecem e apoiam o vínculo humano-animal (Avma, 2024).

De acordo com ONU (Organização das Nações Unidas), a população mundial atingiu cerca de 7,7 bilhões em 2019 e poderá crescer para 10,9 bilhões até o ano 2100. O vínculo humano-animal, a relação mutuamente benéfica entre pessoas e animais, existe há milhares de anos e a consciência dos seus impactos positivos continua a crescer. À medida que a nossa população continua a expandir-se geograficamente, aumentam as áreas de sobreposição no habitat humano e de animais selvagens. Isto traz maior risco de exposição a novos vírus, bactérias e outros patógenos causadores de doenças para animais e pessoas. Três em cada quatro doenças infecciosas novas ou emergentes em pessoas são adquiridas de animais, de acordo com os Centros de Controle e Prevenção de Doenças dos EUA (Avma, 2024)

A responsabilidade de cuidar de animais de estimação pode proporcionar aos seus donos um senso de propósito e uma necessidade percebida de cuidar melhor de si mesmos. Os benefícios destas relações, no entanto, dependem de combinações adequadas entre animal de estimação e dono, e de apoio contínuo do veterinário para que essa relação se mantenha e seja benéfica (Gibbs; Gibbs, 2012)

Talvez menos frequentemente considerado tenha sido o enorme papel potencial dos animais de companhia, e particularmente dos cães e gatos domesticados, na Saúde Única. Nos países desenvolvidos, a posse de animais de estimação atingiu níveis sem precedentes e estes animais desempenham um papel significativo na vida familiar. Segundo a ABINPE (Associação Brasileira da Indústria de Produtos para Animais de Estimação), estima-se que existem um total de 167,6 milhões de pets no Brasil, dentre eles sendo 67,8 milhões de cães e 33,6 milhões de gatos, mostrando a importância do médico veterinário como um multiplicador de conhecimento para os tutores.

## 5. JUSTIFICATIVA

A população canina da cidade de São Paulo hoje é estimada em mais de 2 milhões e em torno de 67,8 milhões no Brasil. Com esta grande quantidade de cães na região e o aumento do diagnóstico de hemoparasitoses, o presente estudo visa avaliar a prevalência da infecção por *Ehrlichia canis* e *Babesia vogeli* em cães na cidade de São Paulo e na cidade de Osasco, esta pertencente a região da Grande São Paulo.

O médico veterinário como um promotor da saúde animal e humana, compondo o *One Health*, deve estar sempre atento aos métodos diagnósticos e tratamento das hemoparasitoses, doenças estas transmitidas por carrapatos, para isso se faz necessário a avaliação se os veterinários estão tendo boas práticas de condutas clínicas em relação a essas hemoparasitoses.

## 6. OBJETIVO GERAL:

Estabelecer a prevalência sorológica de Erliquiose Monocítica Canina e molecular de Babesiose canina no município de São Paulo e Osasco, aliado a isso avaliar a conduta do médico veterinário no que tange ao diagnóstico e tratamento de ambas as doenças.

### 6.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

Realizar diagnóstico molecular de *Babesia vogeli* e sorológico de *Ehrlichia canis* no município de São Paulo e Osasco, este situado na região da Grande São Paulo;

Realizar o mapeamento (geolocalização) dos animais positivos dentro do município;

Avaliar a conduta do médico veterinário em relação ao diagnóstico e tratamento de Babesiose e Erliquiose.

## 7. MATERIAIS E MÉTODOS

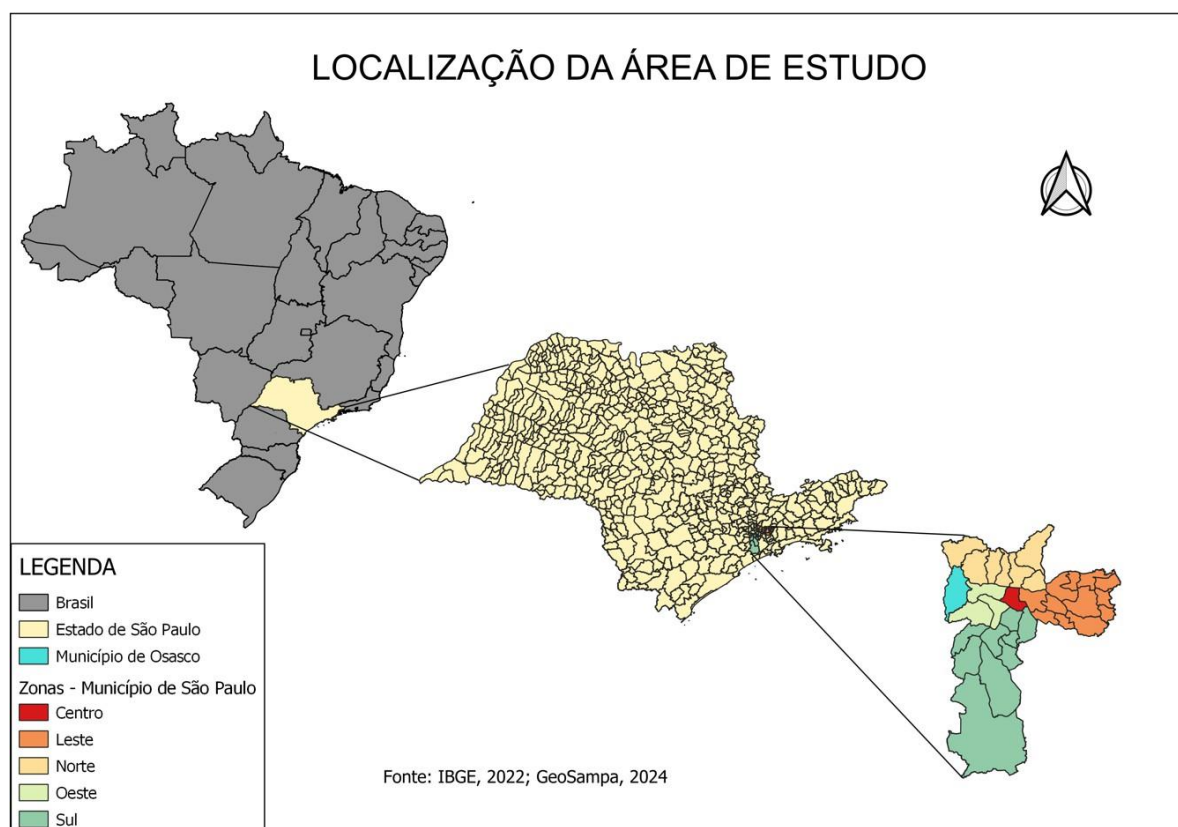
### 7.1. Considerações éticas

O Projeto foi submetido ao Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) e à Comissão de Pesquisa da Universidade Santo Amaro (UNISA), sob o número de protocolo 01/2021. Também foi submetido à Plataforma Brasil, para que os questionários pudessem ser realizados com os médicos veterinários e aprovado sob parecer consubstanciado do Comitê de Ética e Pesquisa com Seres Humanos (Protocolo 5.305.349), Anexo 2.

## 7.2. Área de estudo

O estudo foi conduzido no Brasil, na cidade de São Paulo e na cidade de Osasco, estando esta última inserida na região da Grande São Paulo (Figura 7).

Figura 7 - Localização da área de estudo



Fonte: IBGE, 2022; GeoSampa, 2024

## 7.3. Obtenção e origem das amostras

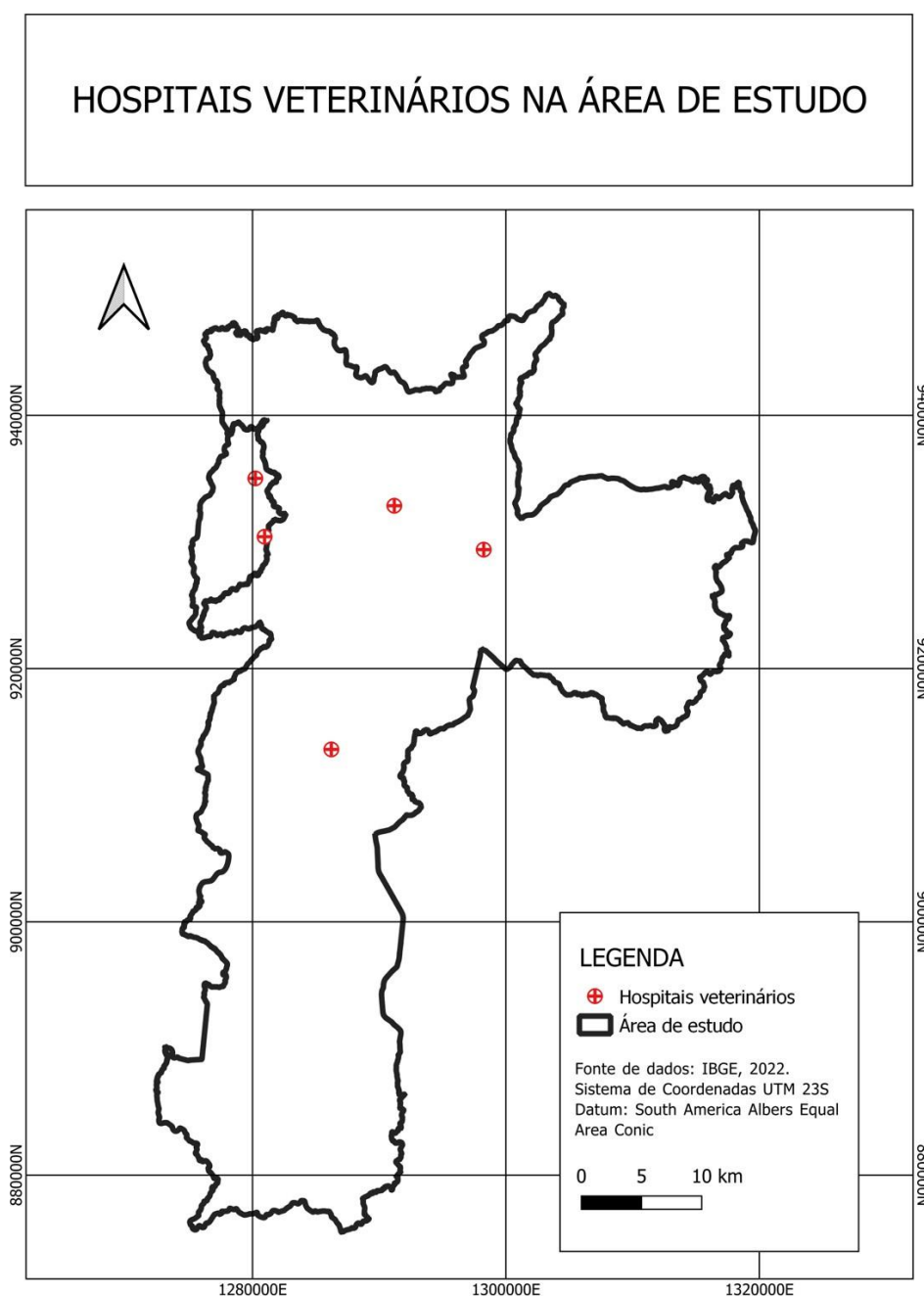
O estudo utilizou amostras de sangue total advindos de animais atendidos nos diferentes hospitais veterinários públicos da Anclivepa, sendo 1219 amostras em tubo contendo anticoagulante EDTA (ácido etilenodiamino tetra-acético) e 1041 amostras em tubo sem anticoagulante (tubo bioquímico). Os hospitais estão localizados nas regiões Leste, Norte e Sul de São Paulo, e em Osasco, na região da Grande São Paulo (Figura 8). A ficha dos animais foi disponibilizada, sendo possível obter a informação sobre em qual hospital a amostra teve origem e também o endereço fornecido pelo responsável durante o atendimento. Foi utilizado esse endereço da ficha de atendimento como o endereço de localização de cada um dos animais.

Amostras essas recebidas por conveniência no período de agosto de 2021 a julho de 2022 de animais que passaram em atendimento nestes hospitais independentemente da

suspeita clínica ou sintomas.

As amostras foram recebidas em tubos sem anticoagulantes (tubo bioquímico) e em tubos com anticoagulante EDTA 10 %, destes as amostras em tubo sem anticogaulante foram centrifugadas e aliqotadas em microtubos, das amostras provenientes de tubos com anticoagulante EDTA foi realizada extração do DNA e também aliqotadas em microtubos.

Figura 8 – Localização dos hospitais



FONTE: IBGE, 2022; PMSP, 2019; Sistema de Coordenadas UTM Datum: South America Albers Equal Area Conic

#### 7.4. Diagnóstico molecular para *Babesia vogeli*

#### 7.4.1. Extração do DNA

Das amostras de sangue, recebidas em tubo com anticoagulante, identificadas por número de protocolo do animal e local de coleta, foram realizadas extração do DNA de 1219 amostras, o DNA obtido foi acondicionado em microtubos de polipropileno, novamente identificadas e conservadas a -20°C até o processamento. Para a extração do DNA, foi utilizado o kit comercial “PureLink Genomic DNA Mini Kit” (Thermo Fisher®), de acordo com as instruções do fabricante

#### 7.4.2. PCR Real Time

Para diagnóstico específico molecular para *Babesia vogeli*, as 1219 amostras foram submetidas a técnica de PCR em tempo real qualitativa para amplificação do gene sense Hsp70, com as seguintes sequências alvo: B.c hsp70 fwd GTCATCACTGTGCCTGCGTACT e B.c hsp70 rev GCATGACGTTGAGACCGGCAAT conforme descreveu Peleg et al., 2010, sendo um método confiável para detecção molecular, permitindo identificar infecções ativas com alta precisão, tendo alta sensibilidade e alta especificidade.

#### 7.5. Diagnóstico sorológico para *Ehrlichia canis*

As amostras de sangue, recebidas em tubo bioquímico, identificadas por número de protocolo do animal e local de coleta, foram centrifugadas a 3900 rpm por 15 minutos e o soro obtido foi acondicionado em microtubos de polipropileno, novamente identificadas e conservadas a -20°C até o processamento.

A sorologia foi realizada de 1041 amostras de sangue do tubo sem anticoagulante, foi realizada pelo método ELISA – ensaio imunoenzimático qualitativo para detecção de anticorpos IgG contra *E. canis* utilizando o Teste comercial VetLISA da Bioclin Vet® conforme orientações do fabricante. Este teste possui 99 % de sensibilidade e 97,3 % de especificidade.

Este teste é um ensaio imunoenzimático em fase sólida, baseado no princípio de imunocaptura para a detecção qualitativa de anticorpos IgG contra *Ehrlichia canis* em soro ou plasma de cães. Anticorpos contra *Ehrlichia canis* presentes na amostra se ligam ao antígeno recombinante de *E. canis* que reveste a microplaca, formando complexos imobilizados antígeno-anticorpos.

#### 7.6. MAPEAMENTO DOS POSITIVOS

A partir dos dados constantes nas fichas dos animais positivos nos exames, foi desenvolvido mapas com a localização de cada indivíduo, para assim determinar qual local ou região tem maior porcentagem de positividade dentro do município, para isso o município de São Paulo foi dividido em Zona Leste, Zona Norte, Zona Sul, além da cidade de Osasco que está localizada na Região Metropolitana de São Paulo, próximo a Zona Oeste da cidade de São Paulo.

