



UDESC

**UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA – UDESC
CENTRO DE CIÊNCIAS AGROVETERINÁRIAS – CAV
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL**

TESE DE DOUTORADO

INQUÉRITO EPIDEMIOLÓGICO
MOLECULAR DE HEMOPARASITOS
EM CÃES DE DOIS MUNICÍPIOS
COM DIFERENTES CONDIÇÕES
CLIMÁTICAS NO ESTADO DE
SANTA CATARINA, BRASIL

RODRIGO GONZALES RODRIGUES

LAGES, 2017

RODRIGO GONZALES RODRIGUES

**INQUÉRITO EPIDEMIOLÓGICO MOLECULAR DE HEMOPARASITOS EM CÃES
DE DOIS MUNICÍPIOS COM DIFERENTES CONDIÇÕES CLIMÁTICAS NO
ESTADO DE SANTA CATARINA, BRASIL**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade do Estado de Santa Catarina - UDESC, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Ciência Animal.

Orientador:

Prof. Dr. Anderson Barbosa de Moura

LAGES

2017

Ficha catalográfica elaborada pelo(a) autor(a), com
auxílio do programa de geração automática da
Biblioteca Setorial do CAV/UDESC

Rodrigues, Rodrigo Gonzales
INQUÉRITO EPIDEMIOLÓGICO MOLECULAR DE
HEMOPARASITOS EM CÃES DE DOIS MUNICÍPIOS COM
DIFERENTES CONDIÇÕES CLIMÁTICAS NO ESTADO DE SANTA
CATARINA, BRASIL / Rodrigo Gonzales Rodrigues. -
Lages, 2017.
54 p.

Orientador: Anderson Barbosa de Moura
Tese (Doutorado) - Universidade do Estado de Santa
Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias,
Programa de Pós-Graduação, Lages, 2017.

1. Rangelia vitalii. 2. Babesia canis vogeli. 3.
Ehrlichia canis. 4. Ocorrência. 5. Hemoparasitos.
I. Barbosa de Moura, Anderson. II. Universidade do
Estado de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação.
III. Título.

RODRIGO GONZALES RODRIGUES
INQUÉRITO EPIDEMIOLÓGICO MOLECULAR DE HEMOPARASITOS EM CÃES
DE DOIS MUNICÍPIOS COM DIFERENTES CONDIÇÕES CLIMÁTICAS NO
ESTADO DE SANTA CATARINA, BRASIL

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade do Estado de Santa Catarina - UDESC, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Ciência Animal.

Banca examinadora:

Orientador:

Prof. Dr. Anderson Barbosa de Moura
(UDESC – Lages, SC)

Membros:

Prof. Dr. João Fábio Soares
(UFRGS – Porto Alegre, RS)

Profa. Dra. Luciana Dalla Rosa
(UNICRUZ – Cruz Alta, RS)

Profa. Dra. Mere Erika Saito
(UDESC – Lages, SC)

Profa. Dra. Rosiléia Marinho de Quadros
(UDESC – Lages, SC)

Lages, 20 de dezembro de 2017

DEDICATÓRIA

Dedico, primeiramente, aos meus pais Cleidinéia Gonzales e Francisco Antonio Rodrigues.

Minhas Irmãs Amanda, Adele e Sarah.

Meus avós Domingos e Julieta e demais familiares.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Anderson Barbosa de Moura, que aceitou me orientar nos últimos momentos do doutorado, porém esteve sempre presente colaborando desde o início com seus conhecimentos para que tudo desse certo.

Ao Prof. Dr. João Fábio Soares que aceitou atuar extraoficialmente como um coorientador e que sem suas valorosas orientações certamente eu não atingiria o sucesso nesse trabalho. Mais que um coorientador, se revelou um grande amigo.

Ao Prof. Dr. Antonio Pereira de Souza que permitiu que eu iniciasse o doutorado na UDESC e trouxe grandes contribuições ao meu projeto.

Ao meu pai que financiou o projeto e minha mãe que sempre esteve ao meu lado me incentivando a seguir em frente nos momentos difíceis.

A Prof^a. Amélia Aparecida Sartor que além das colaborações e conselhos tornou-se uma grande amiga.

A Prof^a. Dra. Aline Giroto que junto com o Prof. João, me ensinou a fazer as PCRs e me receberam no Laboratório de Protozoologia da UFRGS para que pudéssemos analisar as amostras.

Aos Clínicos Veterinários de Lages e Blumenau que aceitaram ceder amostras de sangue dos cães.

Aos proprietários dos animais que permitiram que entrasse em suas casas e colhesse sangue dos seus animais.

A Márcia, uma grande amiga, permitiu que eu ficasse em sua casa para realizar as coletas e mesmo com medo dos cães ajudou a fazer as coletas.

Aos meus amigos Hendrel e Bruna que me ajudaram nas coletas em Blumenau.

Aos meus amigos Juliana e Ruan que me ajudaram nas coletas em Lages.

Ao Leone do ICASA que me apresentou a proprietários e ajudou em diversas coletas em Lages.

Aos meus amigos Juliana, Juliano, Márcia e Márcio do Laboratório de Parasitologia da UDESC, grandes companheiros e valorosos amigos que tive o prazer de conviver durante o doutorado.

RESUMO

RODRIGUES, R.G. Inquérito epidemiológico molecular de hemoparasitos em cães de dois municípios com diferentes condições climáticas no estado de Santa Catarina, Brasil. 2017. 54f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, 2017.

As hemoparasitoses de cães podem ser provocadas por parasitos intracelulares dos gêneros *Babesia*, *Rangelia* e *Ehrlichia*. Esses patógenos produzem sinais inespecíficos e que se assemelham entre as enfermidades por eles causadas. A anemia, plaquetopenia, prostração, perda de peso, anorexia, febre e desidratação são sinais comuns na rangeliose, babesiose e erliquiose. Estas enfermidades são consideradas um grave problema na clínica veterinária. Com objetivo de verificar a ocorrência, por meio da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), de *Rangelia vitalii*, *Babesia canis vogeli* e *Ehrlichia canis* em cães domiciliados e atendidos em clínicas, de dois municípios do estado de Santa Catarina, Brasil, foram colhidas amostras de sangue de 138 animais entre setembro de 2015 a janeiro de 2017. As amostras foram obtidas em dois momentos. O momento A (mA) foi constituído de 17 animais atendidos em clínicas e que apresentavam ixodidiose ou sinais de hemoparasitoses e outro momento (mB) incluiu 121 animais com histórico de ixodidiose em que as amostras foram colhidas em visita aos domicílios onde habitavam. No mA haviam cinco amostras de sangue de animais da área urbana e de um animal da área rural do município de Blumenau e 11 amostras de animais da área urbana de Lages. O mB foi subdividido em animais de área urbana (mB1) e de área rural (mB2). O mB1 constituiu-se por 25 amostras de sangue de cães de Blumenau e quatro de Lages. O mB2 continha 59 amostras de Blumenau e 33 de Lages. No momento da colheita de sangue, um questionário epidemiológico foi aplicado aos proprietários. Amostras de sangue de cada animal, foram colhidas por venopunção da jugular para a pesquisa de *R. vitalii*, *B. canis vogeli* e *E. canis*, por meio da PCR. Além disso, carrapatos, quando presentes, foram colhidos para identificação. Constatou-se a ocorrência de dois cães infectados por *R. vitalii*, ambos da área rural do mA, sendo um de Blumenau e um de Lages. Também em Blumenau, um cão foi positivo para *Babesia canis vogeli*. Não ocorreu positividade para *E. canis* nas amostras analisadas neste estudo. Os carrapatos obtidos foram identificados como *Amblyomma aureolatum*, vetor de *R. vitalii*, em cães nos dois municípios. Em Lages foi constatado o parasitismo dos animais por *Rhipicephalus sanguineus*, vetor de *B. canis vogeli*, e *Rhipicephalus microplus*. Em Blumenau, além do *A. aureolatum*, foi verificado o parasitismo de cães por *Amblyomma ovale*. Pode-se concluir, por meio da PCR, a ocorrência de rangeliose e babesiose canina em Lages e em Blumenau, indicando a necessidade de mais estudos para avaliar a prevalência e importância destas enfermidades.

Palavras-chave: *Rangelia vitalii*. *Babesia canis vogeli*. *Ehrlichia canis*. Ocorrência. Hemoparasitos, Santa Catarina.

ABSTRACT

RODRIGUES, R.G. Molecular epidemiological investigation of hemoparasitos in dogs of two municipalities with different climatic conditions in the State of Santa Catarina, Brazil. 2017. 54f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, 2017.