Para o mapeamento e geolocalização dos animais positivos foram utilizados arquivos *shapefile*: da União, Estados e Municípios, fornecidos pelo IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística) (IBGE, 2022) e o Zoneamento do Município de São Paulo da plataforma GeoSampa (PMSP, 2024).

Foi realizada a geocodificação dos endereços por meio da API ViaCep. API são um conjunto de rotinas e padrões que facilitam a comunicação e troca de informações entre sistemas (Disponível em [viacep.com.br](http://viacep.com.br)).

Posteriormente os pontos foram adicionados ao Software QGIS, versão 3.28.7. Também pelo mesmo software foi realizado o mapa de densidade de casos positivos utilizando o método de Kernel para cálculo de densidade.

## **7.7. QUESTIONÁRIO PARA OS MÉDICOS VETERINÁRIOS**

Foi elaborado um questionário com 9 perguntas multipla escolha que foi enviado para 201 médicos veterinários pelo Google Forms<sup>®</sup>, através de divulgação entre colegas e grupos de Whatsapp<sup>®</sup>. O anexo 1 apresenta o modelo do questionário utilizado. Este questionário tem como função avaliar a conduta dos médicos veterinários no que tange aos métodos diagnósticos e tratamento de Babesiose e Erliquiose canina.

## **8. RESULTADOS**

### **8.1. Total análises**

Foram analisadas 1219 amostras de sangue total em tubo contendo anticoagulante EDTA e 1041 amostras de sangue total em tubo sem anticoagulante (tubo bioquímico).

As amostras em tubo contendo anticoagulante EDTA que foram utilizadas para realizar os exames moleculares para *B. vogeli* se dividiram da seguinte maneira: Hospital da Zona

Norte 270 amostras, Hospital Zona Leste 408 amostras, Hospital Zona Sul 272 amostras, Osasco 269 amostras (Figura 9). As amostras em tubo não contendo anticoagulante (tubo bioquímico) que foram usados para realizar os exames sorológicos para *E. canis* se dividiram da seguinte maneira: Hospital da Zona Norte 214 amostras, Hospital Zona Leste 278 amostras, Hospital Zona Sul 268 amostras, Osasco 281 amostras (Figura 10).

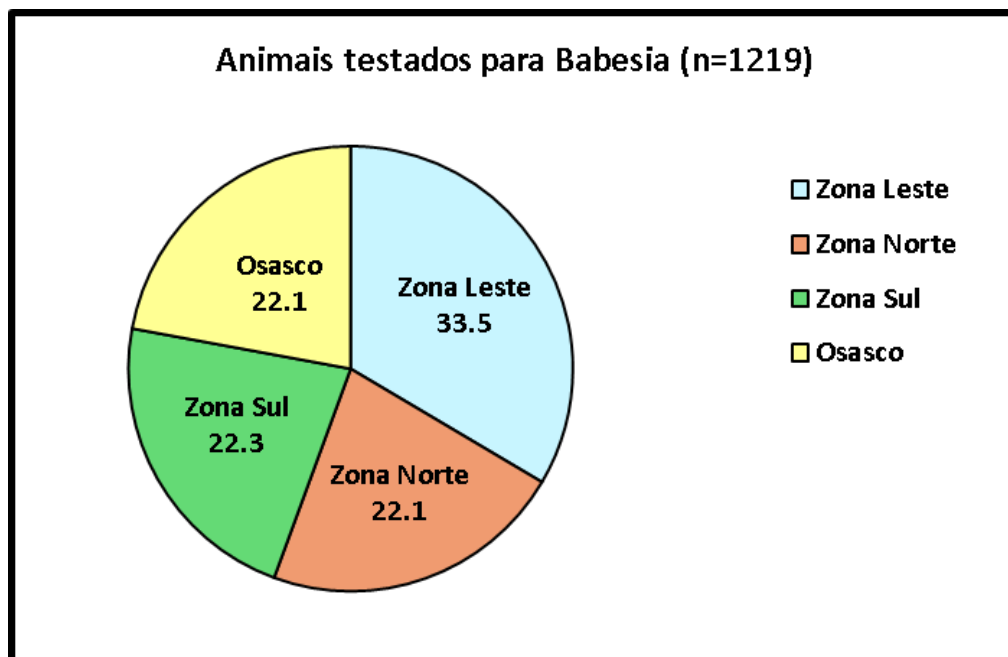
A distribuição das amostras coletadas para testes de *Ehrlichia canis* e *Babesia vogeli* conforme o local da coleta de dados obteve os seguintes resultados. A amostra para teste de *Ehrlichia canis* (n=1041) teve maior quantitativo em Osasco (27.0%) e o menor quantitativo na Zona Norte (20.6%). A amostra para teste de *Babesia vogeli* (n=1219) teve maior quantitativo na Zona Leste (33.5%) seguido de Osasco (22.1%), Zona Sul (22.3%) e Zona Norte (22.1%) (Tabela 1).

**Tabela 1:** Distribuição das amostras coletadas para testes de *Ehrlichia canis* e *Babesia vogeli* conforme o local da coleta. São Paulo e Osasco, ano 2024.

| Local da coleta | Testes p/ Ehrlichia |      | Testes p/ Babesia |      | Geral |      |
|-----------------|---------------------|------|-------------------|------|-------|------|
|                 | N                   | %    | N                 | %    | N     | %    |
| LESTE           | 278                 | 26.7 | 408               | 33.5 | 686   | 30.4 |
| NORTE           | 214                 | 20.6 | 270               | 22.1 | 484   | 21.4 |
| SUL             | 268                 | 25.7 | 272               | 22.3 | 540   | 23.9 |
| OSASCO          | 281                 | 27.0 | 269               | 22.1 | 550   | 24.3 |
| Total           | 1041                | 100  | 1219              | 100  | 2260  | 100  |

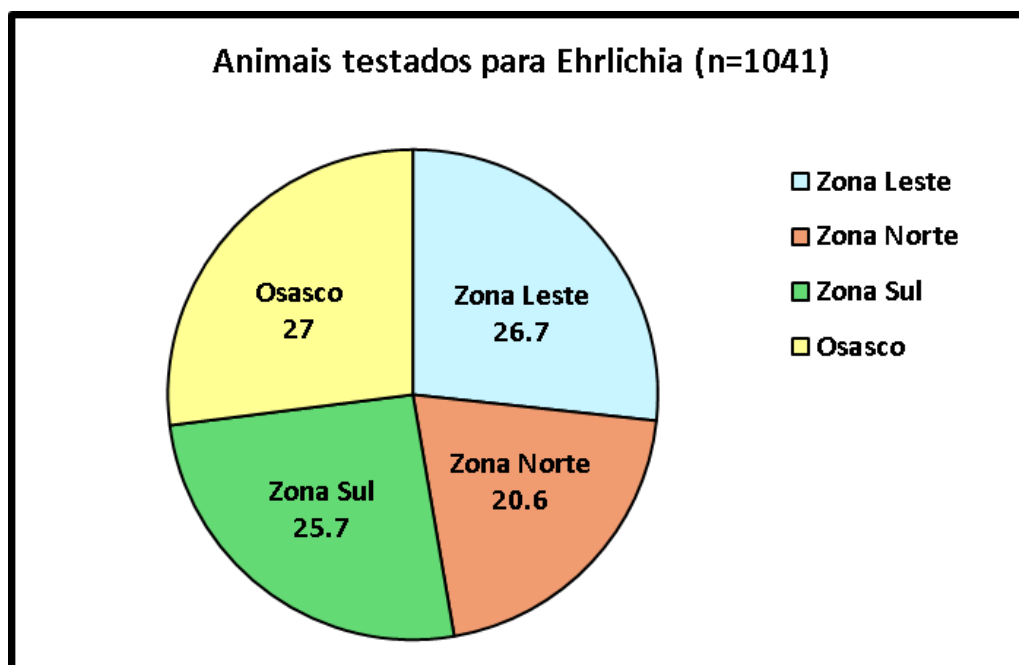
\*teste aplicado: Qui-Quadrado de independência.

**Figura 9 :** Animais testados para *Babesia vogeli* conforme o local da coleta. São Paulo e Osasco, ano 2024.



FONTE: Autoria própria, 2024

**Figura 10:** Animais testados para *Ehrlichia canis* conforme o local da coleta. São Paulo e Osasco, ano 2024



FONTE: Autoria própria, 2024

## 8.2. Resultados sorológicos para *Ehrlichia canis*

No presente estudo foram analisados 1041 amostras sorológicas com metodologia ELISA para detecção de anticorpos anti-*Ehrlichia canis*, sendo 186 reagentes ao teste, representando 17,86 % de positividade para anticorpos anti-*Ehrlichia canis* na região

estudada.

A Tabela 2 apresenta uma análise detalhada dos resultados positivos para *E. canis*.

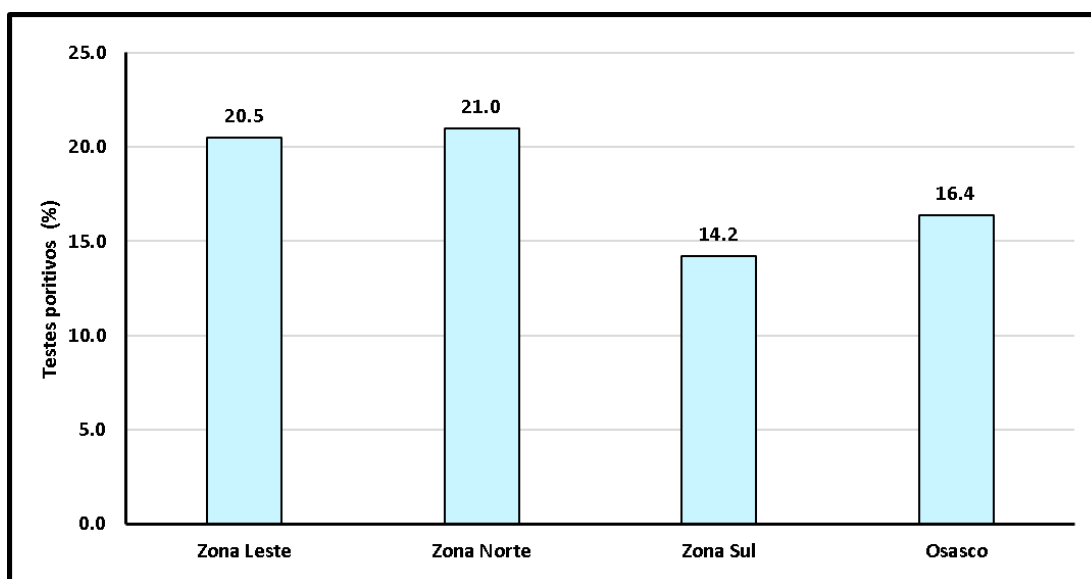
**Tabela 2:** Frequência e IC95% do teste positivo para *Ehrlichia canis*. São Paulo e Osasco, ano 2024.

| Caraterização                | EHRlichIA         |      |                  |      |       |               |
|------------------------------|-------------------|------|------------------|------|-------|---------------|
|                              | Testes realizados |      | Testes Positivos |      | IC95% |               |
|                              | n=1041            | %    | n=186            | %    | L Inf | L. Sup        |
| <b>Local da coleta, zona</b> |                   |      |                  |      |       | <b>0.1279</b> |
| Leste                        | 278               | 26.7 | 57               | 20.5 | 15.8  | 25.2          |
| Norte                        | 214               | 20.6 | 45               | 21.0 | 15.6  | 26.5          |
| Sul                          | 268               | 25.7 | 38               | 14.2 | 10.0  | 18.4          |
| Osasco                       | 281               | 27.0 | 46               | 16.4 | 12.0  | 20.7          |

\*teste aplicado: Qui-Quadrado de independência.

A comparação dos testes positivos conforme o local da coleta, mostrou que a Zona Norte tem um percentual maior (Positivos 21.0%) e Zona Sul (Positivos 14.2%) (Gráfico 1), entretanto, o teste de hipótese resultou no p-valor = 0.1279, o qual indica que as diferenças não são significantes.

**Gráfico 1:** Testes positivos para *Ehrlichia canis* conforme o local da coleta de dados. São Paulo e Osasco, ano 2024



FONTE: Autoria própria,

### 8.3. Resultado molecular para *Babesia vogeli*

No presente estudo foram realizadas 1219 análises moleculares utilizando-se o gene hsp70 (Peleg et al., 2010) sendo 197 positivas, representando 16,16% de positividade para *Babesia vogeli* na região estudada.

A Tabela 3 apresenta uma análise detalhada dos resultados positivos para *B. vogeli*.

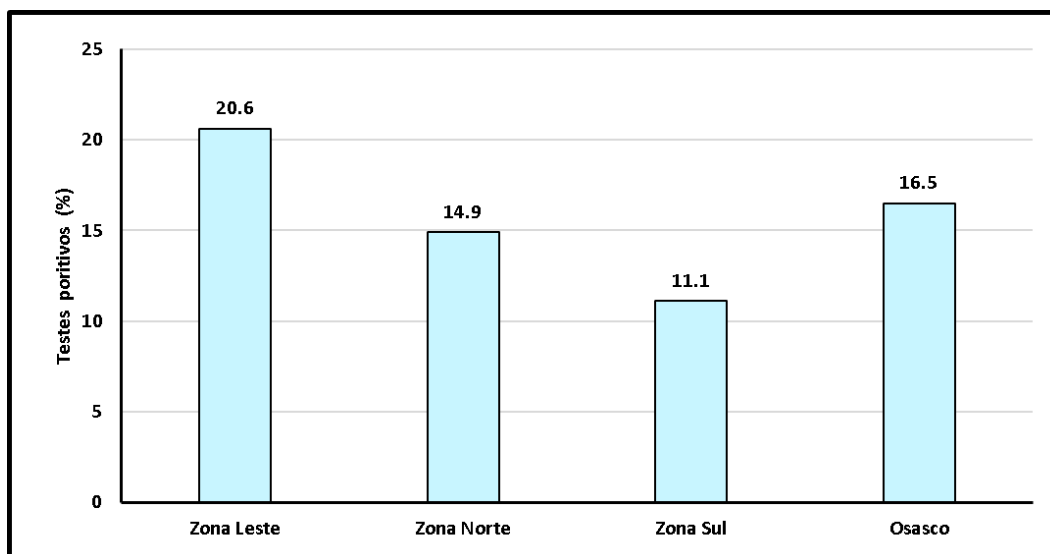
Quando analisadas individualmente as amostras positivas, as zonas tiveram a seguinte porcentagem de positividade: Osasco representando 16,47%, Zona Leste representando 20,58%, Zona Sul representando 11,02% e Zona Norte representando 14,81%, tendo a Zona Leste e Osasco o maior índice de positividade (Gráfico 2).

**Tabela 3:** Frequência e IC95% do teste positivo para *Babesia vogeli*. São Paulo e Osasco, ano 2024.

| Local da coleta, zona | BABESIA           |      |                  |      |       |        |
|-----------------------|-------------------|------|------------------|------|-------|--------|
|                       | Testes realizados |      | Testes Positivos |      | IC95% |        |
|                       | n=1219            | %    | n=197            | %    | L Inf | L. Sup |
| Leste                 | 408               | 33.5 | 84               | 20.6 | 16.7  | 24.5   |
| Norte                 | 270               | 22.1 | 40               | 14.9 | 10.6  | 19.1   |
| Sul                   | 272               | 22.3 | 30               | 11.1 | 7.3   | 14.8   |
| Osasco                | 262               | 22.1 | 43               | 16.5 | 11.9  | 20.9   |
| Total                 | 1219              | 100  | 197              | 16.2 | 14.1  | 18.2   |

\*p-valor = 0.0011, teste aplicado: Qui-Quadrado de independência.

**Gráfico 2:** Testes positivos para *Babesia vogeli* conforme o local da coleta de dados. São Paulo e Osasco, ano 2024.



FONTE: autoria própria, 2024

#### 8.4. Resultado do Questionário para os Médicos Veterinários

A tabela 4 e 5 apresentam os resultados da análise de impacto de condutas clínicas com base nas respostas de um questionário aplicado a profissionais, abrangendo perguntas sobre localização geográfica, fatores que levam à suspeita de hemoparasitoses, importância dos exames laboratoriais, exames preferencialmente solicitados, além de perguntas que abordaram desde a realização concomitante de exames para babesiose e erliquiose até as decisões terapêuticas em situações de impossibilidade de diagnóstico laboratorial e o uso de medicamentos.

**Tabela 4:** Caracterização geral do Questionário de impacto de conduta clínicas (Pergunta 1 até Pergunta 4.4). São Paulo e Osasco, ano 2024.

| Questionário de Impacto de condutas clínicas  |                         |               |                    |
|---|-------------------------|---------------|--------------------|
| Perguntas   | Frequência<br>n=201 (%) | IC95%         | p-valor            |
| <b>Em qual região do Brasil você se encontra?</b>   |                         |               | <b>&lt;0.0001*</b> |
| Nordeste  | 7 (3.5)                 | 0.9 a 6.0     |                    |
| Norte   | 6 (3.0)                 | 0.6 a 5.3     |                    |
| Centro-Oeste  | 23 (11.4)               | 7.0 a 15.8    |                    |
| Sudeste   | 144 (71.6)              | 65.4 a 77.9   |                    |
| Sul   | 15 (7.5)                | 3.8 a 11.1    |                    |
| NR  | 6 (3.0)                 | 0.6 a 5.3     |                    |
| <b>P1) O que te leva a suspeitar de uma hemoparasito se ao atender um paciente?</b>   |                         |               | <b>&lt;0.0001*</b> |
| Histórico deste paciente  | 4 (2.0)                 | 0.1 a 3.9     |                    |
| Sinais clínicos e sintomas do paciente  | 20 (10.0)               | 5.8 a 14.1    |                    |
| Todas as alternativas   | 177 (88.1)              | 83.6 a 92.5   |                    |
| <b>P2) Você acha importante realizar o diagnóstico por meio de exames laboratoriais?</b>  |                         |               | <b>&lt;0.0001*</b> |
| Sim, sempre faço mesmo que os sinais e sintomas sejam compatíveis com hemoparasitose(s)   | <b>131 (65.2)</b>       | 58.6 a 71.8   |                    |
| Só deixo de fazer se o tutor não tiver condições financeiras para realizá-los   | 67 (33.3)               | 26.8 a 39.9   |                    |
| Só faço quando a sintomatologia me deixa em dúvida do diagnóstico   | 2 (1.0)                 | 0.0 a 2.4     |                    |
| Não, nunca faço, trato somente pelo histórico e clínica do animal   | 1 (0.5)                 | 0.0 a 1.5     |                    |
| <b>P3) Se a sua resposta foi sim para a pergunta anterior, quais exames costuma solicitar? (Pode assinalar mais de uma opção) [N=131]</b> |                         |               | -----              |
| PCR Babesia canis   | 129 (98.5)              | 96.4 a 100.6  |                    |
| PCR Ehrlichia canis   | 112 (85.5)              | 79.5 a 91.5   |                    |
| Sorologia Babesia canis   | 79 (60.3)               | 51.9 a 68.7   |                    |
| Sorologia Ehrlichia canis   | 131 (100.0)             | 100.0 a 100.0 |                    |
| <b>P3.1. Exame 1</b>  |                         |               | <b>&lt;0.0001*</b> |
| PCR Babesia canis   | 3 (1.5)                 | 0.0 a 3.2     |                    |
| PCR Ehrlichia canis   | 52 (25.9)               | 19.8 a 31.9   |                    |
| Sorologia Babesia canis   | 1 (0.5)                 | 0.0 a 1.5     |                    |
| Sorologia Ehrlichia canis   | 131 (72.1)              | 65.9 a 78.3   |                    |
| <b>P3.2. Exame 2</b>  |                         |               | <b>0.0437*</b>     |
| PCR Babesia canis   | 68 (33.8)               | 27.3 a 40.4   |                    |
| PCR Ehrlichia canis   | 60 (29.9)               | 23.5 a 36.2   |                    |
| Sorologia Babesia canis   | 42 (20.9)               | 15.3 a 26.5   |                    |
| n/a   | 31 (15.4)               | 10.4 a 20.4   |                    |
| <b>P3.3. Exame 3</b>  |                         |               | <b>0.0878</b>      |
| PCR Babesia canis   | 22 (10.9)               | 6.6 a 15.3    |                    |
| Sorologia Babesia canis   | 36 (17.9)               | 12.6 a 23.2   |                    |
| n/a   | 143 (71.1)              | 64.9 a 77.4   |                    |
| <b>P3.4. Exame 4</b>  |                         |               | ----               |
| PCR Babesia canis   | 36 (17.9)               | 12.6 a 23.2   |                    |
| n/a   | 165 (82.1)              | 76.8 a 87.4   |                    |

\*teste aplicado: Qui-Quadrado de aderência.

**Análise da Tabela 4:**

**Pergunta 1.** O que te leva a suspeitar de uma hemoparasitose ao atender um paciente (?), resultou no p-valor  $<0.0001^*$  (estatisticamente significativa), portanto, houve uma real tendência para alternativa **Todas as alternativas** (88.1%).

**Pergunta 2.** Você acha importante realizar o diagnóstico por meio de exames laboratoriais(?), resultou no p-valor  $<0.0001^*$  (estatisticamente significativa), portanto, houve uma real tendência para alternativa **Sim, sempre faço mesmo que os sinais e sintomas sejam compatíveis com hemoparasitose(s)** (65.2%).

**Pergunta 3.** \ Se a sua resposta foi sim para a pergunta anterior, quais exames costuma solicitar? Houve uma real tendência para alternativa Sorologia *Ehrlichia canis* (72.1%).

**Tabela 5:** Caracterização geral do Questionário de impacto de conduta clínicas (Pergunta 5 até Pergunta 9). São Paulo e Osasco, ano 2024.

| Questionário de Impacto de condutas clínicas   |                         |             |                    |
|--|-------------------------|-------------|--------------------|
| Perguntas  | Frequência<br>n=201 (%) | IC95%       | p-valor            |
| <b>P5) Na impossibilidade de realizar os exames laboratoriais, mas na suspeita de ser uma hemoparasitose, você trata o paciente?</b> |                         |             | <b>&lt;0.0001*</b> |
| Sim  | 96 (47.8)               | 40.9 a 54.7 |                    |
| Depende do tutor (restrição financeira ou outros motivos)  | 33 (16.4)               | 11.3 a 21.5 |                    |
| Depende das condições clínicas do paciente   | 67 (33.3)               | 26.8 a 39.9 |                    |
| Não  | 5 (2.5)                 | 0.3 a 4.6   |                    |
| <b>P6) Quais medicações que utiliza para o tratamento de hemoparasitoses?</b>  |                         |             | <b>&lt;0.0001*</b> |
| Doxiciclina + 2 aplicações de imidocarb para Babesiose com intervalo de 15 dias entre elas   |                         |             |                    |
| 95 (47.3)  | 40.4 a 54.2             |             |                    |
| Doxiciclina somente  | 14 (7.0)                | 3.4 a 10.5  |                    |
| Imidocarb somente, 2 aplicações com intervalo de 15 dias entre elas  |                         |             |                    |
| Só trato baseado nos resultados dos exames laboratoriais a depender da doença que positivou  |                         |             |                    |
| <b>P7) Você tem algum receio de utilizar o Imidocarb?</b>  |                         |             | <b>&lt;0.0001*</b> |
| 91 (45.3)  | 38.4 a 52.2             |             |                    |
| 61 (30.3)  | 24.0 a 36.7             |             |                    |
| Sim, por isso nunca uso  | 4 (2.0)                 | 0.1 a 3.9   |                    |
| Sim, uso, mas tenho receio pois ja tive paciente (s) que apresentou (aram) efeitos colaterais  |                         |             |                    |
| 42 (20.9)  | 15.3 a 26.5             |             |                    |
| Não tenho, sempre faço sem nenhum problema   | 94 (46.8)               | 39.9 a 53.7 |                    |

| P8) Você tem algum receio de utilizar a Doxiciclina?  |            | <0.0001*   |             |
|---|------------|------------|-------------|
| Sim, pois colegas já relataram que tiveram pacientes com efeitos colaterais                   |            |            |             |
| Sim, uso, mas tenho receio pois ja tive paciente (s) que apresentou (aram) efeitos colaterais |            |            |             |
| 8 (4.0)   | 1.3 a 6.7  |            |             |
| 27 (13.4)   | 8.7 a 18.1 |            |             |
| Não tenho, sempre faço sem nenhum problema  |            | 166 (82.6) | 77.3 a 87.8 |

\*teste aplicado: Qui-Quadrado de aderência.

### Análise da Tabela 5:

**Pergunta 4.** Você sempre faz os exames para Babesiose e Erliquiose concomitantemente(?), resultou no p-valor <0.0001\* (estatisticamente significativa), portanto, houve uma real tendência para alternativa **sempre faço para as duas doenças** (80.6%).

**Pergunta 5.** Na impossibilidade de realizar os exames laboratoriais, mas na suspeita de ser uma hemoparasitose, você trata o paciente(?), resultou no p-valor <0.0001\* (estatisticamente significativa), portanto, houve uma real tendência para alternativa **sim** (47.8%).

**Pergunta 6.** Quais medicações que utiliza para o tratamento de hemoparasitoses(?), resultou no p-valor <0.0001\* (estatisticamente significativa), portanto, houve uma real tendência para alternativa **Doxiciclina + 2 aplicações de imidocarb para Babesiose com intervalo de 15 dias entre elas** (47.3%).

**Pergunta 7.** Você tem algum receio de utilizar o Imidocarb(?), resultou no p-valor <0.0001\* (estatisticamente significativa), portanto, houve uma real tendência para alternativa **Não tenho, sempre faço sem nenhum problema** (46.8%).

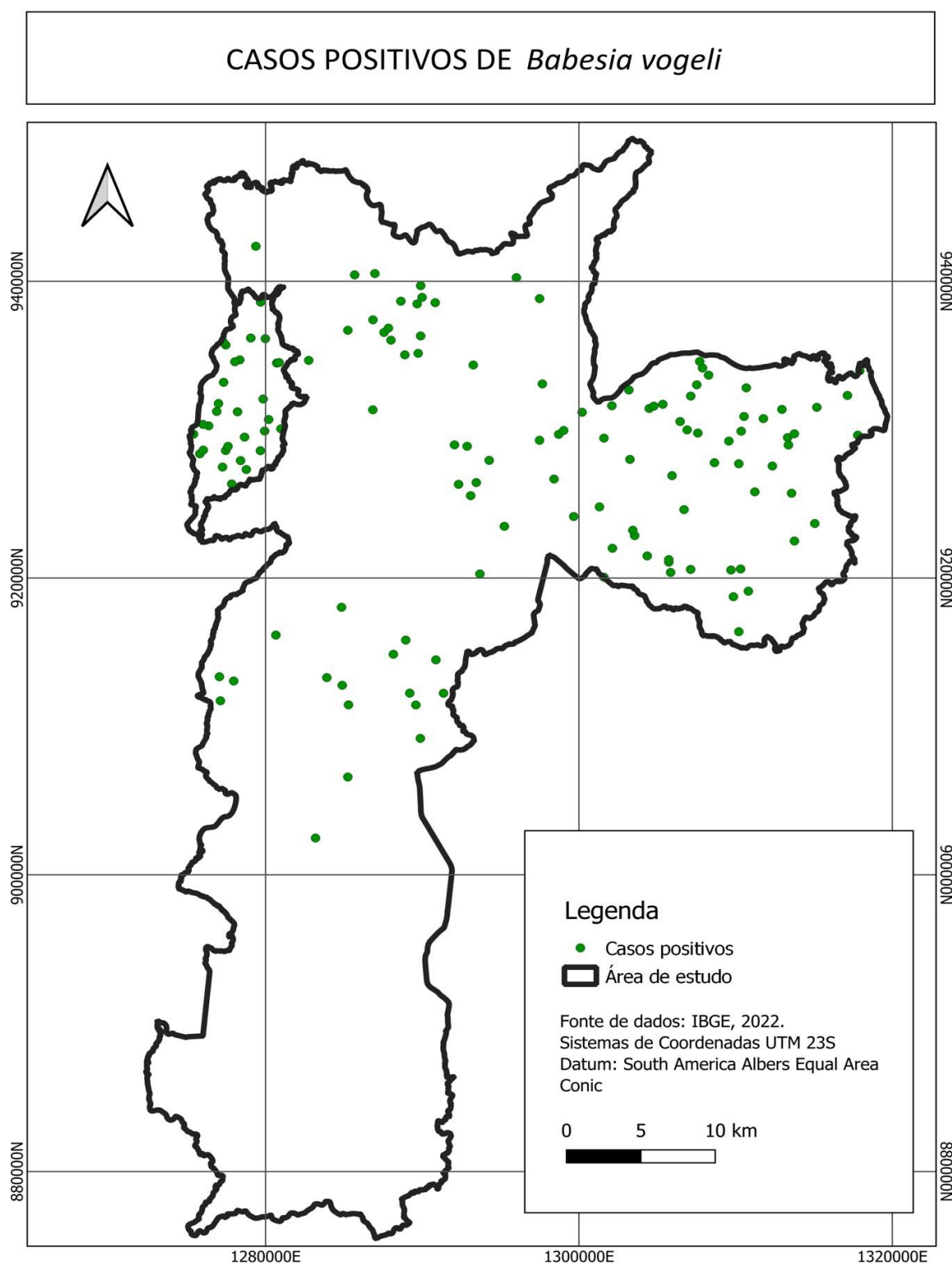
**Pergunta 8.** Você tem algum receio de utilizar a Doxiciclina(?), resultou no p-valor <0.0001\* (estatisticamente significativa), portanto, houve uma real tendência para alternativa **Não tenho, sempre faço sem nenhum problema** (82.6%).

### 9. Mapeamento dos positivos

Os mapas com os animais positivos foram feitos utilizando-se o software Software QGIS, versão 3.28.7.

A figura 11 apresenta a localização de todos os casos positivos para Babesia.