The hemoparasitosis of dogs can be caused by intracellular parasites of the genus *Babesia*, *Rangelia* and *Ehrlichia*. These pathogens produce nonspecific signs that be similar between the sicknesses caused by them. Anemia, thrombocytopenia, prostration, weight loss, anorexy, fever, and dehydration are common signs in rangellosis, babesiosis and ehrlichiosis. These diseases are considered a serious problem in the Veterinary Clinic. In order to check the occurrence, by the polymerase chain reaction (PCR), of *Rangelia vitalii*, *Babesia canis vogeli* and *Ehrlichia canis* in dogs domiciled and attended in clinics, of two municipalities in Santa Catarina State, Brazil, were collected blood samples from 138 animals between September 2015 to January 2017. The samples were obtained in two moments. The moment A (mA) was made up of 17 animals seen in clinics and with ixodidiosis or hemoparasitosis signs and other moment (mB) included 121 animals with a history of ixodidiosis in which samples were collected in visits to households where lived. In mA had five blood samples from animals in the urban area and rural area animal of the city of Blumenau and 11 samples of animals from the urban area of Lages. The mB was subdivided into animals (mB1) urban area and rural area (mB2). The mB1 is constituted by 25 blood samples from dogs of Blumenau and four of Lages. The mB2 contained 59 samples of Blumenau and 33 of Lages. At the time of the Blood collection, an epidemiological questionnaire was applied to the owners. Blood samples from each animal were harvested by venipuncture from the jugular, for PCR test, for *R. vitalii*, *B. canis vogeli* and *E. canis*. In addition blood PCR, ticks, when present, were collected for identification. It was noted the occurrence of two dogs infected by *R. vitalii*, both from rural area of mA, being one of Blumenau and one of Lages. Also in Blumenau, a dog was positive for *Babesia canis vogeli*. There has been positive for *E. canis* in the samples analyzed in this study. The ticks were identified as *Amblyomma aureolatum*, vector of *R. vitalii*, in dogs in two municipalities. In Lages was found the parasitism of animals by *Rhipicephalus sanguineus*, vector of *B. canis vogeli*, and *Rhipicephalus microplus*. In Blumenau, in addition to *A. aureolatum*, verified the parasitism of dogs by *Amblyomma ovale*. Might conclude, by PCR, the occurrence of rangellosis and canine babesiosis in Lages and in Blumenau, indicating the need for further studies to assess the prevalence and importance of these diseases.

Keywords: *Rangelia vitalii*. *Babesia canis vogeli*. *Ehrlichia canis*. Occurrence. Hemoparasites, State of Santa Catarina.

LISTA DE ABREVIATURAS

ALT	Alanina Aminotransferase
AST	Aspartato Aminotransferase
CK	Creatina Quinase
DPI	Pós-infecção
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DTV	Doenças Transmitidas Por Vetores Aos Animais
EDTA	Ácido Etilenodiamino Tetra-acético
ELISA	Ensaio De Imunoabsorção Enzimática
EMC	Erliquiose Monocítica Canina
ICASA	Instituto Catarinense De Sanidade Agropecuária
PCR	Reação Em Cadeia Da Polimerase
PR	Paraná
RDW	Amplitude De Distribuição Eritróide
RIFI	Reação De Imunofluorescência Indireta
RJ	Rio De Janeiro
RS	Rio Grande Do Sul
SC	Santa Catarina
SRD	Sem Raça Definida
UDESC	Universidade Do Estado De Santa Catarina
UFRGS	Universidade Federal Do Rio Grande Do Sul

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	12
2.1	BABESIOSE CANINA POR <i>BABESIA CANIS VOGELI</i>	12
2.2	ERLIQUIOSE MONOCÍTICA CANINA.....	16
2.3	RANGELIOSE CANINA (“NAMBIUVÚ”).....	21
2.4	CARRAPATOS VETORES DE DOENÇAS PARA OS CÃES	25
3	OBJETIVOS	27
3.1	GERAL.....	27
3.2	ESPECÍFICOS.....	27
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	28
4.1	LOCAIS DE ESTUDO	28
4.2	AMOSTRAS	28
4.3	IDENTIFICAÇÃO DOS CARRAPATOS	29
4.4	REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE	30
5	RESULTADOS	31
6	DISCUSSÃO	37
7	CONCLUSÕES	43
8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	44
9	ANEXOS.....	54

1 INTRODUÇÃO

Uma grande variedade de patógenos pode ser transmitida por carrapatos para os animais, inclusive ao ser humano. Dentre eles estão vírus, bactérias e protozoários que, durante seu ciclo de vida, requerem a passagem por hospedeiros vertebrados.

Hemoparasitos, especialmente aqueles transmitidos por carrapatos, constituem-se em graves agentes causais de enfermidades que afetam cães em todo o mundo.

No Brasil, merecem atenção os protozoários *Babesia canis vogeli* e *Rangelia vitalii*, agentes da babesiose e da rangeliose, respectivamente. Também se destaca a bactéria *Ehrlichia canis* que provoca a Erliquiose Monocítica Canina. Doenças com sinais muito semelhantes entre si e que variam de intensidade conforme o agente, a parasitemia e imunidade do animal. Além disso, por serem enfermidades transmitidas por carrapatos, cuja dinâmica populacional e intensidade das infestações estão diretamente relacionadas às condições climáticas.

Os sinais clínicos comumente encontrados em animais acometidos por um desses agentes são anemia, febre, desidratação, letargia e perda de peso. É importante ressaltar a icterícia presente, em particular, na babesiose e na rangeliose sendo, nessa última, mais grave.

Também, tanto na erliquiose como na rangeliose, sinais de sangramento espontâneo, além do aumento de linfonodos e da plaquetopenia são frequentemente observados.

Enquadradas entre as doenças transmitidas por vetores (DTV), a *Babesia canis vogeli* e *E. canis* têm como vetor comum, o carrapato *Rhipicephalus sanguineus*, mais prevalente em áreas urbanas. No caso de *R. vitalii* a transmissão cabe ao ixodídeo *Amblyomma aureolatum*, encontrado parasitando cães que habitam localidades próximas a matas, tais como a zona rural e região periurbana.

Quanto à ocorrência e prevalência no território brasileiro, a babesiose e a erliquiose têm sido relatadas em todos os estados do Brasil, sendo a prevalência maior em regiões de clima mais quente coincidindo com a maior ocorrência de seus vetores. Já a rangeliose tem escassos relatos de ocorrência nos estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná, Minas Gerais, São Paulo, Rio de Janeiro e Espírito Santo, sendo inexistentes os estudos sobre sua ocorrência/prevalência em outras

regiões. Há ainda publicações de ocorrência no Uruguai e Argentina países do Cone Sul da América do Sul.

Dessa forma, vários são os relatos de ocorrência de hemoparasitos caninos em diversas regiões do Brasil e, normalmente, envolvem animais com sinais clínicos. Porém, poucos são os estudos que relatam a frequência em que ocorrem em cães aparentemente assintomáticos.

Em virtude de terem quadros clínicos muito semelhantes entre si, além de vetores similares, estas enfermidades demandam diagnóstico diferencial por meio da observação epidemiológica de sua etiologia, do quadro clínico e dos achados laboratoriais que, analisados em conjunto, são necessários para o adequado diagnóstico, prognóstico e tratamento.

A técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) tem sido utilizada para pesquisas de ocorrência e prevalência dos diferentes hemoparasitos que podem acometer cães, porém estudos dessa natureza, com esta técnica molecular, são escassos em Santa Catarina.

A região de Blumenau por possuir um clima quente e úmido se mostra adequada ao desenvolvimento de ixodídeos transmissores de hemoparasitos para os cães, sendo provável uma significativa frequência de ocorrência de hemoparasitoses neste município.

Contrastando com o que ocorre em Blumenau, o município de Lages tem característica climática de temperaturas mais amenas não ultrapassando a média anual de 22°C segundo a classificação Köppen-Geiger, por vezes adversa ao desenvolvimento dos ixodídeos transmissores. Porém, segundo relatos de médicos veterinários e de moradores de áreas rurais deste município os cães têm manifestado sinais que condizem com hemoparasitoses.

A PCR tem mostrado ser altamente sensível e específica sendo frequentemente utilizada para estudos de ocorrência de hemoparasitos.

Diante destes fatos e levando em consideração a gravidade destas enfermidades e a escassez de estudos de ocorrência de hemoparasitos em cães nestes dois municípios em Santa Catarina, levantou-se a ocorrência de *Babesia canis vogeli*, *Ehrlichia canis* e *Rangelia vitalii*, por meio da PCR, em cães domiciliados em áreas urbanas e rurais de Blumenau e Lages, em animais com sinais clínicos indicativos ou não destas hemoparasitoses.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

As hemoparasitoses, devido à frequência com que ocorrem, são algumas das enfermidades mais importantes na clínica veterinária no mundo todo (URQUHART et al., 1998).

Na clínica de pequenos animais os hemoparasitos mais frequentes são rickettsias do gênero *Ehrlichia* e protozoários do gênero *Babesia*. Estes são parasitos intracelulares obrigatórios transmitidos por *Rhipicephalus sanguineus* (COSTA, 2011).

Além destes, Loretto e Barros (2004) destacam, no estado de Santa Catarina, o protozoário hemoparasito *Rangelia vitalii*, transmitido por *Amblyomma aureolatum* (SOARES, 2014).

2.1 BABESIOSE CANINA POR *Babesia canis vogeli*

O protozoário *Babesia* spp., causador da babesiose, pertence ao filo Apicomplexa, Classe Sporozoa, subclasse Coccidiasina, ordem Piroplasmorida, família Babesiidae (VIAL; GORENFLOT, 2006).

Este parasito foi descoberto por Babes, na Romênia, em 1888, quando observou microrganismos em eritrócitos de bovinos. Na ocasião os animais apresentavam-se com hemoglobinúria, também descrita como “febre da água vermelha”. O pesquisador, na mesma época, visualizou organismos semelhantes em eritrócitos de ovinos (UILENBERG, 2006).

Em 1893, Smith e Kilborne demonstraram a transmissão desse parasito por carrapatos. Neste estudo denominaram como *Pyrosoma bigemina*, o agente causador de “Febre do Texas” em bovinos (NEITZ, 1956).

Em 1895, Piana e Galli-Valerio descreveram pela primeira vez na Itália o parasito *Babesia canis*. Os pesquisadores o chamavam *Pyrosoma bigemina* var. *canis* (UILENBERG et al., 1989).

As grandes “*Babesias*” parasitas de cães, como é classificada a *Babesia canis*, são transmitidas por carrapatos *Dermacentor reticulatus*, *Rhipicephalus sanguineus* e *Haemaphysalis leachi* (TABOADA; MERCHANT, 1991).

Por sua alta especificidade de vetor, sua diferença genotípica, por não expressarem imunidade cruzada e apresentarem patogenicidades distintas, aceita-se

nos dias atuais que *Babesia canis* se divide em três subespécies distintas (UILENBERG et al., 1989; ZHALER et al., 1998), a saber:

- *Babesia canis canis*: apresenta patogenicidade moderada, é transmitida por *D. reticulatus* e parasita cães na Europa.
- *Babesia canis rossi*: altamente patogênica é encontrada parasitando cães infestados por *H. leachi* na África do Sul.
- *Babesia canis vogeli*: a mais branda, é transmitida por *R. sanguineus* em países de clima tropical e subtropical.

Chauvin et al. (2009) destacam que no carrapato ocorre transmissão transovariana e transestadial de *Babesia* spp., o que aumenta o potencial de disseminação do protozoário, principalmente por carrapatos de mais de um hospedeiro como o *R. sanguineus*.

Durante o ciclo biológico, esporozoítos de *Babesia canis vogeli* presentes na glândula salivar de *R. sanguineus* são inoculados pelo carrapato durante a hematofagia e penetram em eritrócitos e tornam-se merozoítos, caracterizados por possuírem formato de pera. Estes merozoítos dividem-se por fissão binária originando dois merozoítos maduros e após a ruptura dos eritrócitos movem-se em busca de novos eritrócitos para dividirem-se e gerar mais merozoítos. Alguns destes têm seu desenvolvimento interrompido, assumem um formato elíptico e tornam-se gamontes que, ingeridos pelo ixodídeo, darão início a fase sexuada no intestino do carrapato. No interior de células intestinais do carrapato migrogametas masculinos e macrogametas femininos se fundem e originam cinetos. Estes cinetos atravessam a parede intestinal e via hemolinfa podem chegar ao ovário e serem transmitidos a futura geração de carrapatos via transovariana ou alcançando as glândulas salivares se tornam esporozoítos de onde serão transmitidos aos cães (MEHLHORN; SCHEIN, 1985).

A prevalência destes hemoparasitos está relacionada à distribuição geográfica dos vetores, como afirmam Benigno; Rodrigues e Serra-Freire (2011) ao se referirem a *Babesia* spp..

No Brasil *Babesia canis vogeli* é considerada endêmica, sendo prevalente em várias regiões do país e acometendo, principalmente, cães adultos (DANTAS-TORRES; FIGUEREDO, 2006; JOJIMA et al., 2008). Este parasito teve sua primeira detecção molecular no Brasil publicada por Passos et al., (2005).

Segundo Labruna e Pereira (2001) o artrópode *R. sanguineus* tem uma maior ocorrência em áreas urbanas. Segundo Passos et al. (2005) este fato tem estreita relação com uma maior frequência de casos de *Babesia canis vogeli* nestas áreas.

Araújo et al. (2015) constataram uma alta infestação de 61,4% dos cães por *R. sanguineus* em áreas rurais de Pernambuco se comparada a 47,5% dos cães de áreas urbanas na região do semiárido daquele Estado, mostrando também a elevada presença destes ixodídeos em zonas rurais.

Em Minas Gerais, Costa-Júnior et al. (2009) observaram, por meio da técnica de Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI, $\geq 1:40$), uma soroprevalência de 28,7% de cães positivos para *Babesia canis vogeli* em áreas rurais de Belo Horizonte, Lavras e Nanuque. Concluíram que a babesiose canina causada por *B. canis vogeli* é endêmica em áreas rurais do estado de Minas Gerais e sua epidemiologia é influenciada pelas condições climáticas, principalmente a temperatura.

No oeste do estado do Maranhão, em um estudo envolvendo 150 cães de área urbana e 150 de área rural, verificou-se que 3,33% (10/300) apresentaram resultados positivos na PCR para *B. canis vogeli*, sendo que destes 1,0% (3/300) eram de área urbana e 2,33% (7/300) de área rural. Os autores concluíram neste caso que animais de área rural ou urbana tiveram a mesma chance de contrair babesiose (SILVA et al., 2012).

Em Pernambuco, testes de RIFI (cut off $\geq 1:40$) de 404 amostras de sangue de cães detectaram a presença de anticorpos contra *B. canis vogeli* em 57,9% (234/404) dos animais. A maior soroprevalência foi observada em animais de área rural. Como fatores de risco para maior presença de anticorpos, os autores verificaram que cães de porte médio, o contato com áreas de floresta e o acesso à rua foram os fatores predisponentes mais significativos (ARAUJO et al., 2015).

Em um estudo realizado no Paraná por Vidotto e Trapp (2004), anticorpos contra *B. canis* foram mais frequentes em cães com mais de um ano de idade, que viviam em área urbana periférica, contrastando com Ribeiro et al. (1990), que observaram uma maior frequência de infecção em cães com três a seis meses de idade.

O período de incubação do agente pode variar de 10 a 21 dias, podendo a infecção se manifestar de forma superaguda, aguda, crônica ou assintomática (SCHOEMAN, 2009). Estes últimos podendo se tornar portadores e manifestar a

doença em casos de estresse ou enfermidades concomitantes (BRANDÃO; HAGIWARA; MYIASHIRO, 2003).

A patogenia da babesiose pode variar de acordo com a espécie ou subespécie de *Babesia*, a idade e a imunidade do hospedeiro. Os sinais clínicos estão relacionados, principalmente a hemólise intravascular, podendo essa hemólise ser também extravascular (O'DWYER; MASSARD, 2002).

A babesiose representa patologia importante, com potencial agressivo, apresentando alterações clínicas inespecíficas (GUIMARÃES et al., 2004).

De modo geral, clinicamente podem ser observados sinais de febre, anorexia, depressão, oligúria, hemoglobinúria, vômito, letargia, desidratação, icterícia, mucosas pálidas, esplenomegalia e dispneia (IRWIN, 2009).

Nas formas aguda e superaguda os aspectos clínicos mais frequentemente observados incluem anemia, hemoglobinúria, febre, taquicardia, taquipneia, depressão, anorexia, icterícia e esplenomegalia. Animais acometidos de forma crônica, em geral, apresentam perda de peso e anorexia (O'DWYER; MASSARD, 2002).

Guimarães et al. (2004), ao analisarem 500 cães no estado do Rio de Janeiro, constataram que os achados laboratoriais mais comuns em cães com babesiose foram: anemia normocítica hipocrômica, policromasia, anisocitose, leucocitose por neutrofilia, monocitose, linfopenia e trombocitopenia. As alterações clínicas frequentemente observadas foram: mucosas pálidas, apatia, febre, hiporexia.

O diagnóstico laboratorial é realizado, principalmente, pela busca do parasito intra-eritrocitário em observação de extensão sanguínea corada com Giemsa (DANTAS-TORRES, 2010).

Entretanto, o diagnóstico em extensão sanguínea mostra-se uma técnica pouco sensível e mais eficaz na fase aguda da doença. Outras técnicas disponíveis são as sorológicas e a PCR, esta última bastante sensível e específica, porém custosa e mais utilizada na pesquisa (BRAGA; SOUZA SILVA, 2013). Todavia, com o advento da PCR se tornou possível o diagnóstico mais preciso da presença de *Babesia canis vogeli* no Brasil e em outras regiões do mundo .

Milken et al. (2004), ao pesquisarem a ocorrência de babesiose canina em Uberlândia (MG), observaram 51,74% e 2,72% das amostras positivas quando analisadas pela RIFI ($\geq 1:20$) e pela extensão sanguínea de ponta de orelha, respectivamente.

O'dwyer et al. (2009), estudando amostras de sangue de 150 cães de áreas rurais de três municípios do estado de São Paulo, com auxílio de técnicas parasitológicas (extensões sanguíneas) e moleculares (PCR), constataram que na análise de extensões sanguíneas, três (2%) dos cães estavam infectados, enquanto pela PCR, 12 (8%) dos animais foram positivos.

Em um estudo realizado em Londrina (PR) ao analisarem 282 amostras de cães atendidos com suspeita de hemoparasitose, constatou-se que no exame microscópico de extensões de sangue coradas pelo Giemsa foram detectadas 38 (13,5%) amostras positivas para *Babesia* spp. contra 105 (37,2%) positivas para este parasito pela PCR, confirmando a importância deste método para o diagnóstico da babesiose. Neste estudo, ao observarem que anemia, leucopenia e trombocitopenia foram os sinais mais frequentes nos animais positivos para *Babesia canis vogeli*, os autores concluíram que a babesiose é um importante diferencial para animais com tais condições clínicas, que também ocorrem na erliquiose canina, por exemplo (JOJIMA et al., 2008).

2.2 ERLIQUIOSE MONOCÍTICA CANINA

A erliquiose é uma doença causada por bactérias intracelulares obrigatórias, gram-negativas, pertencentes a Ordem Rickettsiales, Família Anaplasmataceae. As espécies destes gêneros causam várias doenças em animais e seres humanos, reconhecidas inicialmente em 1910, quando Theiler descreveu o *Anaplasma marginale*, agente etiológico da anaplasmosose em bovinos (AGUIAR et al., 2007; DUMLER et al., 2001).

Ehrlichia canis infecta neutrófilos, monócitos e linfócitos, mas pode também alterar a quantidade de plaquetas provocando trombocitopenia, alteração mais frequente na erliquiose monocítica canina (EMC) (AGUIAR et al., 2007; HARRUS; WARNER; NEER, 2011).

Esta bactéria foi descrita pela primeira vez em cães por Donatien e Letosquard (1935), na Argélia. Entretanto, foi durante a guerra do Vietnã que ela foi identificada como causadora da doença que provocou a infecção e morte de muitos cães da raça Pastor Alemão que prestavam serviço militar (HUXSOLL, 1976).