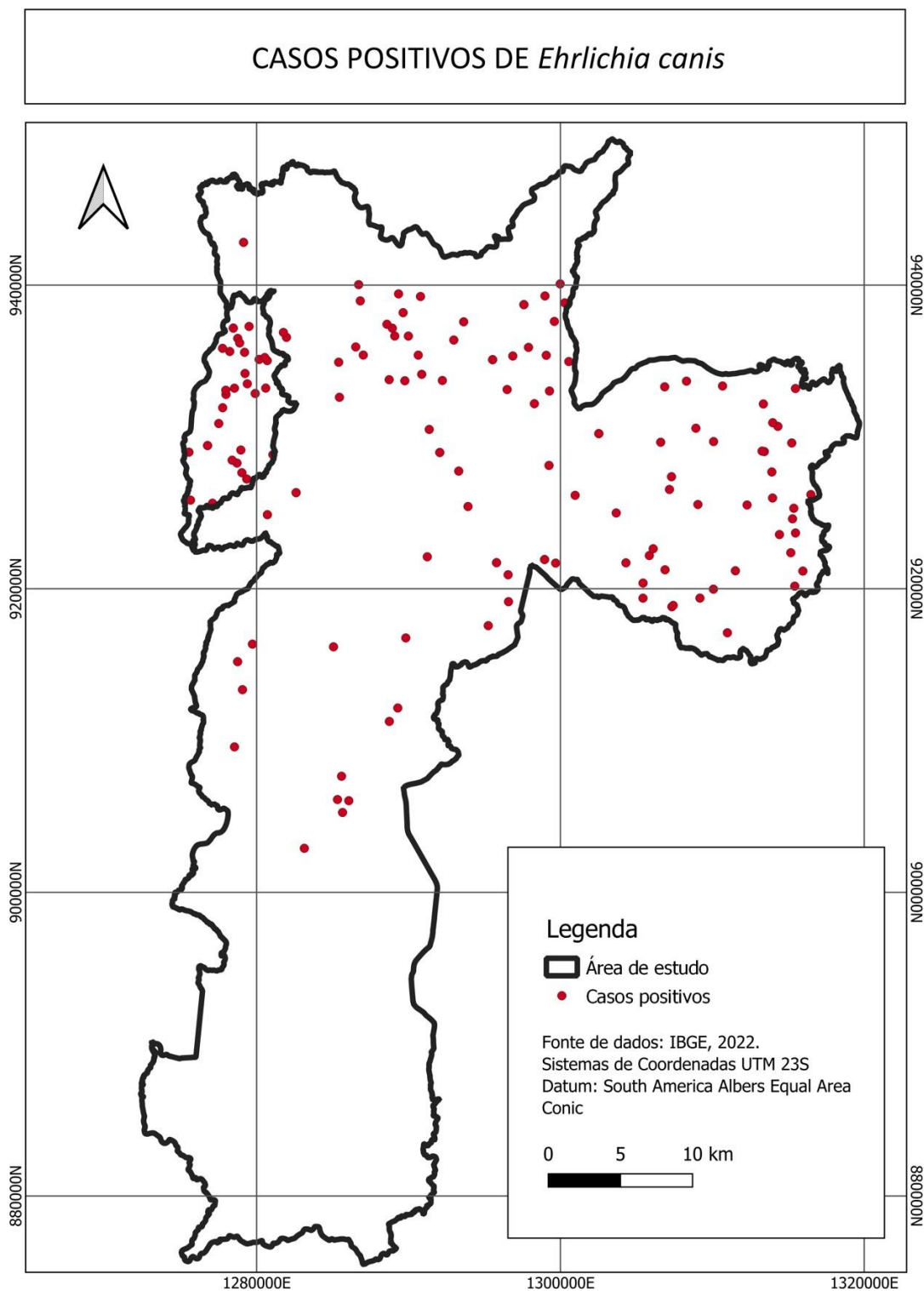
Figura 11 – Casos positivos Babesiose Canina em São Paulo e Osasco



FONTE: IBGE, 2022. Sistemas de Coordenadas UTM 23 S Datum: South America Albers Equal Area Conic

A figura 12 apresenta a localização de todos os casos positivos para Eriiquiose canina em São Paulo e Osasco.

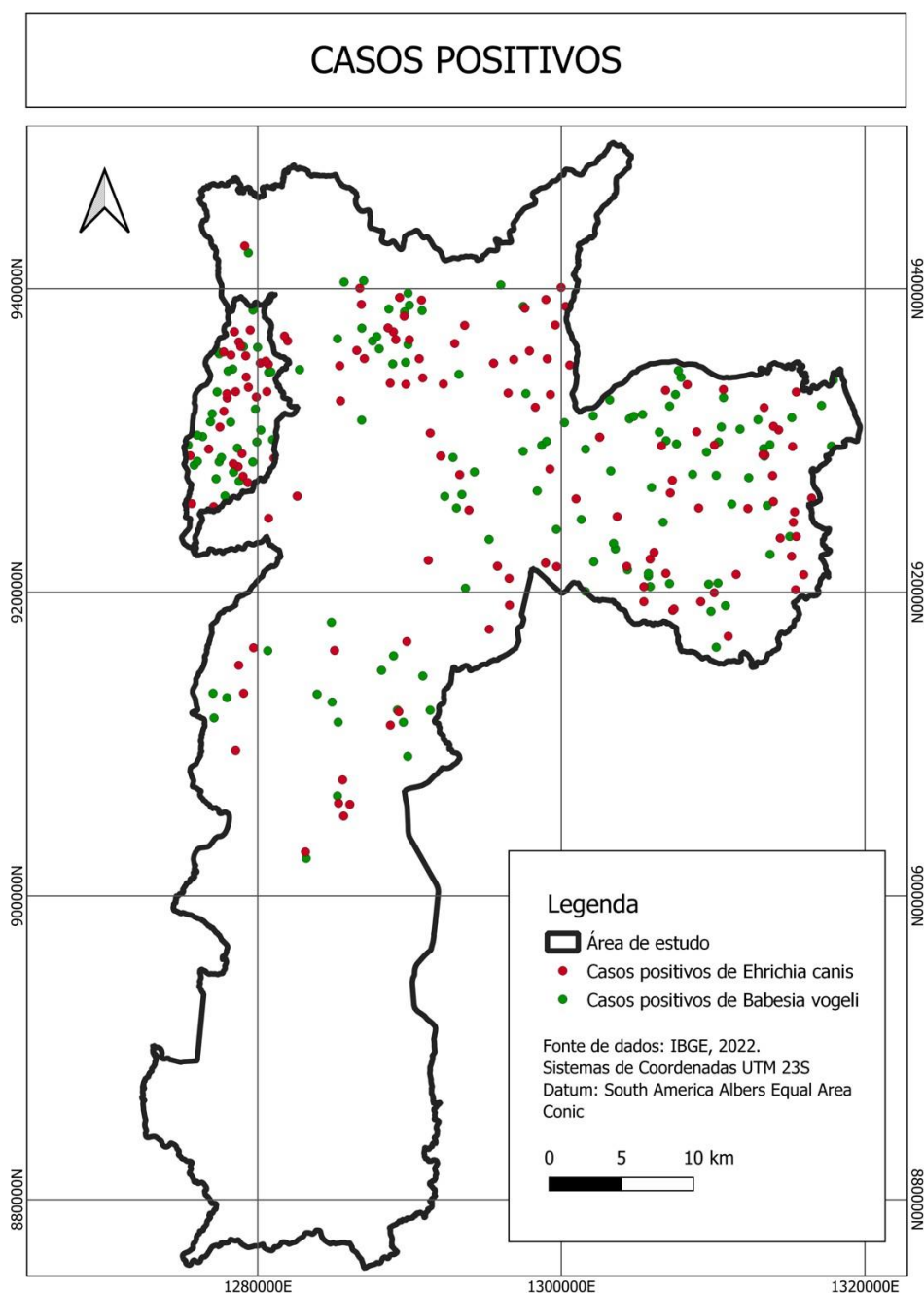
Figura 12– Casos positivos Eriiquiose Canina em São Paulo e Osasco



FONTE: IBGE, 2022. Sistemas de Coordenadas UTM 23S Datum: South America Albers Equal Area Conic

A figura 13 mostra a localização de todos os casos positivos de Babesiose e Erliquiose em conjunto na área de estudo.

Figura 13 - Casos positivos de Babesiose e Erliquiose Canina em São Paulo e Osasco



FONTE: IBGE, 2022. Sistemas de Coordenadas UTM 23S Datum: South America Albers Equal Area Conic

## 10. DISCUSSÃO

Este é o maior estudo epidemiológico de prevalência de infecção por *Babesia vogeli* e *Ehrlichia canis* em cães da cidade de São Paulo e Osasco, esta última está inserida na Grande São Paulo.

Os resultados deste estudo, que demonstraram prevalências de 17,87% para *Ehrlichia canis* e 16,16% para *Babesia vogeli* em cães provenientes dos municípios de São Paulo e Osasco, reforçando a relevância epidemiológica das hemoparasitoses caninas em áreas urbanas e periurbanas de áreas tropicais.

Os resultados obtidos neste estudo estão de acordo com a literatura que relata prevalências variando entre 10% e 25% para ambas as doenças em áreas urbanas e periurbanas do Brasil. Estudos anteriores realizados em estados como Rio de Janeiro (Paulino et al., 2018), Ceará (Fonsêca et al, 2022), Maranhão (Costa et al, 2015), Paraná ( Trapp et al., 2006), Minas Gerais (Maia et al., 2007) também apontam para taxas similares, mostrando a alta incidência de doenças transmitidas por carrapatos em regiões tropicais devido à abundância do vetor *Rhipicephalus linnaei* (Labruna e Pereira, 2001).

No presente estudo, não houve significância estatística entre a prevalência nas regiões Leste, Sul, Norte na cidade de São Paulo e na cidade de Osasco, tanto para *Babesia vogeli*, como para *Ehrlichia canis*, mas em todas as regiões observou-se alta prevalência para ambas as doenças. Isso pode ser explicado pela alta densidade populacional de cães e pela maior interação entre animais e vetores nos bairros específicos onde estes animais residem em cada região.

A cidade de São Paulo é composta por diversas regiões e bairros (Gonçalves; Maeda, 2017). Mello e Sanches (2023) destacaram que áreas urbanas densamente povoadas favorecem a propagação do carrapato *Rhipicephalus linnaei* por ele ter hábitos nidícola, o que aumenta o risco de infecção por hemoparasitas. Esse fator pode ser uma das razões para as taxas elevadas encontradas nestas regiões.

Estudos como o de Trapp et al. (2006) enfatizam o impacto dessas doenças no bem-estar dos cães, além de ressaltarem os desafios do diagnóstico e tratamento devido às coinfeções. Este estudo avaliou a presença de coinfeções para *B. vogeli* e *E. canis* em 8 animais, representando 2,08% de animais.

### 10.1. *Babesia vogeli*

Babesiose canina é um problema crescente em todo o mundo devido à expansão dos habitats de carrapatos e à maior mobilidade dos animais, que promovem a disseminação de parasitas para novas áreas geográficas (Beugnet e Moreau, 2015).

As espécies de *Babesia* spp. são causas importantes de doenças em cães em todo o mundo. Desde o advento dos ensaios de diagnóstico molecular, nossa compreensão do espectro da doença, filogenia e epidemiologia da Babesiose canina aumentou. Uma das maiores mudanças e desafios é o reconhecimento de que as espécies de *Babesia* agora são diagnosticadas em regiões onde não eram detectadas anteriormente. Embora existam relatórios e pesquisas regionais de *Babesia* spp. caninas, esses relatórios geralmente usam diferentes ensaios diagnósticos, o que dificulta as comparações entre regiões (Birkenheuer et al., 2020).

Neste estudo, relatamos os resultados de mais de 1000 amostras testadas para a presença de DNA de *Babesia vogeli* usando um diagnóstico de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) em tempo real.

A comparação dos dados epidemiológicos quando as técnicas de diagnóstico utilizadas adotam metodologias diferentes é limitada, já que a sorologia não diferencia os animais verdadeiramente positivos, pois a pesquisa de anticorpos nos revela apenas se o animal já teve contato com o parasita. Quando um cão é positivo pela sorologia não significa que ele está infectado por *Babesia*. No caso da PCR, sabe-se que os animais positivos realmente estão infectados pelo parasita, independente se em fase aguda da doença ou em estado de portador assintomático. Portanto, como *Babesia* spp. é considerada endêmica em áreas urbanas no Brasil, é de se esperar que os dados obtidos pela RIFI sejam superiores aos obtidos pela PCR.

No presente estudo foram encontrados 197 cães (16,16%) positivos para *Babesia vogeli* pela PCR, essa prevalência foi semelhante ao encontrado em estudos recentes por Castelli et al. (2020) (16,25%), Azevedo et al. (2020), Paulino et al. (2018), na região sudeste do Brasil, e maior que o encontrado em estudos mais antigos por O'Dwyer et al. (2009) (8%). Até onde sabemos, nenhum outro estudo foi feito com cães das mesmas áreas, aos quais nossos resultados possam ser comparados, temos somente o estudo de Batista et al. (2023), realizado com cães da zona sul de São Paulo com uma quantidade bem menor de animais, onde observou-se prevalência de 11,2 % para *B. vogeli*.

## 10.2. *Ehrlichia canis*

A erliquiose monocítica canina é uma das doenças hemoparasitárias mais críticas globalmente, é uma doença emergente transmitida por carrapatos, muito prevalente em animais.

*Ehrlichia canis* foi relatada pela primeira vez no Brasil em 1973 (Costa et al., 1973). Posteriormente, foi relatada acometendo aproximadamente 20% dos cães atendidos em hospitais e clínicas veterinárias de Estados das regiões Nordeste, Sudeste, Sul e Centro-Oeste (Labarthe et al., 2003; Moreira et al., 2003).

Embora a doença seja atualmente descrita em todo o país, os dados de prevalência estão disponíveis apenas para algumas regiões. Os estudos diferem em relação à população, área geográfica, presença do vetor e teste diagnóstico utilizado. Portanto, a comparação de dados epidemiológicos entre os estudos é difícil ou não viável.

No presente estudo foram encontrados 186 cães (17,87%) positivos para *Ehrlichia canis* pela sorologia ELISA, essa prevalência foi semelhante ao encontrado em um estudo mais antigo realizado por Macieira et al. (2005) (15% no Rio de Janeiro), teve menor ocorrência quando comparado aos estudos de Paulino et al. (2018) (24,8% no Rio de Janeiro) e Nakaghi et al. (2008) (70 % em Jaboticabal, município do estado de São Paulo) mostrando que no Sudeste do Brasil a prevalência varia conforme a região e a população estudada.

Embora esses estudos forneçam informações valiosas, é importante notar que a maioria das pesquisas mais recentes sobre a prevalência de *E. canis* no Brasil tem se concentrado em outras regiões, como o Sul e o Nordeste. Portanto, há uma necessidade de estudos mais atualizados e específicos para o Sudeste do Brasil para compreender melhor a distribuição e a prevalência dessa doença na região.

Neste estudo deu-se preferência em utilizar o teste sorológico ELISA para detecção de anticorpos anti-*Ehrlichia canis* como método de diagnóstico, sendo o teste sorológico uma importante ferramenta para obtenção de informações epidemiológicas. Muitos autores descreveram a sensibilidade e especificidade superiores da PCR no diagnóstico de erliquiose quando comparada à sorologia (Iqbal et al, 1994; Wen et al., 1997) porque a sorologia não consegue distinguir a infecção atual da exposição sem o estabelecimento de infecção ou infecção prévia (Iqbal et al., 1994), e os títulos permaneceram altos por um período adicional de mais de 11 meses (Harrus et al., 1998a). Mas se pegarmos um estudo de Carlos et al. (2007) onde utilizando dot-ELISA, uma

prevalência de *E. canis* de 36% foi encontrada em uma população hospitalar na microrregião de Ilhéus-Itabuna, estado da Bahia, nordeste do Brasil e quando utilizaram PCR, apenas 7,8% dos cães dessa mesma população hospitalar tinham DNA de *E. canis* no sangue nessa mesma microrregião (Carvalho et al., 2008), corrobora com o falado anteriormente onde resultados negativos de PCR podem ser explicados pela capacidade deste parasita de “se esconder” em macrófagos esplênicos (Harrus et al., 1998a).

Segundo Nakaghi et al. (2008) a sorologia é o teste mais adequado para o diagnóstico da infecção natural por *E. canis* em cães, especialmente na fase crônica, quando *E. canis* é raro no sangue circulante.

No que tange a respeito entre a sorologia RIFI e o ELISA, na escolha de um em detrimento do outro, um estudo de Nakaghi et al. (2008) não observou diferença estatística na comparação entre os resultados do RIFI e do ELISA. Estudos anteriores demonstraram maior sensibilidade do ELISA quando comparado ao RIFI, embora ambos os métodos sejam qualitativamente eficientes na detecção de anticorpos anti-*E. canis* (Cadman et al., 1994; OLIVEIRA et al., 2000; HARRUS et al., 2002). Em outro estudo de Harrus et al. (2002) três kits ELISA diferentes foram comparados com o teste RIFI na detecção de anticorpos IgG anti-*E. canis*, quando os resultados qualitativos foram comparados, houve uma concordância geral de 74,6% entre o teste RIFI e os três testes ELISA concluindo que os kits ELISA são específicos e sensíveis.

### **10.3. Conduta do médico veterinário**

Cães doentes com histórico de exposição a vetores devem ser submetidos a exames que confirmem o agente etiológico, como citologia, sorologia ou métodos moleculares (De Caprariis et al., 2011). Entretanto, muitas são as limitações quanto à disponibilidade dessas técnicas diagnósticas, já que a maioria exige mão-de-obra e/ou equipamento laboratorial especializado (Dantas-Torres e Figueredo, 2006). Esta situação tem estimulado médicos veterinários a recorrer a exames hematológicos e bioquímicos para dar suporte à suspeita clínica de doenças transmitidas por carrapatos, apesar das alterações detectadas por estes exames serem frequentemente imprevisíveis (Otranto et al., 2009). Este comportamento adotado pelos clínicos veterinários pode levar a diagnóstico etiológico incorreto e prescrição de terapêutica ineficaz. Para avaliar a conduta dos médicos veterinários foi realizado esse onde os resultados demonstraram uma concentração significativa de respondentes na região Sudeste do Brasil (71,6%, IC 95%: 65,4 – 77,9;  $p < 0,0001$ ), destacando a predominância dessa região na participação do estudo.

Em relação aos critérios utilizados para suspeitar de hemoparasitoses, 88,1% dos profissionais indicaram que consideram simultaneamente o histórico do paciente, sinais clínico e sintomas, reforçando a abordagem multifatorial na tomada de decisão clínica ( $p < 0,001$ ). No que diz respeito à realização de exames laboratoriais 65,2 % afirmaram sempre realizar exames, mesmo que os sinais e sintomas sejam compatíveis com hemoparasitoses, enquanto 33,3% mencionaram que a decisão depende da condição financeira do tutor ( $p < 0,0001$ ).

Entre os exames solicitados, observou-se uma prevalência significativa de sorologia para *Ehrlichia canis*, sendo mencionada por 72,1 % dos participantes (IC 95%: 65,9 – 78,3;  $p < 0,0001$ ), seguida pela PCR para *Babesia vogeli* com 33,8 % de preferência (IC 95%: 27,3 – 40,4;  $p = 0,0437$ ). Os dados demonstram uma real tendência para o uso de exames laboratoriais entre profissionais que atribuem importância ao diagnóstico laboratorial. A sorologia, particularmente para *Ehrlichia canis*, é amplamente utilizada, contudo, a PCR destaca-se como uma ferramenta essencial, especialmente para o diagnóstico de *Babesia canis*, reforçando a necessidade de métodos precisos para confirmar suspeitas clínicas (Nakaghi et al., 2008; Solano; Baneth, 2011). A significância estatística observada ( $p < 0,05$ ) em todas as variáveis indica que a adesão ao diagnóstico laboratorial está diretamente associada à escolha de exames específicos. Esta prática reflete a conscientização dos veterinários sobre a importância de diagnósticos confirmatórios para tratamentos direcionados, reduzindo riscos de terapias empíricas inadequadas.

Quando questionados sobre o manejo de casos suspeitos na ausência de exames laboratoriais, 47,8% dos veterinários indicaram que tratam os pacientes, enquanto 33,3% relataram que essa decisão depende das condições clínicas do paciente. A menor frequência de respostas foi "Não trata" (2,5%). O teste estatístico demonstrou significância ( $p < 0,0001$ ), indicando uma forte inclinação para o tratamento, independentemente da confirmação laboratorial. Esse comportamento reflete a preocupação dos profissionais em evitar agravamento clínico.

A prática de tratamento empírico, embora frequentemente necessária em condições de baixa disponibilidade diagnóstica, deve ser acompanhada de diretrizes claras para minimizar os riscos associados ao uso excessivo ou inadequado de medicamentos. Isso inclui o monitoramento de efeitos colaterais e a conscientização sobre o uso racional de antibióticos e antiparasitários, corroborando com o que Irwin (2009) aborda, que a limitação no acesso a diagnósticos laboratoriais pode levar à dependência de tratamentos empíricos em regiões endêmicas, mas destaca a relevância de protocolos baseados em eficácia clínica comprovada.

A abordagem de Saúde Única (One Health) enfatiza a interconexão entre a saúde humana, animal e ambiental, destacando a necessidade de práticas clínicas e terapêuticas responsáveis na medicina veterinária. Nesse contexto, a administração empírica de medicamentos para o tratamento de *Babesia vogeli* e *Ehrlichia canis* sem um diagnóstico preciso levanta preocupações significativas.

A babesiose e a erliquiose canina compartilham sinais clínicos inespecíficos, como febre, letargia e anemia, o que dificulta o diagnóstico clínico sem a confirmação laboratorial. A utilização indiscriminada de fármacos, como doxiciclina para *E. canis* e dipropionato de imidocarb para *B. vogeli*, sem testes confirmatórios, pode favorecer a emergência de cepas resistentes. Essa resistência compromete o tratamento futuro desses patógenos em cães, podem desempenhar um papel na disseminação de agentes patogênicos.

Portanto, integrar princípios da Saúde Única à prática veterinária implica adotar medidas que promovam o diagnóstico preciso antes do tratamento. Essa abordagem fortalece a resistência global contra ameaças emergentes, reduz o impacto ecológico da administração inadequada de medicamentos e garante a segurança da interface humano-animal-ambiente. A adoção de diretrizes internacionais para o uso de antimicrobianos em veterinária, juntamente com campanhas de conscientização sobre a importância do diagnóstico laboratorial, é fundamental para mitigar os efeitos adversos do tratamento empírico e preservar a eficácia terapêutica a longo prazo.

Entre os medicamentos mais empregados, a associação de doxiciclina com duas aplicações de imidocarb para Babesiose, com intervalo de 15 dias, destacou-se como a prática predominante (47,3%), estando de acordo com a literatura (Harrus, 2015; Irwin, 2019; Köster; Lobetti; Kelly, 2015). A doxiciclina isolada foi utilizada em apenas 7,0% dos casos, enquanto o imidocarb isolado teve uma ocorrência mínima de 0,5%. Ademais, 45,3% dos profissionais relataram basear o tratamento exclusivamente nos resultados dos exames laboratoriais. O p-valor significativo ( $p < 0,0001$ ) sugere uma preferência por tratamentos mais amplos e consistentes para lidar com suspeitas de hemoparasitoses.

Entre os profissionais que tratam pacientes sem confirmação diagnóstica laboratorial, 58,3% utilizam a combinação de doxiciclina para erliquiose e duas aplicações de imidocarb para babesiose, com intervalo de 15 dias entre as doses. Essa abordagem destaca-se como a prática predominante, refletindo o protocolo terapêutico mais amplamente aceito na literatura para hemoparasitoses em pequenos animais (Mylonakis; Theodorou, 2017). Em contrapartida, 34,4% optam por tratar exclusivamente com base

nos resultados laboratoriais quando disponíveis, e 6,3% utilizam apenas a doxiciclina.

Ao analisar a segurança percebida no uso dos medicamentos, a doxiciclina apresentou uma aceitação significativamente maior (82,6% dos profissionais indicaram não ter receios) em comparação ao imidocarb (46,8%). Há uma ampla aceitação da doxiciclina no manejo de hemoparasitoses em pequenos animais, com poucos profissionais relatando receios quanto ao seu uso. Em contrapartida, 27,4% relataram receio de utilizar imidocarb devido a relatos de efeitos colaterais e 15,8% apontaram experiências negativas com pacientes. Essa distribuição reflete a confiança da maioria dos profissionais na segurança e eficácia do protocolo, apesar de um percentual significativo reportar precauções.

Entre os que utilizam apenas doxiciclina, 28,6% indicaram não ter receio do uso do imidocarb, enquanto 28,6% relataram receios baseados em relatos de outros profissionais. Embora a amostra desse grupo seja pequena, esses dados sugerem que a escolha por doxiciclina isolada pode estar associada à precaução em relação ao uso de imidocarb, mesmo em situações em que ele seria indicado. A escolha por doxiciclina isolada ou tratamentos baseados exclusivamente em exames laboratoriais também reflete a busca por maior segurança e precisão diagnóstica. No entanto, essas práticas podem limitar a eficácia em casos de Babesiose, onde o imidocarb é considerado o tratamento de escolha (Irwin, 2010).

Os resultados mostram que a percepção de segurança em relação ao uso do imidocarb impacta diretamente as decisões terapêuticas no manejo de hemoparasitoses. Relatos de efeitos adversos, como toxicidade hepática e reações alérgicas podem acontecer como citado por Birkenheuer; Levi; Breitschwerdt (1999); Irwin; Hutchinson (1991); Bilic et al. (2018) que relataram reações adversas graves, incluindo hipersensibilidade, sinais de toxicidade hepática, reações locais no local de injeção, vômitos, anorexia, elevações nas enzimas hepáticas e reações alérgicas especialmente em cães predispostos.

## 11. CONCLUSÃO

A elevada prevalência de *Ehrlichia canis* e *Babesia vogeli* em São Paulo e Osasco ressalta a necessidade de políticas públicas voltadas à saúde animal, especialmente em áreas de maior prevalência, se faz necessário medidas preventivas, necessidade de estratégias de controle integradas, como o manejo do vetor, campanhas de

conscientização e melhorias no acesso à medicina veterinária preventiva em áreas de maior vulnerabilidade socioeconômica.

Os dados apresentados refletem a conscientização dos veterinários sobre a importância de diagnósticos confirmatórios para tratamentos direcionados, com exames mais certos, sugerem que eles priorizam o tratamento das hemoparasitoses mesmo em contextos de incerteza diagnóstica, o que pode ser influenciado pela gravidade potencial dessas doenças. A associação da doxiciclina com imidocarb prevalece como estratégia terapêutica principal, indicando um consenso sobre a eficácia desse protocolo. Entretanto, a disparidade na percepção de segurança entre os dois medicamentos reflete a necessidade de mais estudos e diretrizes claras para garantir maior confiança no manejo terapêutico.

Essa análise revela aspectos cruciais das condutas clínicas e destaca a necessidade de integrar ferramentas diagnósticas acessíveis e protocolos terapêuticos seguros, otimizando o manejo de hemoparasitoses em pequenos animais.

No geral, este estudo contribui com informações valiosas que podem melhorar significativamente o manejo da erliquiose e da babesiose canina em ambientes clínicos e veterinários. Ao disseminar este conhecimento, esperamos promover uma melhor sensibilização, diagnóstico e tratamento das doenças, melhorando, em última análise, o bem-estar geral dos cães em todo o mundo.

## REFERÊNCIAS

ABDULLAHI, S.U. et al. Clinical and haematological findings in 70 naturally occurring cases of canine babesiosis. **Journal of Small Animal Practice**, Oxford, v.31, p.145–147, 1990.

ADACHI, K., TATEISHI, M., HORII, Y., NAGATOMO, H., SHIMIZU, T., MAKIMURA, S. Elevated erythrocyte-bound IgG value in dogs with clinical *Babesia gibsoni* infection. **J. Vet. Med. Sci.** 56, 757–759, 1994.

American Veterinary Medical Association (AVMA) . Disponível em: <https://www.avma.org/search?search=one+health>. Acesso em: 15 de janeiro de 2024.

AGUIAR, D. M. Eriquioses. In: Jericó, M. M.; Neto, J. P. A.; Kogika, M. M. Tratado de Medicina interna de Cães e Gatos. Rio de Janeiro: **Grupo GEN**, Pág. 839 – 846. E – book, 2023.

AZEVEDO, R.C.F.; CASTELLI, G. S.N.; SILVA, R.E.; COSTA, J.O.J.; TONHOSOLO, R.; REIS, E.A.; MORAES-FILHO, J.; MARCILI, A. Levantamento de protozoários transmitidos por vetores em cães de um fragmento de Mata Atlântica nos arredores da Barragem Billings, São Paulo, Brasil. **Cienc Rural**. 2020;50(9):e20200262. <http://dx.doi.org/10.1590/0103-84ba78cr20200262>.

AYOUB, A.L., HACKNER, S.G., PRITTIE, J. Clinical management of canine babesiosis. **J. Vet. Emerg. Crit. Care** (San Antonio) 20, 77–89, 2010. DOI: [10.1111/j.1476-4431.2009.00489.x](https://doi.org/10.1111/j.1476-4431.2009.00489.x)

BANETH, G. *Babesia* of Domestic Dogs. In: Florin-Christensen, M., Schnittger, L. (eds) **Parasitic Protozoa of Farm Animals and Pets**. Springer, Cham, 2018a [https://doi.org/10.1007/978-3-319-70132-5\\_10](https://doi.org/10.1007/978-3-319-70132-5_10)

BANETH, G. Antiprotozoal treatment of canine babesiosis. **Vet Parasitol.** 30:254:58-63, 2018b DOI: [10.1016/j.vetpar.2018.03.001](https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2018.03.001)

BATISTA, T. F., CORTEZ, A., LABRUNA, M.B., NASCIMENTO, D. P. B., LOPES, R. D., MORAES-FILHO, J. Dogs naturally infected by *Rangelia vitalii*, *Babesia canis vogeli*, and *Ehrlichia canis* in São Paulo, Brazil / Cães naturalmente infectados por *Rangelia vitalii*, *Babesia canis vogeli*, e *Ehrlichia canis* em São Paulo, Brasil **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci. (Online)** ; 60: e200761, 2023.