A EMC ocorre mundialmente em regiões tropicais e subtropicais em áreas urbanas e suburbanas onde há maior concentração de *Rhipicephalus sanguineus*, sendo este ixodídeo considerado seu único vetor (VIEIRA et al., 2011).

No Brasil, *E. canis* foi descrita pela primeira vez em cães da cidade de Belo Horizonte, estado de Minas Gerais, sudeste do Brasil (COSTA et al., 1973 apud VIEIRA et al., 2011).

Apesar de ser comum a infestação por *R. sanguineus* nos cães em Santa Maria, no Rio Grande do Sul, um estudo encontrou apenas 14% de soropositividade na RIFI ($\geq 1:80$) para *E. canis*. Para os autores, essa baixa soropositividade quando comparada a valores acima de 30% em áreas endêmicas, sugere diferenças genéticas entre o ixodídeo no estado Rio Grande do Sul em relação a outras regiões do Brasil (KRAWCZAK et al., 2012).

Moraes-Filho et al. (2011) separaram espécimes de *R. sanguineus* encontrados nas américas, segundo diferenças genéticas, em dois clados. Um tropical, presente na região sudeste do Brasil, e um temperado, este presente na região sul do Brasil, mais especificamente no Rio Grande do Sul e também no Uruguai, Argentina e Chile, no Cone Sul da América do Sul. Todavia Moraes-Filho et al. (2015) constataram que somente o clado tropical foi competente para transmitir *E. canis*.

A EMC é uma doença multissistêmica que se manifesta nas formas aguda, subclínica ou crônica (HARRUS; WARNER; NEER, 2011).

Manoel (2010) constatou que animais acima de oito anos de idade foram os mais frequentemente afetados.

O período de incubação da EMC é de 8-20 dias. Durante este período, os organismos *E. canis* entram nas correntes sanguínea e/ou linfática e se localizam em macrófagos, principalmente no baço e no fígado, onde se replicam por fissão binária. Posteriormente, macrófagos infectados disseminam a infecção para outros sistemas e órgãos (HARRUS et al., 2005). Uma vez a bactéria no interior das células mononucleares teciduais são transportadas pela corrente sanguínea para os pulmões, rins e meninges, aderem ao endotélio vascular e causam vasculite e infecção do tecido subendotelial (FONSECA; HIRSCH; GUIMARÃES, 2013).

De modo geral, os animais doentes podem manifestar febre, apatia, anorexia, linfadenopatia, sensibilidade abdominal, vômito, gastroenterite, diarreia e epistaxe. As alterações hematológicas mais frequentemente observadas em infecções naturais são

anemia, trombocitopenia e leucopenia (ALMOSNY; MASSARD, 2002; MANOEL, 2010).

A doença aguda pode durar de uma a quatro semanas e é caracterizada por febre alta, depressão, letargia, anorexia, linfadenomegalia, esplenomegalia e tendências hemorrágicas, podendo se manifestar por petéquias dérmicas, equimoses e/ou epistaxe. A maioria dos cães se recuperam nesta fase se tratados adequadamente (HARRUS et al., 2005; HARRUS; WANER, 2011).

As lesões oftalmológicas nessa fase incluem uveíte anterior, coriorretinite, papiledema, hemorragia retiniana, presença de infiltrados perivasculares retinianos, descolamento da retina e cegueira. Manifestações neurológicas podem ocorrer como resultado de meningite e/ou hemorragia meníngea (COSTA, 2015).

Cães não tratados ou tratados de forma inadequada podem ingressar numa fase subclínica da doença. Nesta fase os animais podem se tornar portadores de *E. canis* por meses ou anos. Acredita-se que a persistência da infecção seja facilitada pela recombinação repetida dos genes da proteína externa da membrana do organismo, assim permitindo a evasão imune. O baço desempenha um importante papel na patogênese da doença e na persistência da infecção, e sugere-se que os macrófagos do baço abriguem a bactéria durante a fase de portador (HARRUS et al., 2005).

Durante a fase crônica, podem ocorrer sinais semelhantes aos observados na fase aguda, mas com maior gravidade. Palidez de mucosa, fraqueza, sangramento e perda significativa de peso são achados comuns nessa fase e em casos graves pode ocorrer pancitopenia (HARRUS; WANER, 2011).

Apesar da trombocitopenia ser frequente em animais com erliquiose, um estudo realizado em Ribeirão Preto, São Paulo, identificou que 46,7% das amostras eram de animais trombocitopênicos não infectados por *E. canis*. Destes não infectados por *E. canis*, 38% apresentaram infecção por *Anaplasma platys* ou *Babesia* spp. Conclui-se que, mesmo em áreas endêmicas, a ocorrência da trombocitopenia, isoladamente, não é parâmetro suficiente para o diagnóstico da erliquiose. Os autores afirmam que é necessário o diagnóstico diferencial para infecção por *A. platys* e *Babesia* spp. (SANTOS et al., 2009).

Sales et al. (2015) observaram que 17,64% dos cães positivos para *E. canis* na PCR apresentaram trombocitopenia. Porcentagem ainda menor do que a observada no estudo citado anteriormente reafirmando que este parâmetro hematológico,

isoladamente, é insatisfatório para o diagnóstico da EMC. Neste estudo, os autores demonstraram ainda que a nested-PCR é mais precisa para o diagnóstico ao verificarem que a PCR constatou 5,88% de positividade das amostras contra 1,17% das observações de mórulas de *Ehrlichia* spp. durante a pesquisa em extensão sanguínea.

Labarthe et al. (2003), ao realizarem uma pesquisa utilizando um kit comercial de teste de Ensaio de Imunoabsorção Enzimática (ELISA) para *Ehrlichia* spp., verificaram que a região sul do Brasil é a que apresenta menor prevalência (1,7%) e Santa Catarina, o estado de menor índice (0,7%). Na ocasião, cães da região nordeste foram os que apresentaram maiores níveis de anticorpos totalizando 43% dos animais participantes da pesquisa.

Em Lages, Sartor et al. (2004) ao testarem 90 amostras de cães por ELISA (kit de teste rápido) para *E. canis* não observaram casos positivos para esta bactéria. Porém ao testar 120 amostras de cães, provenientes do litoral catarinense, utilizando a mesma técnica, Sartor et al. (2006), constataram uma ocorrência de 33,33% (40/120) de animais positivos para *E. canis*.

Como relatado por Labarthe et al. (2003) a erliquiose canina parece ser altamente endêmica em várias regiões do Brasil, embora dados de prevalência não estejam disponíveis em muitas delas.

Em 1989, nos Estados Unidos, Barton e Foy (1989) publicaram o segundo relato oficial de caso de erliquiose em humanos. Tratava-se de um menino de quatro anos de idade residente em uma área rural do estado de Missouri. Os autores comentam que embora oficialmente apenas dois casos tenham sido relatados, tinham conhecimento de pelo menos mais 45 casos em diferentes estados daquele país. Na ocasião, foram colhidos diversos carrapatos parasitando o paciente e seu cão, porém os autores não mencionaram a identificação da espécie, apesar de ressaltarem que o ixodídeo transmissor do patógeno para os cães é *R. sanguineus*.

O potencial zoonótico da *E. canis* foi contatado por Perez et al. (2006) ao diagnosticarem por meio da PCR seis casos de seres humanos infectados por *E. canis* na Venezuela. Manifestações clínicas relatadas foram febre, erupção cutânea, dor de cabeça, mal-estar, mialgia, artralgia e citopenia.

O diagnóstico laboratorial é rotineiramente realizado pela identificação direta de estruturas morfológicamente compatíveis com mórulas de *E. canis* em amostras

de sangue periférico, aliada a alteração dos parâmetros hematológicos (NAKAGHI et al., 2008).

A análise da extensão sanguínea de 100 cães com suspeita de hemoparasitose, atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Federal Rural de Pernambuco, revelou que 9% foram positivas para *E. canis*. Ao realizar PCR foi observado 57% de positividade destas mesmas amostras (RAMOS et al., 2009).

Ao comparar kits comerciais baseados em teste de ELISA e a RIFI com relação a especificidade e sensibilidade, Harrus et al. (2002) concluíram que os kits foram especialmente sensíveis e específicos para títulos de RIFI $\geq 1:320$. Os autores recomendam que, para minimizar problemas de sensibilidade, o teste seja repetido uma a duas semanas depois do primeiro ensaio.

Um estudo realizado em dois distritos do município de Salvador (BA) investigou por RIFI e PCR a prevalência de *E. canis*. Dos 472 cães estudados, 35,6% (168/472) foram sororreagentes na RIFI ($\geq 1:80$) e destes, 34,5% (58/168) estavam positivos na PCR. Os autores ressaltam que pode ser interessante a associação destas duas técnicas para o diagnóstico da EMC (SOUZA et al., 2010).

Harrus et al. (2004) analisaram, por PCR, amostras de sangue periférico e de aspirado de baço durante o curso da infecção e tratamento de cinco cães infectados experimentalmente por *E. canis*, os autores constataram que, durante a fase aguda de infecção se obteve a mesma eficiência na detecção de Ácido Desoxirribonucleico (DNA) tanto na PCR do sangue quanto em aspirado esplênico, entretanto, após a não detecção do DNA do parasito no sangue, ainda foi possível essa detecção em amostra de aspirado do baço de três dos cães analisados, demonstrando a melhor qualidade deste material para detecção do DNA. Como conclusão, os autores ressaltam a importância do uso de aspirado de baço para determinar a total eliminação de *E. canis* e o sucesso do tratamento.

A PCR é considerada técnica de escolha para o diagnóstico da EMC, pois pode detectar o agente mesmo antes da formação de mórulas ou da soroconversão (SCOLA; RAOULT, 1997).

A PCR, em particular a nested-PCR e a PCR em tempo real, vem sendo utilizada para a amplificação de genes específicos do DNA de *E. canis* no sangue de cães infectados, o que permite sua evidência durante a fase aguda de infecção mesmo que essa bactéria exista em quantidades ínfimas na amostra (DAVOUST; BONI; PARZY, 1999; MATHEW et al., 2000)

Em Cuiabá (MT), um estudo envolvendo 254 amostras de cães de área urbana, colhidas entre setembro de 2007 e abril de 2009, constatou através de RIFI ($\geq 1:40$) uma prevalência de 42,5%. Não se observou associação significativa entre a soroprevalência e as variáveis: sexo, faixa etária, raças e acesso à rua ou à zona rural (SILVA et al., 2010).

O diagnóstico de EMC deve ser feito conjugando a anamnese, sinais clínicos e resultados de testes laboratoriais. As coinfeções com outros agentes patogênicos transmitidos por carrapatos podem influenciar os sinais clínicos e as alterações laboratoriais, complicando assim o diagnóstico. A contagem de plaquetas e a sorologia são boas análises laboratoriais; entretanto, técnicas de PCR e sequenciamento são testes confirmatórios definitivos para a infecção por *E. canis* (HARRUS; WANER, 2011).

2.3 RANGELIOSE CANINA (“NAMBIUVÚ”)

“Nambiuvú” (orelhas de sangue), “peste de sangue” ou “febre amarela dos cães” é uma enfermidade que geralmente afeta cães de áreas rurais e suburbanas nas regiões Sul e Sudeste do Brasil. Ao longo de anos esta doença foi associada a um organismo não classificado que ocorre no interior de células endoteliais, eritrócitos e leucócitos (LORETTI; BARROS, 2005).

Carini (1908) observou cães apresentando uma doença mencionada como o Nambiuvú. Suspeitava ser um piroplasma, pois apresentava sinais de icterícia semelhante à babesiose, uma doença que não havia sido descrita no Brasil. Pestana (1910a, 1910b) estudou a morfologia e descreveu aspectos epidemiológicos, clínicos e patológicos da doença causada por um piroplasma atípico e para o qual propôs o nome de *Piroplasma vitalii*. Carini e Maciel (1914) publicaram um trabalho sobre esta doença reafirmando ser causada por uma nova espécie de piroplasma canino que deveria ser incluído em um gênero separado e ser renomeado como *Rangelia vitalii* em homenagem a Bruno Rangel Pestana.

Soares et al. (2011), após um estudo filogenético molecular de *R. vitalii* usando PCR, concluíram que o agente do “nambiuvú” é uma espécie válida de piroplasmídeo. Separou-se, em conclusão aos achados neste estudo, *R. vitalii* de espécies de *Babesia* spp. que infectam cães, tais como *B. canis vogeli* e *B. gibsoni*. Desde então,

a PCR tem se mostrado de grande valia para o diagnóstico e pesquisas sobre rangeliose.

Lemos et al. (2012) utilizando a PCR, e posterior sequenciamento, para pesquisa de *R. vitalii*, observaram que seis amostras possuíam alta homologia (99-100%) com a *R. vitalii* encontrada por Soares et al. (2011) no Sul do Brasil, confirmando assim, a presença deste parasito, além de *Babesia canis vogeli* em cães em Teresópolis, Rio de Janeiro, Brasil.

Estes estudos suportam fortemente a noção de que *R. vitalii* constitui um taxon diferente de espécies de piroplasmas caninos anteriormente descritos, embora ainda seja necessária uma análise filogenética mais profunda para um posicionamento definitivo (FRANÇA et al., 2014).

Apesar do ciclo biológico de *R. vitalii* não estar completamente elucidado, sabe-se que o parasito tem um estágio de desenvolvimento eritrocitário, em que o protozoário se replica nos eritrócitos, e um estágio exo-eritrocitário no qual o parasito se multiplica no interior de um vacúolo parasitóforo situado no citoplasma das células endoteliais dos capilares sanguíneos (CARINI; MACIEL, 1914; CARINI, 1948; PESTANA, 1910b). Na extensão sanguínea corada com Giemsa, Soares et al. (2011), encontraram piroplasmas de *R. vitalii* dentro de eritrócitos, monócitos e neutrófilos (formas individuais) e esquizontes dentro de neutrófilos.

Segundo Loretti e Barros (2004) *R. vitalii* é encontrada em cães parasitados por *A. aureolatum* e *R. sanguineus*, e a maior parte dos casos de rangeliose é observada em cães das zonas periurbanas e rurais, porém atualmente admite-se *A. aureolatum* como vetor exclusivo (SOARES, 2014).

Soares et al. (2014) ao constatarem, por meio da PCR, o parasitismo por *R. vitalii* em *Cerdocyon thous* (graxaim-do-mato), nos estados do Rio Grande do Sul e de São Paulo, alertam para a possibilidade do ciclo silvestre deste protozoário. O protozoário também foi diagnosticado parasitando *Lycalopex gymnocercus* (raposa-do-campo) no Rio Grande do Sul e em Santa Catarina (FREDO et al., 2015; QUADROS et al., 2015)

De acordo com Figuera (2007) o protozoário *R. vitalii* é descrito no Brasil, mais frequentemente nas épocas quentes do ano quando a ocorrência de carrapatos no ambiente é maior, entretanto, casos de rangeliose podem ser observados em menor número em outras estações.

Loretti e Barros (2004) relataram ainda que, no estado de Santa Catarina, região Sul do Brasil, há histórico de doença que ocorre em cães das zonas rurais e que tipicamente causa sangramento bilateral profuso através das orelhas e, com frequência, a morte.

Segundo Figuera et al. (2010) o parasito causa doença hemolítica exclusivamente extravascular e de origem imunomediada. A rangeliose cursa invariavelmente com algum grau de hemorragia detectado na necropsia, mas nem sempre clinicamente perceptível.

Os principais sinais que devem chamar a atenção para a suspeita clínica são anemia, icterícia e esplenomegalia. O principal achado hematológico é a ocorrência de anemia com sinais de regeneração eritróide (FRANÇA, 2013; SILVA et al., 2011).

A principal lesão observada é uma associação de hiperplasia linfóide, predominantemente plasmocitária, por vezes granulomatosa. Após o aparecimento de anemia regenerativa o agente pode ser encontrado nos linfonodos, no baço, na medula óssea e no coração (FIGHERA et al., 2010).

França (2013) observou em animais experimentalmente infectados, que 10 dias pós-infecção (DPI) os cães apresentaram anemia normocítica normocrômica e reticulocitose, porém aos 20 DPI exibiram anemia macrocítica hipocrômica e aumento na amplitude de distribuição eritróide (RDW). Com relação aos leucócitos se observou uma significativa redução devido a neutropenia e a eosinopenia a partir do 10 DPI e linfocitose e monocitose a partir do 20 DPI.

Costa et al. (2012) observaram aumento de alanina aminotransferase (ALT) aos 20 DPI. Também observaram aumento de aspartato aminotransferase (AST) e creatina quinase (CK) durante os 30 dias em que monitoraram animais experimentalmente infectados por *R. vitalii*.

Silva et al. (2011), em infecção experimental com *R. vitalii* em cães encontraram em extensão sanguínea corada por coloração de Romanovsky, formas intra-eritrocitárias do parasito cinco DPI. A parasitemia aumentou progressivamente com o pico entre os 9 e 11 DPI. Posteriormente, a parasitemia reduziu e o protozoário foi visto no interior de leucócitos nos 17, 19 e 21 DPI. Os sinais clínicos mais observados no 20 DPI foram letargia, febre e anorexia.

França et al. (2010) diagnosticaram a infecção por *R. vitalii* em sete cães atendidos no hospital veterinário da Universidade Federal de Santa Maria. Os animais apresentavam palidez de mucosas, hipertermia, apatia e sangramento na borda da

orelha. Na extensão sanguínea foi possível observar organismos intracelulares em eritrócitos, neutrófilos e monócitos de cinco animais.

Ao analisar o eritrograma, França et al. (2010) constataram significativa redução da contagem de eritrócitos, hemoglobina e hematócrito se comparados aos valores de referência da espécie (WEISS; WARDROP, 2011). Em amostras de cinco animais se verificou uma anemia macrocítica hipocrômica, porém em outros dois cães a anemia era normocítica normocrômica. Verificou-se ainda anisocitose e policromasia que, segundo os autores, são sugestivas de anemia regenerativa. As constatações de estudo estão de acordo com Krauspenhar, Figuera e Graça (2003) que sugerem que a presença do parasito induz a uma anemia hemolítica imunomediada de caráter regenerativo, porém segundo estes pesquisadores o protozoário é raramente encontrado no sangue sendo mais frequentemente encontrado em linfonodos, medula óssea e rins. O leucograma mostrou-se inconsistente, segundo os autores, por variar da leucopenia a leucocitose em diferentes animais. De acordo com Figuera (2007), na rangeliase é mais frequente a ocorrência de leucocitose por neutrofilia com desvio a esquerda regenerativo podendo haver também linfocitose e monocitose.

Com a validação do gênero *Rangelia* e o desenvolvimento de técnicas de PCR para o diagnóstico de infecção por este protozoário por Soares et al. (2011) tornou-se possível o diagnóstico molecular de infecções naturais por este parasito, relatado por meio desta técnica, em localidades no sudeste e sul do Brasil e também em países do Cone Sul da América Latina.

Por meio da PCR, Soares et al. (2011) confirmaram a ocorrência de *R. vitalii* em Santa Maria e Cachoeira do Sul, no estado do Rio Grande do Sul.