BERRADA, Z.L., TELFORD 3rd, S.R. Burden of tick-borne infections on American companion animals. **Top. Companion Anim. Med.** 24,175–181, 2009.

BEUGNET F, LEBON W, DE VOS C. Prevention of the transmission of *Babesia rossi* by *Haemaphysalis elliptica* in dogs treated with Nexgard®. **Parasite**, 26:49, 2019 [https://doi: 10.1051/parasite/2019051](https://doi.org/10.1051/parasite/2019051)

BILIC, P.; KULES, J.; BARIC, R. R.; MRLJAK, V. CANINE BABESIOSIS: WHERE DO WE STAND? **Acta Veterinaria-Beograd**, 68 (2), 127-160, 2018 DOI: 10.2478/acve-2018-0011

BIRKENHEUER, A. J.; LEVY, M. G.; BREITSCHWERDT, E. B. Toxicosis associated with imidocarb dipropionate in three dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**. V. 215 (4), pag. 497 – 500, 1999.

BIRKENHEUER, A. J., BUCH, J., BEALL, M. J., BRAFF, J., & CHANDRASHKAR, R. (2020). Global distribution of canine *Babesia* species identified by a commercial diagnostic laboratory. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, 2020 doi:10.1016/j.vprsr.2020.100471

BRANDÃO, L.P.; HAGIWARA, M.K. Babesiose Canina: Revisão. **Clínica Veterinária**, São Paulo, n.41, p. 50-59, 2002.

BRANGER, S., ROLAIN, J.M., RAOULT, D. Evaluation of antibiotic susceptibilities of *Ehrlichia canis*, *Ehrlichia chaffeensis*, and *Anaplasma phagocytophilum* by real-time PCR. **Antimicrob. Agents Chemother.** 48, 4822–4828, 2004. DOI: [10.1128/AAC.48.12.4822-4828.2004](https://doi.org/10.1128/AAC.48.12.4822-4828.2004)

BREMER, W.G., SCHAEFER, J.J., WAGNER, E.R., EWING, S.A., RIKIHISA, Y., NEEDHAM, G.R., JITTAPALAPONG, S., MOORE, D.L., STICH, R.W.. Transstadial and intrastadial experimental transmission of *Ehrlichia canis* by male *Rhipicephalus sanguineus*. **Vet. Parasitol.** 131, 95–105, 2005 DOI: [10.1016/j.vetpar.2005.04.030](https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2005.04.030)

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

BUHLES Jr., W.C., HUXSOLL, D.L., RISTIC, M. Tropical canine pancytopenia: clinical, hematologic, and serologic response of dogs to *Ehrlichia canis* infection, tetracycline therapy, and challenge inoculation. **J. Infect. Dis.** 130, 357–367, 1974.

CADMAN, H. F., KELLY, P. J., MATTHEWMAN, L. A., ZHOU, R., MASON, P.R. Comparison of the dot-blot enzyme linked immunoassay with immunofluorescence for detecting antibodies to *Ehrlichia canis*. **Vet Rec**;135(15):362, 1994. <http://doi:10.1136/vr.135.15.362>

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

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

CASTELLI, G. S. N.; AZEVEDO, R. C. F.; SILVA, R. E.; COSTA, J. O. J.; TONHOSOLO, R.; MORAES-FILHO, J.; MARCILI, A. Detecção molecular de *Leishmania infantum*, *Babesia vogeli* e *Rangelia vitalii* em cães do município de Embú-Guaçú no entorno da represa Guarapiranga, São Paulo . **Braz. J. of Develop.**, Curitiba, v. 6, n. 6, p.35577-35585, jun. 2020. DOI:10.34117/bjdv6n6-191

CAVALLERI, D., MURPHY, M., SEEWALD, W., DRAKE, J., NANCHEN, S. Two randomized, controlled studies to assess the efficacy and safety of lotilaner (Credelio™) in preventing *Dermacentor reticulatus* transmission of *Babesia canis* to dogs. **Parasit Vectors**. 2017 Nov 1;10(1):520, 2017. [https://doi: 10.1186/s13071-017-2473-1](https://doi.org/10.1186/s13071-017-2473-1)

CHANDRASHEKAR, R., DANILUK, D., MOFFITT, S., LORENTZEN, L., WILLIAMS, J. Diagnóstico sorológico da borreliose equina: avaliação de um ensaio imunoenzimático clínico (SNAP® 4Dx®). **International Journal of Applied Research in Veterinary Medicine**, Vol. 6, No. 3, 145-150, 2008.

COSTA, J. O., BATISTA Jr, J. A., SILVA, M., GUIMARÃES, M. D. *Ehrlichia canis* infection in dog in Belo Horizonte – Brazil. **Arquivo da Escola de Veterinária**, v. 25, p. 199-200, 1973.

COSTA, A.P.; COSTA, F.B.; LABRUNA, M.B.; SILVEIRA, I.; MORAES-FILHO, J.; SOARES, J.F.; et al. A serological and molecular survey of *Babesia vogeli*, *Ehrlichia canis* and *Rickettsia* spp. among dogs in the state of Maranhão, northeastern Brazil. **Rev Bras Parasitol Vet** ,24(1): 28-35, 2015 PMid:25909250.  
» <http://dx.doi.org/10.1590/S1984-29612015008>

CORDUNEANU, A.; URSACHE, T; TAULESCU, M.; SEVASTRE, B.; MODRY, D.; MIHALCA, A. Detection of DNA of *Babesia canis* in tissues of laboratory rodents following oral inoculation with infected ticks. **Parasites and Vectors**, 1-7, 13 (1), 2020. <https://doi.org/10.1186/s13071-020-04051-z>

DAGNONE, A.S.; MORAIS, H.S.A.; VIDOTTO, M.C. 2003. Ehrlichiosis in anemic, thrombocytopenic, or tick-infested dogs from a Hospital population in South Brazil. **Vet. Parasitol**. 117, 285–290 DOI: [10.1016/j.vetpar.2003.10.001](https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2003.10.001)

DANTAS-TORRES, F. e FIGUEREDO, L. Canine babesiosis: A Brazilian perspective. **Veterinary Parasitology**, 197–203,141 (3-4), 2006. Doi: [10.1016/j.vetpar.2006.07.030](https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2006.07.030)

DANTAS-TORRES, F. The brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae): from taxonomy to control. **Vet Parasitol.** 152 (3-4): 173-85, 2008. DOI: [10.1016/j.vetpar.2007.12.030](https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2007.12.030)

DANTAS-TORRES, F.; MAIA, C.; LATROFA, M. S.; ANNOSCIA, G.; CARDOSO, L.; OTRANTO, D. Genetic characterization of *Rhipicephalus sanguineus* (*sensu lato*) ticks from dogs in Portugal. **Parasites & Vectors**, 10:133, 2017. <https://doi.org/10.1186/s13071-017-2072-1>

DANTAS-TORRES, F., ALVES, L.C., UILENBERG, G. Babesiose. In: Marcondes, C. (eds) **Doenças Transmitidas por Artrópodes**. Springer, Cham, 2017 [https://doi.org/10.1007/978-3-319-13884-8\\_21](https://doi.org/10.1007/978-3-319-13884-8_21)

DAY, M.J. One health: the importance of companion animal vector-borne diseases. **Parasites Vectors** 4, 49, 2011. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-4-49>

DE CAPRARIIS, D. et al. Evolution of clinical, haematological and biochemical findings in young dogs naturally infected by vectorborne pathogens. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v.149, p.206-212, 2011.

DOYLE, C.K.; LABRUNA, M.B.; BREITSCHWERDT, E.B.; TANG, Y.W.; CORSTVET, R.E.; HEGARTY, B.C.; BLOCH, K.C.; LI, P.; WALKER, D.H.; MCBRIDE, J.W. Detection of medically important Ehrlichia by quantitative multicolor TaqMan real-time polymerase chain reaction of the dsb gene. *J Mol Diagn.* Oct;7(4):504-10, 2005. doi: 10.1016/S1525-1578(10)60581-8.

DRYDEN, M. W, PAYNE, P.A. Biology and control of ticks infesting dogs and cats in North America. **Vet Ther**;5(2):139–54, 2004.

DUMLER, J. S., BARBET, A. F.; BEKKER, C. P.; DASCH, G. A.; PALMER, G. H.;

RAY, S. C.; RIKIHISA, Y.; RURANGIRWA, F. R. Reorganization of genera in the families Rickettsiaceae and Anaplasmataceae in the order Rickettsiales: unification of some species of *Ehrlichia* with *Anaplasma*, *Cowdria* with *Ehrlichia* and *Ehrlichia* with *Neorickettsia*, descriptions of six new species combinations and designation of *Ehrlichia equi* and 'HGE agent' as subjective synonyms of *Ehrlichia phagocytophila*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 51, n. 6, p.2145-2165, 2001. DOI: [10.1099/00207713-51-6-2145](https://doi.org/10.1099/00207713-51-6-2145)

FONSÊCA, A.D.V.; OLIVEIRA, L.M.B.; JORGE, F.R.; CAVALCANTE, R.O.; BEVILAQUA, C.M.L.; PINTO, F.J.M., et al. Occurrence of tick-borne pathogens in dogs in a coastal region of the state of Ceará, northeastern Brazil. **Braz J Vet Parasitol**; 31(1): e021321, 2022. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612022010>

FOURIE, J. J., STANNECK, D., LUUS, H. G., BEUGNET, F., WIJNVELD, M., JONGEJAN, F. Transmission of *Ehrlichia canis* by *Rhipicephalus sanguineus* ticks feeding on dogs and on artificial membranes. **Veterinary Parasitology**. Volume 197 (3–4), p. 595-603, 2013. <https://doi:10.1016/j.vetpar.2013.07.026>

FURLANELLO, T. et al. Clinicopathological findings in naturally occurring cases of babesiosis caused by large form *Babesia* from dogs of northeastern Italy. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam v.134, p.77–85, 2005

GEURDEN, T., SIX, R., BECSKEI, C. et al. Avaliação da eficácia do sarolaner (Simparic®) na prevenção da babesiose em cães. **Parasites Vectors** 10 , 415, 2017. <https://doi.org/10.1186/s13071-017-2358-3>

GIBBS, S.E.J., GIBBS, E.P.J. The Historical, Present, and Future Role of Veterinarians in One Health. In: Mackenzie, J., Jeggo, M., Daszak, P., Richt, J. (eds) One Health: The Human-Animal-Environment Interfaces in Emerging Infectious Diseases. **Current Topics in Microbiology and Immunology**, vol 365. Springer, Berlin, Heidelberg, 2012. [https://doi.org/10.1007/82\\_2012\\_259](https://doi.org/10.1007/82_2012_259)

GIRARDI, A.F., CAMPOS, A.N., PESCADOR, C.A., DE ALMEIDA, A.B.P.F., MENDONÇA, A.J., NAKAZATO, N., DE OLIVEIRA, A.C.S., SOUSA, V.R.F. Quantitative analysis of bone marrow in pancytopenic dogs. **Semin. Cienc. Agrar.** 38, 3639–3646, 2017 <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2017v38n6p3639>

GONÇALVES, A. F.; MAEDA, M. T. IDH e a dinâmica intraurbana na cidade de São Paulo. **Insumos para políticas públicas a partir da análise do IDHM e do IVS de municípios e Unidades da Federação brasileira, livro 1**. Cap. 6., 2017.

GROVES, M.G, DENNIS, G.L., AMYX, H.L. Transmission of Ehrlichia canis to dogs by ticks (*Rhipicephalus sanguineus*). **Am J Vet Res** ;36(7):937–40, 1975.

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

HARRUS, S. et al. Amplificação de DNA ehrlichial de cães 34 meses após infecção com *Ehrlichia canis*. **J Clin Microbiol** , v.36, n.1, p.73-76, 1998a.

HARRUS, S., OFRI, R., AIZENBERG, I., et al. Acute blindness associated with monoclonal gammopathy induced by *Ehrlichia canis* infection. **VetParasitol** 1998;78(2):155–60, 1998b. DOI: [10.1016/s0304-4017\(98\)00132-0](https://doi.org/10.1016/s0304-4017(98)00132-0)

HARRUS, S., ALLEMAN, A.R., BARK, H., MAHAN, S.M., WANER, T. Comparison of three enzyme-linked immunosorbant assays with the indirect immunofluorescent antibody test for the diagnosis of canine infection with Ehrlichia canis. **Veterinary Microbiology** 86, 361–368, 2002. [https://doi.org/10.1016/S0378-1135\(02\)00022-6](https://doi.org/10.1016/S0378-1135(02)00022-6)

---

HARRUS, S., KENNY, M., MIARA, L., AIZENBERG, I., WANER, T., SHAW, S. Comparison of simultaneous splenic sample PCR with blood sample PCR for diagnosis and treatment of experimental Ehrlichia canis infection. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy** 48, 4488–4490, 2004. DOI: [10.1128/AAC.48.11.4488-4490.2004](https://doi.org/10.1128/AAC.48.11.4488-4490.2004)

HARRUS, S., & WANER, T. Diagnosis of canine monocytotropic ehrlichiosis (*Ehrlichia canis*): An overview. **The Veterinary Journal**, 187(3), 292–296, 2011. <http://doi:10.1016/j.tvjl.2010.02.001>

HARRUS, S., WANER, T., NEER, M. *Ehrlichia canis* infection, Infectious Diseases of the Dog and Cat. Fourth edn. **Elsevier Saunders**, St. Louis, MI, USA, pp. 227–238, 2012.

HARRUS, S.; WANER, T.; NEER, T. M. Infecção por Ehrlichia canis. In: Greene, Craig e. **Doenças Infecciosas em Cães e Gatos**. Rio de Janeiro: Grupo GEN, pág. 238 – 249. E-book, 2015.

HARRUS, S. Perspectives on the pathogenesis and treatment of canine monocytic ehrlichiosis (Ehrlichia canis). **The Veterinary Journal**. 204, 239 – 240, 2015.

HEGARTY, C. B.; DINIZ, P. P. V. P.; BRADLEY, J. M.; LORENTZEN, L.; BREITSCHWERDT, E. Clinical relevance of annual screening using a commercial enzyme-linked immunosorbent assay (SNAP 3Dx) for canine ehrlichiosis. **J Am Anim Hosp Assoc**. 45 (3): 118-24, 2009. DOI: [10.5326/0450118](https://doi.org/10.5326/0450118)

HEID, C. A.; STEVENS, J.; LIVAK, K.J.; WILLIAMS, P.M. PCR quantitativa em tempo real. **Revista de Genética em Ciências Biológicas**, 6, 986–994, 1996.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Malha Municipal. Brasil, 2022. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/geociencias/organizacao-do-territorio/malhas-territoriais/15774-malhas.html>>. Acesso em: 30 de outubro de 2023.

IQBAL, Z. et al. Comparação de PCR com outros testes para diagnóstico precoce de ehrlichiose canina. **J Clin Microbiol**, v.32, n.7, p.1658-1662, 1994.