Entre 2011 e 2014, Soares (2014) analisou amostras provenientes de municípios das regiões Sul e Sudeste do Brasil e constatou a ocorrência de animais infectados em dois municípios do estado de Minas Gerais, sete do estado de São Paulo e 11 do Rio Grande do Sul. Do estado de Santa Catarina uma amostra foi positiva, proveniente do município de Xanxerê, região Oeste do Estado. Segundo o autor, foi a primeira vez que se detectou amostras positivas por PCR em MG, SP e SC. Não há registros de casos detectados em cães em outras regiões de Santa Catarina por esta técnica até o presente momento.

Além deste estudo, Fischer et al. (2009), constataram a ocorrência de infecção por *R. vitalii* em Pelotas (RS) e Lemos et al. (2012), em Teresópolis (RJ).

Lemos et al. (2012) realizaram PCR do sangue de cães e, de 103 amostras, obtiveram 5,8% (6/103) de positividade enquanto que pela técnica da extensão sanguínea somente três amostras foram positivas.

Na Argentina e no Uruguai, recentemente foram relatados os primeiros casos em caninos diagnosticados com uso da PCR (EIRAS et al., 2014; SOARES et al., 2015).

2.4 CARRAPATOS VETORES DE DOENÇAS PARA OS CÃES

Os carrapatos são invertebrados hematófagos que dependem, obrigatoriamente, de se alimentar do sangue de animais para sua sobrevivência (LA FUENTE, 2003).

Estes artrópodes pertencem a ordem Arachnida. Os ditos “carrapatos moles” (família: Argasidae) fixam-se no hospedeiro, tem alimentação completa dentro de alguns minutos, e prontamente se desprendem. Os “duros” (família: Ixodidae) alimentam-se por tempo prolongado e permanecem aderidos através de seu aparelho bucal por vários dias antes de completar o ingurgitamento (FORTES, 2004).

Sucessivas refeições em hospedeiros diferentes, como fazem os carrapatos ixodídeos trioxenos *Rhipicephalus sanguineus* e *Amblyomma* spp., ao parasitarem cães e outras espécies, permitem a transmissão de agentes patogênicos presentes no sangue, de um hospedeiro para outro (MASSARD; FONSECA, 2004).

Além disso, espécies de carrapatos com baixa especificidade de hospedeiros podem transmitir microrganismos de espécies reservatório incidentais (por exemplo, roedores) para espécies sensíveis. O risco de transmissão da doença, portanto, é determinado pela prevalência de carrapatos e pela probabilidade de um encontro entre um carrapato infectado e um hospedeiro suscetível (FRITZ, 2009).

A diversidade de espécies de carrapatos parasitando cães no Brasil é resultante dos diferentes ecossistemas do território nacional. Nesse sentido, as características ambientais e a diversidade de espécies de hospedeiros de cada área são os pontos fundamentais para a existência de determinadas espécies de carrapatos nos cães (MASSARD; FONSECA, 2004).

Rhipicephalus sanguineus é um ixodídeo amplamente distribuído nas Américas e vetor de *Babesia canis vogeli* e *Ehrlichia canis*, é altamente prevalente em áreas urbanas e periurbanas. Já os carrapatos do gênero *Amblyomma* são mais prevalentes

em áreas rurais e também florestais (LABRUNA et al., 2001; MASSARD; FONSECA, 2004).

Amblyomma aureolatum se encontra amplamente distribuído em áreas da Mata Atlântica brasileira. É encontrado, na fase adulta parasitando canídeos silvestres e cães de áreas rurais. Fases jovens deste parasito são mais frequentemente observadas parasitando roedores silvestres (GUGLIELMONE et al., 2003; PINTER et al., 2004).

A intensidade média e a prevalência de infestação por ixodídeos em cães pode variar amplamente, tanto em termos geográficos como sazonais. Estes e outros parâmetros ecológicos relacionados aos hospedeiros podem também variar de acordo com diversos fatores ligados a população (por exemplo, a densidade da população de cães e proporção dos cães tratados com ectoparasiticidas ou repelentes de carrapatos) e individuais (por exemplo, idade, raça e hábitos) (PASSOS et al., 2005).

Além disso, a carga parasitária é muitas vezes maior entre os cães urbanos em comparação com os rurais. Em algumas áreas rurais, *R. sanguineus* pode estar ausente e cães podem ser infestados por muitas outras espécies de carrapatos (por exemplo, *Amblyomma oblongoguttatum*, *Amblyomma ovale*, e *Amblyomma sculptum* em algumas áreas do Brasil) (DANTAS-TORRES, 2008).

Em Santa Catarina, Bellato et al. (2003) realizaram um levantamento sobre os ectoparasitos encontrados em cães na cidade de Lages e identificaram cães parasitados por *A. aureolatum*, porém não encontraram *R. sanguineus* parasitando os animais durante o estudo. Já segundo observaram Stalliviere et al. (2009), na área urbana do município de Lages, é possível constatar a presença de cães parasitados por *R. sanguineus* porém de 622 animais amostrados apenas um (0,16%) cão infestado foi encontrado e segundo os autores essa frequência baixa pode ocorrer em virtude do clima ser desfavorável ao desenvolvimento do ixodídeo. Também, Quadros et al. (2012) relataram o parasitismo por *A. aureolatum* e *Amblyomma tigrinum* em carnívoros silvestres do planalto catarinense.

Em regiões de clima mais quente em Santa Catarina, como Médio Vale do Itajaí e Grande Florianópolis, podem ser encontrados cães parasitados por *Rhipicephalus microplus*, *R. sanguineus*, *A. aureolatum*, *A. sculptum* e *A. ovale* (LAVINA et al., 2014), possíveis vetores de diversos patógenos, entre eles *Babesia*, *Ehrlichia* e *Rangelia* (COSTA, 2011; MURRELL; BARKER, 2003; SOARES, 2014).

3 OBJETIVOS

3.1 GERAL

- Pesquisar a ocorrência de *Babesia canis vogeli*, *Ehrlichia canis* e *Rangelia vitalii* em cães em dois diferentes municípios do estado de Santa Catarina.

3.2 ESPECÍFICOS

- Verificar a ocorrência de *B. canis vogeli*, *E. canis* e *R. vitalii* em cães suspeitos de hemoparasitoses atendidos em clínicas e hospitais veterinários nos municípios de Blumenau e Lages, Santa Catarina.

- Verificar a ocorrência de *B. canis vogeli*, *E. canis* e *R. vitalii* em cães com histórico de parasitismo por ixodídeos em domicílios rurais e urbanos nos municípios de Blumenau e Lages, Santa Catarina.

- Verificar a ocorrência de carrapatos vetores de *B. canis vogeli*, *E. canis* e *R. vitalii* em cães domiciliados nas áreas urbanas e rurais nos municípios de Blumenau e Lages em Santa Catarina.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Esta pesquisa foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA), do Centro de Ciências Agroveterinárias, da Universidade do Estado de Santa Catarina sob protocolo nº 2474060516.

4.1 LOCAIS DE ESTUDO

O município de Blumenau localiza-se na Mesorregião do Vale do Itajaí em Santa Catarina, a 21m de altitude e nas coordenadas 26° 55' 08" latitude Sul e 49° 03' 57" longitude Oeste. O clima do município é subtropical Cfa (mesotérmico úmido e verão quente) segundo a classificação Köppen-Geiger, com temperatura média anual de 20°C, umidade relativa do ar média de 85% e pluviosidade média de 1460 mm/ano (PANDOLFO et al., 2002).

Lages está localizado na mesorregião Serrana nas coordenadas 27° 48' 58" Sul e 50° 19' 34" Oeste e a 884m de altitude. O clima é temperado Cfb (mesotérmico úmido e verão ameno) segundo a classificação Köppen-Geiger, com temperatura média de 14°C, umidade relativa do ar média de 79% e pluviosidade média anual de 1400 mm (PANDOLFO et al., 2002).

4.2 AMOSTRAS

As amostras do sangue de cães acima de um ano de idade foram obtidas por visitas a residências e também em clínicas veterinárias, entre setembro de 2015 a janeiro de 2017.

Em virtude de o estudo buscar a ocorrência de hemoparasitos transmitidos por carrapatos ixodídeos, durante a visita aos domicílios foram consideradas apenas amostras de animais que estavam parasitados no momento da colheita ou que tinham histórico de parasitismo por um período de até um ano anterior à data da colheita. Já as amostras provenientes de clínicas veterinárias foram colhidas de animais suspeitos de hemoparasitoses.

Em ambas as situações as amostras foram divididas de acordo com o município e área onde os animais eram domiciliados.

Ao final do período foram obtidas um total de 138 amostras que foram divididas em dois momentos.

O momento A (mA) de amostras colhidas em clínicas, de animais com suspeita de hemoparasitoses, tanto em áreas rurais quanto em áreas urbanas de Lages e Blumenau. Foram obtidas 17 amostras desse segmento, sendo:

- Blumenau = 1 animal de área rural e 5 de área urbana.
- Lages = 11 animais de área urbana (não foram obtidas amostras de área rural).

E o momento B (mB) composto por 121 amostras obtidas de animais com histórico de ixodidiose por meio de visita a domicílios nas duas localidades e que foram divididas em:

- Area Urbana:
 - ✓ Blumenau = 25
 - ✓ Lages = 4
- Area Rural:
 - ✓ Blumenau = 59
 - ✓ Lages = 33

Dados sobre sexo, idade e faixa etária, raça, endereço, tipo de alimentação, número de caninos na propriedade, se o animal fica solto ou fechado em uma determinada área da propriedade, se o animal transita entre área urbana e rural ou vice-versa, também a presença e histórico de parasitismo por carrapatos nos cães foram obtidos por meio de um questionário (Anexo 1) e do exame físico.

4.3 IDENTIFICAÇÃO DOS CARRAPATOS

Após a inspeção visual dos animais e constatada a presença de carrapatos, estes foram colhidos e preservados a -20°C para posterior identificação no Laboratório de Protozoologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Procedeu-se a identificação dos ixodídeos de acordo com Barros-Battesti; Arzua; Bechara (2006).

4.4 REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE

As amostras de sangue para a realização da PCR foram colhidas com auxílio de agulhas e tubos (5mL) a vácuo, por venopunção jugular, com anticoagulante Ácido Etilenodiamino Tetra-acético (EDTA). Após a colheita foram mantidas congeladas a -20°C até o momento de realização dos ensaios.

A extração de DNA das amostras de sangue foi realizada individualmente usando o Purelink Genomic DNA Mini Kit® (Invitrogen®) seguindo o protocolo do fabricante.

Primeiramente as amostras passaram por uma triagem por PCR (BAB2) convencional, em gel de agarose a 1,5% corado com Safer dye (Kasvi®), com o objetivo de detectar positivos para piroplasma testando-as utilizando os *primers* BAB-143-167 (5'- CCGTGCTAATTGTAGGGCTAATACA-3') senso e BAB-694-667 (5'- GCTTGAAACACTCTARTTTTCTCAAAG-3') anti-senso, desenvolvidos para amplificar um fragmento de aproximadamente 551pb do gene 18S rRNA (SOARES, 2011).

As amostras positivas foram, então, testadas para obtenção de amplicons específicos para *Babesia canis vogeli* e/ou *Rangelia vitalii*.

Para diagnóstico de *R. vitalii* foi realizada a técnica de Taqman Real-Time PCR das amostras segundo Soares (2014). Utilizou-se os primers senso Rv751-770 (5'- GCGTATCCCGAAGATTCAAA- 3') e antisenso Rv930-911 (5'- AGT GAA AGC GGT GCA ACA TC- 3') e a sonda [5'- 6-FAM (CCTTATCAAATCATTCTTC) MGB NFQ -3'] com objetivo de amplificar um fragmento de 179-pb do gene *hsp70* de *R. vitalii*.

Para detecção de *Ehrlichia canis* empregou-se a técnica Real-Time PCR (qPCR) em todas as amostras, conforme Doyle et al. (2005), visando à amplificação do gene (*dsb*), empregando-se os primers *dsb*-321 (5'- TTGCAAATGATGTCTGAAGATATGAAACA-3') e *dsb*-671 (5'- GCTGCTCAACCAAGAAATGTATCCCCTA-3') e a sonda *E. canis* - específica (5'- FAM AGCTAGTGCTGCTTGGGCAACTTTGAGTGAA-BHQ-1-3').

Os dados obtidos foram tabulados e as porcentagens calculadas com o auxílio do programa Excel®.

5 RESULTADOS

A origem das amostras (n=17) de animais atendidos com suspeita de hemoparasitose em clínicas veterinárias (mA) está apresentada na Tabela 1. Dentre os animais, 47,1% (8/17) apresentavam anemia, sendo este o sinal clínico mais frequente (Tabela 2). Este sinal foi relatado como único em 50% (4/8) dos cães anêmicos. Nos outros 50% (4/8) dos animais foram relatados esse sinal associado à icterícia, à epistaxe, sangramento de orelha ou apatia e anorexia.

Tabela 1 – Distribuição das amostras de animais suspeitos de hemoparasitose atendidos em clínicas veterinárias

Município	Área		Total
	Rural	Urbana	
Blumenau	1 (16,6%)	5 (83,4%)	6
Lages	0	11 (100%)	11
Total	1 (5,9%)	16 (94,1%)	17

Com relação à pesquisa de hemoparasitos, três destes 17 cães (17,65%) foram positivos na PCR para piroplasmas (*Babesia* spp. ou *R. vitalii*). Destes cães, um foi positivo para *Babesia canis vogeli* e era proveniente da área urbana de Blumenau, e dois foram positivos para *R. vitalii*, sendo um cão domiciliado na área rural de Blumenau e um residente em área urbana de Lages. Nenhum animal apresentou resultado positivo para *E. canis* (Tabela 3).

Ambos os animais positivos para *R. vitalii* eram sem raça definida (SRD) e com idade entre um e três anos. O canino residente em Lages era uma fêmea e o domiciliado em Blumenau um macho. Estes animais apresentaram sinal clínico de icterícia como relatado pelo médico veterinário. Apesar de relatado parasitismo por carrapatos em ambos os animais, não foram obtidos espécimes para identificação.

A fêmea canina positiva para *Babesia canis vogeli* residia na área urbana de Blumenau, era da raça Yorkshire e tinha 10 anos de idade. Este animal não frequentava a área rural, porém acessava áreas públicas da cidade e tinha contato com outros animais. Ao exame físico o médico veterinário destacou apenas sinais de um animal apático. Também foi constatado parasitismo por carrapato, porém não foram disponibilizados ixodídeos para identificação.

Tabela 2 – Sinais observados em cães atendidos em clínicas suspeitos de hemoparasitoses em Lages e Blumenau

Sinais Observados	Nº de Casos
Anemia+epistaxe	1 (5,9%)
Anemia+sangue na orelha	1 (5,9%)
Anemia	4 (23,5%)
Anemia+apatia+anorexia	1 (5,9%)
Anemia+icterícia	1 (5,9%)
Anorexia+icterícia	1 (5,9%)
Apatia+anorexia	1 (5,9%)
Apatia	2 (11,7%)
Epistaxe	1 (5,9%)
Icterícia	1 (5,9%)
Ixodidiose	1 (5,9%)
Sangue na orelha	2 (11,7%)
Total	17

Tabela 3 – Distribuição do número de casos de acordo com o resultado da PCR de cães atendidos em clínicas veterinárias (continua)

Municípios	Variável	<i>Rangelia vitalii</i>		<i>Babesia canis vogeli</i>	
		Positivo	Negativo	Positivo	Negativo
Blumenau (área)	rural	1 (100%)	0	0	1 (100%)
	urbana	0	5 (100%)	1 (20%)	4 (80%)
Lages	rural	0	0	0	0
	urbana	1 (9,1%)	10 (90,9)	0	11 (100%)
Blumenau (sexo)	macho	1 (33,3%)	2 (66,7%)	0	3 (100%)
	fêmea	0	3 (100%)	1 (33,3%)	2 (66,7%)
Lages	macho	0	6 (100%)	0	6 (100%)
	fêmea	1 (20%)	4 (80%)	0	5 (100%)
Blumenau (habitat na propriedade)	Dentro de casa	0	2 (100%)	1 (50%)	1 (50%)
	Fora de casa	1 (25%)	3 (75%)	0	4 (100%)
Lages	Dentro de casa	0	1 (100%)	0	1 (100%)
	Fora de casa	1 (12,5%)	7 (87,5%)	0	8 (100%)
	Dentro e fora de casa	0	2 (100%)	0	2 (100%)
Blumenau (acesso à rua, mata, outros locais)	sim	1 (20%)	4 (80%)	1 (20%)	4 (80%)
	não	0	1 (100%)	0	1 (100%)
Lages	sim	1 (25%)	3 (75%)	0	4 (100%)
	não	0	7 (100%)	0	7 (100%)

Tabela 2 – Distribuição do número de casos de acordo com o resultado da PCR de cães atendidos em clínicas veterinárias (continuação)

Municípios	Variável	<i>Rangelia vitalii</i>		<i>Babesia canis vogeli</i>	
		Positivo	Negativo	Positivo	Negativo
Blumenau (mobilidade rural ⇔ urbana)	sim	1 (33,3%)	2 (66,7%)	1 (33,3%)	2 (66,7%)
	não	0	3(100%)	0	3(100%)
Lages	sim	1 (33,3%)	2(66,7%)	0	3(100%)
	não	0	8(100%)	0	8(100%)
Blumenau (contactantes)	Cães	1 (16,7%)	5 (83,3%)	1	5 (83,3%)
Lages	Cães	1 (16,7%)	5 (83,3%)	0	6 (100%)
	Cães e silvestres	0	1 (100%)	0	1 (100%)
	Não canídeos	0	1 (100%)	0	1 (100%)
	nenhum	0	3 (100%)	0	3 (100%)
Blumenau (histórico de carrapatos)	sim	1 (20%)	4 (80%)	1 (20%)	4 (80%)
	não	0	1 (100%)	0	1 (100%)
Lages	sim	1 (20%)	4 (80%)	0	5 (100%)
	não	0	6 (100%)	0	6 (100%)
Blumenau (sinais)	anemia	0	1 (100%)	0	1 (100%)
	apatia	0	2 (100%)	1 (50%)	1 (50%)
	apatia+anorexia	0	1 (100%)	0	1 (100%)
	Anorexia +icterícia	1 (100%)	0	0	1 (100%)
	nenhum	0	1 (100%)	0	1 (100%)
Lages	anemia	0	3 (100%)	0	3 (100%)
	icterícia	0	1 (100%)	0	1 (100%)
	epistaxe	0	1 (100%)	0	1 (100%)
	apatia+anorexia +anemia	0	1 (100%)	0	1 (100%)
	anemia+icterícia	1 (100%)	0	0	1 (100%)
	anemia+epistaxe	0	1 (100%)	0	1 (100%)
	e anemia+sangra orelha	0	1 (100%)	0	1 (100%)
	sangra orelha	0	2 (100%)	0	2 (100%)

Tabela 2 – Distribuição do número de casos de acordo com o resultado da PCR de cães atendidos em clínicas veterinárias (conclusão)

Municípios	Variável	<i>Rangelia vitalii</i>		<i>Babesia canis vogeli</i>	
		Positivo	Negativo	Positivo	Negativo
Blumenau (faixa etária)	1 a 4 anos	1 (50%)	1 (50%)	0	2 (100%)
	9 a 12 anos	0	4 (100%)	1 (25%)	3 (75%)
Lages	1 a 4 anos	1 (12,5%)	7 (87,5%)	0	8 (100%)
	5 a 8 anos	0	1 (00%)	0	1 (100%)
	13 a 17 anos	0	2 (100%)	0	2 (100%)
Blumenau (raça)	SRD	1 (33,3%)	2 (66,7%)	0	3 (100%)
	Raças definidas	0	3 (100%)	1 Yorkshire (33,3%)	2 (66,7%)
Lages	SRD	1 (14,3%)	6 (85,7%)	0	7 (100%)
	Raças definidas	0	4 (100%)	0	4 (100%)

Dos 121 animais domiciliados (mB), que tinham histórico de parasitismo por carrapato e nos quais, não se observou sinais de hemoparasitose, as amostras foram negativas para os hemoparasitos objetos do estudo. Destas amostras, 69,4% (84/121) foram colhidas em Blumenau e 30,6% (37/121) são provenientes de Lages. Das colheitas em Blumenau 70,2% (59/84) foram realizadas em animais da zona rural e 29,2% (25/84) da área urbana. Em Lages obteve-se 89,2% (33/37) das amostras na área rural e 10,8% (4/37) na zona urbana.