IRWIN, P. J.; HUTCHINSON, G. W. Clinical and pathological findings of Babesia infection in dogs. **Aust Vet J**. 68(6):204-9, 1991. doi: 10.1111/j.1751-0813.1991.tb03194.x.

---

IRWIN, P. J. Babesiose canina: da taxonomia molecular ao controle. **Parasitas Vetores** 2 (Suppl 1), S4,2009. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-2-S1-S4>

---

IRWIN, P. J. Canine Babesiosis. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, 40(6), 1141–1156, 2010. DOI: 10.1016/j.cvsm.2010.08.001

ISOLA, J. G. M. P., CADIOLI, F. A., & NAKAGE, A. P. Importância da avaliação hematológica e sorológica (dot-blot ELISA) no diagnóstico de erliquiose em cães. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, 9(18), 1-12, 2010. [Http://doi:11449/133598](http://doi:11449/133598)

JACOBSON, L.S., The South African form of severe and complicated canine babesiosis: clinical advances 1994–2004. **Vet. Parasitol.** 138,126–139, 2006.

JENKINS, S., KETZIS, J.K., DUNDAS, J., SCORPIO, D. Efficacy of minocycline in naturally occurring nonacute *Ehrlichia canis* infection in dogs. **J. Vet. Intern. Med.**32, 217–221, 2018. doi: [10.1111/jvim.14842](https://doi.org/10.1111/jvim.14842)

JOHNSON, E.M., EWING, S.A., BARKERa, R.W., FOX, J.C., CROW, D.W., KOCAN, K.M. Experimental transmission of *Ehrlichia canis* (Rickettsiales: Ehrlichieae) by *Dermacentor variabilis* (Acari: Ixodidae). **Vet. Parasitol.** 74, 277–288, 1998. DOI: [10.1016/s0304-4017\(97\)00073-3](https://doi.org/10.1016/s0304-4017(97)00073-3)

JONGEJAN, F., DE VOS, C., FOURIE, J.J. et al. A novel combination of fipronil and permethrin (Frontline Tri-Act®/Frontect®) reduces risk of transmission of *Babesia canis* by *Dermacentor reticulatus* and of *Ehrlichia canis* by *Rhipicephalus sanguineus* ticks to dogs. **Parasites Vectors** 8, 602, 2015. <https://doi.org/10.1186/s13071-015-1207-5>

KADLEC, K., VAN DUIJKEREN, E., WAGENAAR, J.A., SCHWARZ, S. Molecular basis of rifampicin resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* isolates from dogs. **J. Antimicrob. Chemother.** 66, 1236–1242, 2011. DOI: [10.1093/jac/dkr118](https://doi.org/10.1093/jac/dkr118)

KÖSTER, L.S.; LOBETTI, R. G.; KELLY, P. Canine babesiosis: a perspective on clinical complications, biomarkers, and treatment. **Vet Med (Auckl)**. 10;6:119-128, 2015. doi: [10.2147/VMRR.S60431](https://doi.org/10.2147/VMRR.S60431)

LABARTHE, N. et al. Serologic prevalence of *Dirofilaria immitis*, *Ehrlichia canis* and *Borrelia burgdorferi* infection in Brazil. **Vet Ther**, v.4, p.67-75, 2003.

LABRUNA, M. B. e PEREIRA, M. C. Carrapato em cães no Brasil. **Clínica Veterinária**, v. 6, n. 30, p. 24-32, 2001 . Acesso em: 21 jan. 2024.

LAST, R.D., HILL, J.M., MATJILA, P.T., REME, C.A. A field trial evaluation of the prophylactic efficacy of amitraz-impregnated collars against canine babesiosis (*Babesia canis rossii*) in South Africa. **J. S. Afr. Vet. Assoc.** 78, 63–65, 2007.

LEISEWITZ, A.L. et al. The mixed acid-base disturbances of severe canine babesiosis. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, Philadelphia, v.15, p.445-452, 2001

LITTLE, S. Ehrlichiosis and Anaplasmosis in Dogs and Cats. **Veterinary Clinics of North America – Small Animal Practice**, 1121-1140, 40 (6), 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.

LOBO, C. A., RODRIGUEZ, M., CURSINO-SANTOS, J. R. *Babesia* and red cell invasion. **Current Opinion in Hematology**, v. 19, n. 3, p. 170-175, 2012.

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.

MARCILI, A.; SILVA, T. C.; SANTOS, W. H. S.; BUCCINI, C. O. R. C.; SALVADORI, M. L. B.; Moraes-filho, J. Nieri-Bastos, F . Alterações Clínicas e laboratoriais da Erliquise Monocítica canina crônica e reagudizada: um relato de caso. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v.8, n.12, p.80730-80743,dec.,2022. <https://doi.org/10.34117/bjdv8n12-260>

MATHIOS E. M, Shimon Harrusb, Edward B. Breitschwerdt. An update on the treatment of canine monocytic ehrlichiosis (*Ehrlichia canis*), **The Veterinary Journal** 246, p. 45-53, 2019. DOI: [10.1016/j.tvjl.2019.01.015](https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2019.01.015)

MCCLURE, J.C., CROTHERS, M.L., SCHAEFER, J.J., STANLEY, P.D., NEEDHAM, G.R., EWING, S.A., STICH, R.W., 2010. Efficacy of a doxycycline treatment regimen

initiated during three different phases of experimental ehrlichiosis. **Antimicrob. Agents Chemother.** 54, 5012–5020. DOI: [10.1128/AAC.01622-09](https://doi.org/10.1128/AAC.01622-09)

McDADE, J. E.; Ehrlichiosis – a disease of animals and humans. **Journal Infectious Disease**, v. 161, n. 4, p. 609-617, 1990. DOI: [10.1093/infdis/161.4.609](https://doi.org/10.1093/infdis/161.4.609)

MCQUISTON, J.H., CHILDS, J.E., CHAMBERLAND, M.E., et al. Transmission of tick-borne agents of disease by blood transfusion: a review of known and potential risks in the United States. **Transfusion**;40(3):274–84, 2000. <https://doi.org/10.1046/j.1537-2995.2000.40030274.x>

MIRANDA, Michele. A CONTRIBUIÇÃO DO MÉDICO VETERINÁRIO A SAÚDE ÚNICA- ONE HEALTH. **Psicologia e Saúde em debate**, [S. l.], v. 4, n. Suppl1, p. 34–34, 2018. Disponível em: <https://psicodebate.dpgpsifpm.com.br/index.php/periodico/article/view/380>.

Acesso em: 27 dez. 2024.

MONTEIRO, S.G. Parasitologia na Medicina Veterinária. 2ª ed. Gen, Rio de Janeiro, 351p. 2017

MORAES-FILHO, J., MARCILI, A., NIERLI-BASTOS, F. A., RICHTZENHAINA, L. J., LABRUNA, M. B. Genetic analysis of ticks belonging to the *Rhipicephalus sanguineus* group in Latin America. **Acta Tropica**, v. 117, p. 51 – 55, 2011. DOI: [10.1016/J.ACTATROPICA.2010.09.006](https://doi.org/10.1016/J.ACTATROPICA.2010.09.006)

MORAES-FILHO, J., KRAWCZAK, F., COSTA, F. B., SOARES, J. F., LABRUNA, M. B. Comparative Evaluation of the Vector Competence of Four South American Population of the *Rhipicephalus sanguineus* Group for the Bacterium *Ehrlichia canis*, the Agent of Canine Monocytic Ehrlichiosis. **PLoS ONE** 10(9): e0139386, 2015. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0139386>

MOREIRA, S.M et al. Retrospective study (1998-2001) on canine ehrlichiosis in Belo Horizonte, MG, Brazil. **Arq Bras Med Vet Zoot**, v.55, p.141-147, 2003.

MOREIRA, S.M et al. Detecção de *Ehrlichia canis* em aspirados de medula óssea de

cães infectados experimentalmente. **Cienc Rural** , v.35, n.4, p.958-960, 2005

MYLONAKIS, M.E., KOUTINAS, A.F., BREITSCWERDT, E.B., HEGARTY, B.C., BILLINIS, C.D., LEONTIDES, L.S., KONTOS, V.S. Chronic canine ehrlichiosis (*Ehrlichia canis*): a retrospective study of 19 natural cases. **J. Am. Anim. Hosp. Assoc.** 40, 174–184, 2004. DOI: [10.5326/0400174](https://doi.org/10.5326/0400174)

MYLONAKIS, M.E., CERON, J.J., LEONTIDES, L., SIARKOU, V.I., MARTINEZ, S., TVARIJONAVICIUTE, A., KOUTINAS, A.F., HARRUS, S. Serum acute phase proteins as clinical phase indicators and outcome predictors in naturally occurring canine monocytic ehrlichiosis. **J. Vet. Intern. Med.** 25, 811–817, 2011. DOI: [10.1111/j.1939-1676.2011.0728.x](https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2011.0728.x)

MYLONAKIS, M.; THEODOROU, K. Canine Monocytic Ehrlichiosis: An Update on Diagnosis and Treatment. **Acta Veterinaria**, v. 67 (3), 2017. DOI:[10.1515/acve-2017-0025](https://doi.org/10.1515/acve-2017-0025)

MYLONAKIS, M.; HARRUS, S.; BREITSCHWERDT, E. An update on the treatment of canine monocytic ehrlichiosis (*Ehrlichia canis*). **Veterinary Journal**, 45-43, 246, 2019. DOI: [10.1016/j.tvjl.2019.01.015](https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2019.01.015)

NAKAGHI, A.C.H., MACHADO, R.Z., COSTA, M.T., ANDRÉ, M.R., BALDANI, C.D. Canine Ehrlichiosis: clinical, hematological, serological and molecular aspects. **Cienc. Rur.**, 38, 766–770, 2008.

NAVA, S., ESTRADA-PENA, A., PETNEY, T., BEATI, L., LABRUNA, M. B., SZABÓ, M. P. J., GUGLIELMONE, A. A. *The taxonomic status of Rhipicephalus sanguineus (Latreille, 1806)*. **Veterinary Parasitology**, 208 (1-2), 2015. DOI: [10.1016/j.vetpar.2014.12.021](https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2014.12.021)

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. **J.Vet. Intern. Med.** 16, 309–315, 2002. DOI: [10.1892/0891-6640\(2002\)016<0309:csoedo>2.3.co;2](https://doi.org/10.1892/0891-6640(2002)016<0309:csoedo>2.3.co;2)

NYINDO, M. B. A.; RISTIC, M.; HUXOLL, D. L.; SMITH, A. R. Tropical canine

pancytopenia: in vitro cultivation of the causative agent – *Ehrlichia canis*. **American Journal Veterinary Research**, v. 32, n. 11, p. 1651- 1658, 1971.

O'DWYER, L.H.; LOPES, V.V.A.; RUBINI, A.S.; PADUAN, K.D.S.; RIBOLLA, P.E.M. Infecção por *Babesia* spp. em cães de áreas rurais do estado de São Paulo, Brasil. **Rev Bras Parasitol Vet**;18(2):23-6, 2009. <http://dx.doi.org/10.4322/rbpv.01802005>.

OLIVEIRA, D.; NISHIMORI, C. T.; COSTA, M. T., MACHADO, R. Z., CASTRO, M. B. Detecção de anticorpos contra *Ehrlichia canis* por Dot- ELISA em cães naturalmente infectados. **Rev Bras Parasitol Vet**, v.9, n.1, p.1-5, 2000.

---

OTRANTO, D. et al. Managing canine vectorborne diseases of zoonotic concern: part two. **Trends in Parasitology**, Cambridge, v.25, p. 228–235, 2009.

OTRANTO, D., DE CAPRARIIS, D., LIA, R.P., TARALLO, V., LORUSSO, V., TESTINI, G., DANTAS-TORRES, F., LATROFA, S., DINIZ, P.P., MENCKE, N., MAGGI, R.G., BREITSCHWERD, E., CAPELLI, G., STANNECK, D. Prevention of endemic canine vector-borne diseases using imidacloprid 10% and permethrin 50% in young dogs: a longitudinal field study. **Vet. Parasitol.** 172, 323–332, 2010.

PANTI-MAY, J. A.; RODRIGUEZ-VIVAS, R. I. Canine babesiosis: A literature review of prevalence, distribution, and diagnosis in Latin America and the Caribbean. **Vet Parasitol Reg Stud Reports**, 2020 Jul:21:100417, 2020. doi: <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2020.100417>

PASSOS, L. M. F.; GEIGER, S. M.; RIBEIRO, M. F. B.; PFISTER, K.; ZÄHLER-RINDER, M. First molecular detection of *Babesia vogeli* in dogs from Brazil. **Veterinary Parasitology**, 127(1), 81–85, 2005. doi:10.1016/j.vetpar.2004.07.02

PAULINO, P.G.; PIRES, M.S.; DA SILVA, C.B.; PECKLE, M.; DA COSTA R.L.; VITARI, G.L.; et al. Molecular epidemiology of *Babesia vogeli* in dogs from the southeastern region of Rio de Janeiro, Brazil. **Vet Parasitol Reg Stud Rep**, v.13, p. 160-165,2018. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vprsr.2018.06.004>

PAULINO, P.G; PIRES, M.S.; SILVA, C.B.D.; PECKLE, M.; COSTA, R..L.D.; VITARI,

G.L.V.; ABREU, A.P.M. ALMOSNY, N.R.P.; MASSARD, C.L.; SANTOS, H.A. Comparison of heat shock protein 70 kDa and 18S rDNA genes for molecular detection and phylogenetic analysis of *Babesia vogeli* from whole blood of naturally infected dogs. **Ticks Tick Borne Dis.** Mar;9(3):556-562, 2018 doi: 10.1016/j.ttbdis.2018.01.013

PEREIRA, P. A.; SILVA, S. A.; BERNARDES, J.; CALDART, E.; PINTO-FERREIRA, F.; SOARES, J.; DE MATOS, A.; MORAES, N.; GARCIA, J., VIDOTTO, O.; MITSUKA-BREGANO, R. Molecular detection of *Babesia vogeli*, *Ehrlichia canis* and *Anaplasma platys* in a hospital population of dogs clinically diagnosed with hemoparasitosis. **Ciências Agrárias**, 2143-2152, 41 (5), 2020. DOI: 10.5433/1679-0359.2020v41n5Supl1p2143

PELEG, O.; BANETH, G.; EYAL, O.; INBAR, J.; HARRUS, S. Multiplex real-time qPCR for the detection of *Ehrlichia canis* and *Babesia canis vogeli*. **Vet Parasitol.** v. 173, p. 292-299, 2010. DOI: [10.1016/j.vetpar.2010.06.039](https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.06.039)

PENZHORN, Barend L. et al. Confirmation of occurrence of *Babesia vogeli* in a dog in Windhoek, central Namibia. **J. S. Afr. Vet. Assoc.**, Pretoria , v. 87, n. 1, p. 1-3, 2016. <https://doi.org/10.4102/jsava.v87i1.1427>.

PENZHORN, B. Don't let sleeping dogs lie: Unravelling the identity and taxonomy of *Babesia canis*, *Babesia rossi* and *Babesia vogeli*. **Parasites and Vectors.** 1-9, 13 (1), 2020. <https://doi.org/10.1186/s13071-020-04062-w>

PEREZ, M., BODOR, M., ZHANG, C., XIONG, Q., RIKIHISA, Y. Annals of The New York Academy of Science 2006 Human infection with *Ehrlichia canis* accompanied by clinical signs in Venezuela, Oct:1078:110-7, 2006. doi: <http://doi.org/10.1196/annals.1374.016>

PIESMAN, J., SPIELMAN, A. Human babesiosis on Nantucket Island: prevalence of *Babesia microti* in ticks. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**,

29(5):742-746, 1980. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.1980.29.742>

PREFEITURA MUNICIPAL DE SÃO PAULO (PMSP). GeoSampa, 2024. Disponível em: <[https://geosampa.prefeitura.sp.gov.br/PaginasPublicas/\\_SBC.aspx](https://geosampa.prefeitura.sp.gov.br/PaginasPublicas/_SBC.aspx)>. Acesso em: 06 de dezembro de 2024.

QUEIROZ, S. E. et al. Detecção e achados laboratoriais devido a *Ehrlichia canis* em caes provenientes da zona sul de São paulo – SP, Brasil. **Brazilian Journal of Global Health**, v2 n7, 2022. DOI: <https://doi.org/10.56242/globalhealth;2022;2;7;1-5>

RIBEIRO, C. M., MATOS, A. C., AZZOLINI, T., BONES, E. R., WASNIESKI, V. B., Lucheis, S. B., Vidotto, O. Molecular epidemiology of *Anaplasma platys*, *Ehrlichia canis* and *Babesia vogeli* in stray dogs in Paraná, Brazil. **Pesq. Vet. Bras.** 37(2):129-136, fevereiro 2017. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2017000200006>

RIKIHISA, Y.; EWING, S. A.; FOX, J. C.; SIREGAR, A. G.; PASARIBU, F. H.; MALOLE, M. B. Analyses of *Ehrlichia canis* and ac canine granulocytic *Ehrlichia* infection. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 30, n. 1, p.143-148, 1992. doi: [10.1128/jcm.30.1.143-148.1992](https://doi.org/10.1128/jcm.30.1.143-148.1992)

SANTOS, F., COPPEDE, J.S., PEREIRA, A.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. **Vet. J.** 179, 145–148, 2009. DOI: [10.1016/j.tvjl.2007.08.017](https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2007.08.017)

SCHULZ, B.S., HUPFAUER, S., AMMERM, H., SAUTER-LOUISM, C., HARTMANNM, K. Suspected side effects of doxycycline use in dogs-a retrospective study of 386 cases. **Vet. Rec.** 169, 229, 2011. DOI: [10.1136/vr.d4344](https://doi.org/10.1136/vr.d4344)

SCHAEFER, J.J., NEEDHAM, G.R., BREMER, W.G., RIKIHISA, Y., EWING, S.A., STICH, R.W. Tick acquisition of *Ehrlichia canis* from dogs treated with doxycycline hyclate. **Antimicrob Agents Chemother.** 2007 Sep;51(9):3394-6. doi:10.1128/AAC.00358-07

SHAW, S.E.; DAY, M. J.; BIRTLES, R. J.; BREITSCHWERDT, E. B. Doenças infecciosas transmitidas por carrapatos em cães. **Trends Parasitol** ; 17 (2): 74 – 80, 2001. [http://dx.doi.org/10.1016/S1471-4922\(00\)01856-0](http://dx.doi.org/10.1016/S1471-4922(00)01856-0)

SHIPOV, A., KLEMENT, E., REUVENI-TAGER, L., WANER, T., HARRUS, S. Prognostic indicators for canine monocytic ehrlichiosis. **Vet. Parasitol.** 153, 131–138, 2008. DOI: [10.1016/j.vetpar.2008.01.009](https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2008.01.009)

SILVA, R. T., SILVA, C. S., CARDOSO, S. R. A. Análise da eficácia entre o teste imunoenzimático Elisa, proteína C reativa e esfregaço sangüíneo para o diagnóstico das hemoparasitoses em cães. **Ciências da Saúde.** Edição 127, 2023. <http://doi.org/10.5281/zenodo.10080755>

ŠLAPETA, J.; HALLIDAY, B.; CHANDRA, S.; ALANAZI, A.D.; ABDEL-SHAFY, S. *Rhipicephalus linnaei* (Audouin, 1826) recognised as the "tropical lineage" of the brown dog tick *Rhipicephalus sanguineus sensu lato*: Neotype designation, redescription, and establishment of morphological and molecular reference. *Ticks Tick Borne Dis.* 2022 Nov;13(6):102024. doi: 10.1016/j.ttbdis.2022.102024.

SOLANO-GALLEGO, L.; BANETH, G. Babesiosis in dogs and cats-expanding parasitological and clinical spectra. **Vet Parasitol.** 181(1):48-6, 2011. DOI: [10.1016/j.vetpar.2011.04.023](https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.04.023)

SOLANO-GALLEGO, L., SAINZ, Á., ROURA, X. et al. A review of canine babesiosis: the European perspective. **Parasites Vectors** 9, 336, 2016. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1596-0>

SOLIDORIO, M. G.; MINERVINO, A. H. H.; VALADAS, S. Y. O. B. V.; SOARES, H. S.; NEVES, K. A. L.; LABRUNA, M. B.; RIBEIRO, M. F. B.; GENNARI, S. M. Serosurvey for tick-borne diseases in dogs from the Eastern Amazon, Brazil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet., Jaboticabal*, v. 22, n. 2, p. 214-219, 2013

SZABÓ, M. P., DE SOUZA, L. G. OLEGARIO, M. M., FERREIRA, F. A., PAJUABA, A. A. N. Ticks (Acari: Ixodidae) on dogs from Uberlândia, Minas Gerais, Brazil. **Transbund Emerg Dis**, 57 (1-2): 72-74. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1865-1682.2010.01111.x>

SYKES, J.E. Ehrlichiosis, Canine and Feline Infectious Diseases. **First edn Elsevier Saunders**, St. Louis, Missouri, USA, pp. 278–289, 2014.

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, cap. 68, p.554-572, 1997.

TABOADA, J., LOBETTI, R.. Babesiosis. In: Greene, C.E. (Ed.), **Infectious Diseases of the Dog and Cat. Saunders Elsevier**, Philadelphia, p. 722, 2006.

TAENZLER, J., LIEBENBERG, J., ROEPKEo, R.K.A. et al. Prevention of transmission of *Babesia canis* by *Dermacentor reticulatus* ticks to dogs after topical administration of fluralaner spot-on solution. **Parasites Vectors** **9**, 234, 2016. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1481-x>

TRAPP, S. M.; DAGNONE, A. S.; VIDOTTO, O.; FREIRE, R. L.; AMUDE, A. M.; MORAIS, H. S. A. Seroepidemiology of canine babesiosis and ehrlichiosis in a hospital population. **Vet Parasitol.** 140 (3-4): 223 – 30, 2006. DOI: [10.1016/j.vetpar.2006.03.030](https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2006.03.030)

UENO, T.E.H., AGUIAR, D.M., PACHECO, R.C., RICHTZEHAIN, L.J., RIBEIRO, M.G., PAES, A.C., MEGID, J., LABRUNA, M. B 2009. *Ehrlichia canis* em cães, atendidos em hospital veterinário de Botucatu, Estado de São Paulo, Brasil. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.** 18, 57– 61.

UILENBERG, G., FRANSSEN, F.F., PERIÉ, N.M., SPANJER, A.A. Three groups of *Babesia canis* distinguished and a proposal for nomenclature. **Vet Q.** Jan;11(1):33-40, 1989. <http://doi:10.1080/01652176.1989.9694194>

USLU, M., & CANBAR, R. Imidocarb use in animals. **Veteriner Farmakoloji Ve Toksikoloji Derneği Bülteni**, 13(2), 120-131, 2022. <https://doi.org/10.38137/vftd.1141522>

VERCAMMEN, F., DE DEKEN, R., & MAES, L. Prophylactic activity of imidocarb against experimental infection with *Babesia canis*. **Veterinary Parasitology**, 63(3-4),

195–198, 1996. [http://doi:10.1016/0304-4017\(95\)00901-9](http://doi:10.1016/0304-4017(95)00901-9)

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

WANER, T., HARRUS, S., BARK, H., BOGIN, E., AVIDAR, Y., KEYSARY, A. Characterization of the subclinical phase of canine ehrlichiosis in experimentally infected beagle dogs. **Veterinary Parasitology** 69, 307–317, 1997. [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(96\)01130-2](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(96)01130-2)

WEN, B. et al. Comparação de nested PCR com ensaio de imunofluorescência de anticorpos para detecção de infecção por *Ehrlichia canis* em cães tratados com doxiciclina. **Clin Microbiol**, v.35, n.7, p.1852-1855, 1997.

WILKERSON, M.J., SHUMAN, W., SWIST, S., HARKIN, K., MEINKOTH, J., KOCAN, A.A. Platelet size, platelet surface-associated IgG, and reticulated platelets in dogs with immune-mediated thrombocytopenia. **Vet. Clin. Pathol.** 30, 141–149, 2001.

WITTER, R., VECCHI, S.N., PACHECO, T.A., MELO, A.L.T., BORSA, A., SINKOC, A.L., MEMDONÇA, A., MOURA AGUIAR, D. Prevalência da erliquiose monocítica canina e anaplasmoze trombocítica em cães suspeitos de hemoparasitose em Cuiabá, Mato Grosso. **Semina Ciên. Agr.** 34, 3811-3822, 2013.

**DOI:** <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2013v34n6Supl2p3811>

YAMASAKI, M.; INOKUMA, H., SUGIMOTO, C.; SHAW, S.E.; AKTAS, M.; YABSLEY, M.J.; YAMATO, O.; MAEDE, Y. Comparison and phylogenetic analysis of the heat shock protein 70 gene of *Babesia* parasites from dogs. **Vet Parasitol.** Apr 30;145(3-4):217-27, 2007. doi: 10.1016/j.vetpar.2007.01.003.

ZHANG, X. et al. Genetic and antigenic of moja or immuno reactive proteins in globally distributed *ehrlichia canis* strains. **Clin. Vaccine Immunol.**, v.15, n.7, p.1080-1088, 2008. DOI: [10.1128/CVI.00482-07](https://doi.org/10.1128/CVI.00482-07)

ZYGNER, W.; GÓJSKA-ZYGNER, O.; BARTOSIK, J.; GORSKI, P.; KARABOWICZ, J.; KOTOMSKI, G.; NORBURY, L.J. Canine Babesiosis Caused by Large *Babesia* Species: Global Prevalence and Risk Factors—A Review. **Animals**, 2023. <https://doi.org/10.3390/ani13162612>

## Anexo 1

- 1) O que te leva a suspeitar de uma hemoparasitose ao atender um paciente?
  - a) sinais clínicos e sintomas do paciente
  - b) presença do carrapato no momento da consulta
  - c) histórico deste paciente
  - d) todas alternativas
  
- 2) Você acha importante realizar o diagnóstico por meio de exames laboratoriais?
  - a) sim, sempre faço mesmo se os sintomas forem compatíveis com hemoparasitose
  - b) não, nunca faço, trato somente pela clínica do animal
  - c) sim, só deixo de fazer se o tutor não tiver condições financeiras para realizá-los
  - d) só faço quando a sintomatologia me deixa em dúvida do diagnóstico
  
- 3) E quais são os exames que costuma solicitar? (Pode assinalar mais de uma opção):
  - a) sorologia *Ehrlichia canis*
  - b) PCR *Ehrlichia canis*
  - c) sorologia *Babesia vogeli*
  - d) PCR *Babesia vogeli*
  
- 4) Você sempre faz os exames para ambos: Babesiose e Erliquiose?
  - a) Sempre faço para as duas doenças
  - b) Somente teste para Babesiose
  - c) Somente teste para Erliquiose
  - d) Não costumo realizar exames

5) Na impossibilidade de realizar os exames laboratoriais, mas na suspeita de ser uma hemoparasitose, você trata o paciente?

- a) sim
- b) não
- c) depende do tutor
- d) depende do paciente

6) Quais medicações que utiliza para o tratamento de hemoparasitoses?

- a) Cloridrato de Doxiciclina somente, utilizo por 28 dias ou mais
- b) Cloridrato de Doxiciclina por 28 dias + 2 aplicações de cloridrato de Imidocarb (Imizol®) com intervalo ade 15 dias entre as aplicações
- c) Cloridrato de Imidocarb (Imizol®) somente
- d) Só trato baseado nos resultados dos exames laboratoriais a depender da doença que positivou

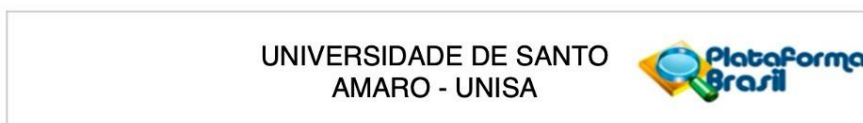
7) Você tem algum receio de usar o Cloridrato de Imidocarb (Imizol®)?

- a) sim, por isso não uso
- b) sim, uso mas tenho receio pois já tive paciente que apresentou efeitos colaterais
- c) sim, pois já ouvi colegas falando que pode ter efeitos colaterais
- d) não tenho, sempre faço sem nenhum problema

8) Você tem algum receio de usar o cloridrato de doxiciclina?

- a) sim, por isso não uso
- b) sim, uso mas tenho receio pois já tive paciente que apresentou efeitos colaterais
- c) sim, pois já ouvi colegas falando que pode ter efeitos colaterais
- d) não tenho, sempre faço sem nenhum problema

## Anexo 2



Continuação do Parecer: 5.305.349

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

| Tipo Documento  | Arquivo                                       | Postagem               | Autor         | Situação |
|---|---|------------------------|---------------|----------|
| Informações Básicas do Projeto                            | PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1843185.pdf | 10/03/2022<br>12:07:53 |               | Aceito   |
| TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência | TCLE_OnCamila.pdf                             | 10/03/2022<br>12:07:04 | ARLEI MARCILI | Aceito   |
| Folha de Rosto  | FRArley.pdf                                   | 09/03/2022<br>10:09:01 | ARLEI MARCILI | Aceito   |
| Outros  | confidencialidade.pdf                         | 07/03/2022<br>15:59:06 | ARLEI MARCILI | Aceito   |
| Outros  | questionariocamila.docx                       | 07/03/2022<br>15:58:15 | ARLEI MARCILI | Aceito   |
| Projeto Detalhado / Brochura Investigador                 | Doutorado_AbreuVF.pdf                         | 26/10/2021<br>19:47:03 | ARLEI MARCILI | Aceito   |

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

SAO PAULO, 22 de Março de 2022

---

**Assinado por:**  
**Patrícia Colombo de Souza**  
 (Coordenador(a))

**Endereço:** Rua Profª Enéas de Siqueira Neto, 340  
**Bairro:** Jardim das Imbuías **CEP:** 02.450-000  
**UF:** SP **Município:** SAO PAULO  
**Telefone:** (11)2141-8687 **E-mail:** pesquisaunisa@unisa.br