No que diz respeito ao sexo, 51,2% (62/121) das amostras foram de machos e 48,8 (59/121) foram de fêmeas, sendo que em Lages 64,9% (24/37) eram de machos e 35,1% (13/37) de fêmeas, já em Blumenau 54,8% (46/84) foram de fêmeas e 45,2% (38/84) de machos.

Pastor Alemão, com 7,4% (9/121) das amostras, foi a mais frequente dentre os animais com raça definida, porém 57% (69/121) das colheitas foram realizadas em animais sem raça definida (SRD).

No município de Lages, segundo os proprietários dos 37 animais, 97,3% (36/37) habitam apenas o ambiente externo da casa e não transitam no interior da residência. E destes 83% (30/36) tem acesso à rua, mata ou qualquer outro ambiente estranho a propriedade e, também segundo os proprietários, 47% (14/30) dos cães tem contato com animais silvestres além de outros cães. Nenhum dos cães circula entre as áreas urbana e rural.

Ainda com relação a Lages 51,4% (19/37) situam-se na faixa etária entre 1 a 4 anos de idade e em Blumenau 75% (63/84) também nessa faixa etária.

No município de Blumenau, de acordo com o informado pelos proprietários, 92,9% (78/84) dos animais não têm acesso ao interior das residências permanecendo restritos a quintais, pátios ou soltos nas cercanias das propriedades, entretanto, 75,6% (59/78) destes cães têm acesso à rua, matas ou outros ambientes fora da propriedade. Dos 59 cães com acesso ao exterior da propriedade apenas 15,3% (9/59) têm relato de contato com animais silvestres, sendo 66,6% (6/9) de área rural e 33,4% (3/9) de área urbana; 72,9% (43/59) dos animais, segundo os proprietários, têm contato com outros cães, destes 81,4% (35/43) residem na zona rural e 18,6% (8/43) na urbana. Dentre os com acesso fora da propriedade, apenas 5,1% (3/59) transitam entre zona urbana e rural.

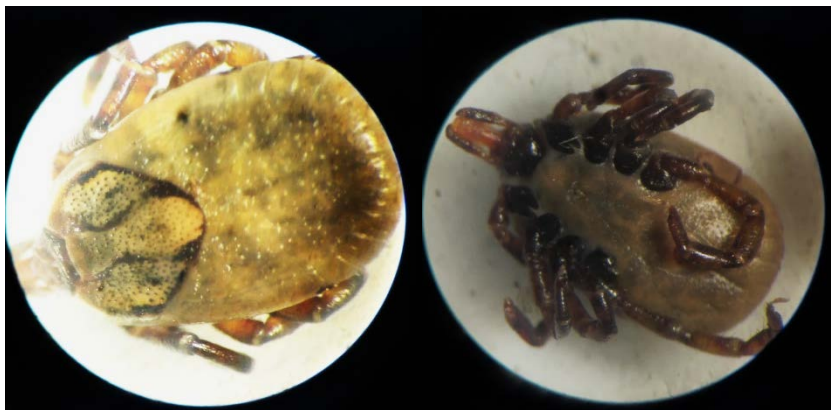
O proprietário de um cão Doberman, macho, de um ano de idade, da área rural de Blumenau, relatou que entre dois a seis meses anteriores à colheita, o animal apresentou mucosas amarelas. Deste cão foi colhida uma fêmea de *A. aureolatum*, mas os testes da PCR da amostra de sangue para os hemoparasitos estudados foram todos negativos. O proprietário não soube explicar detalhes sobre o tratamento e cuidados tomados com o animal por ocasião da manifestação dos sinais de icterícia. Este animal tinha acesso a mata e contato apenas com outros cães. O proprietário não relatou contato com animais silvestres.

Dentre os 121 animais domiciliados, 10 (8,3%) apresentavam ixodidiose no momento da colheita e foi possível obter espécimes de carrapatos destes cães.

Destes 10 animais, três (30%) eram de Lages. Um animal estava infestado exclusivamente por *R. sanguineus* (Figura 3), em outro cão foi encontrado somente exemplares de *R. microplus* e foi observada infestação mista de *R. microplus* e *A. aureolatum* (Figura 1) em um terceiro animal. Todos residiam na área rural.

Do total de cães dos quais foram colhidos carrapatos, 70% (7/10) residem na área rural de Blumenau. Em três (43%) foram encontrados simultaneamente parasitismo por *A. aureolatum* e *A. ovale*. Apenas um cão (14%) tinha *A. aureolatum* como único ectoparasito e em três (43%) foram encontrados somente espécimes de *A. ovale* (Figura 2). Nestes animais a espécie mais frequentemente encontrada foi *A. ovale* 86% (6/7).

Figura 1 – Fêmea de *Amblyomma aureolatum* extraído de um cão



Fonte: próprio autor

Figura 2 – Macho de *Amblyomma ovale* retirado de um cão



Fonte: próprio autor

Figura 3 – Machos de *Rhipicephalus sanguineus* obtidos de um cão



Fonte: próprio autor

6 DISCUSSÃO

Este estudo detectou DNA de *Babesia canis vogeli* em um cão, fêmea, da raça Yorkshire, com 10 anos de idade residente na área urbana de Blumenau. Este animal, embora criado dentro de casa, tem acesso à rua e contato com outros cães, sendo assim exposto ao risco de contrair infestações por carrapatos como citam Labruna e Pereira (2001). Estes autores ressaltam que animais de área urbana estão mais sujeitos ao parasitismo por *R. sanguineus*, todavia outros estudos têm constatado a ixodidiose por esta espécie e, também a babesiose canina, em animais de área rural (ARAÚJO et al., 2015; SILVA et al., 2012).

Como comprovado por Regendanz e Muniz (1935), o *R. sanguineus* é o carrapato transmissor da *Babesia canis vogeli* no Brasil, assim, provavelmente o carrapato visto parasitando este cão pertencia a esta espécie, entretanto não se obteve exemplares que comprovem essa suspeita. Lavina et al. (2014) relataram a ocorrência de *R. sanguineus* parasitando cães na região do Vale do Itajaí, onde está localizada a cidade de Blumenau, corroborando essa hipótese.

Mesmo que a raça Yorkshire não esteja relacionada entre as raças mais frequentemente acometidas por babesiose, de acordo com Benigno; Rodrigues e Serra-Freire (2011), animais de raça definida são mais predispostos a desenvolver a enfermidade que cães SRD.

A despeito de esta fêmea ser adulta, Taboada e Merchant (1991) ressaltam que animais jovens são mais predispostos a desenvolver babesiose, porém o parasitismo por *Babesia canis vogeli* pode ocorrer em cães de diferentes idades como esclarecem Costa-Júnior et al. (2009).

Segundo informações obtidas na clínica veterinária, além da presença do carrapato o animal apresentava apatia. Embora este sinal, ocorrendo como única manifestação clínica, seja insuficiente para um diagnóstico clínico seguro de babesiose, Guimarães et al. (2004) apontam que além do animal estar apático, outros sinais que podem ser frequentes na babesiose canina são: mucosas pálidas, febre, hiporexia e hemorragia nos coxins.

Um cão Pastor Alemão, atendido em Blumenau, e outro cão SRD, em Lages, foram diagnosticados com ixodidiose por *R. sanguineus*, conforme a identificação dos exemplares colhidos dos animais, mas os testes de PCR para hemoparasitos foram negativos, entretanto este achado reforça registros anteriores (BELLATO et al., 2003;

LAVINA et al., 2014) deste carrapato nestes municípios. Segundo relato dos médicos veterinários que atenderam esses animais, os mesmos não apresentavam sinais de hemoparasitose.

Por ter o vetor em comum, *E. canis* pode ser observada nas mesmas regiões onde se constata casos de babesiose canina (LABRUNA; PEREIRA, 2001; VARGAS-HERNÁNDEZ et al., 2012). Porém, neste estudo não foram encontrados animais positivos para *E. canis* pela PCR. Segundo Moraes-Filho et al. (2015) espécimes de *R. sanguineus* pertencentes ao clado temperado não são capazes de transmitir essa bactéria, portanto levantou-se a hipótese de serem esses os artrópodes presentes na região analisada.

A possibilidade de que os carrapatos obtidos no presente estudo não sejam capazes de transmitir *E. canis*, associada à constatação de que somente 0,7% (1/142) dos animais foram positivos ao teste de ELISA, para esta bactéria, em Santa Catarina (Labarthe et al., 2003), suportam a hipótese de que, em regiões de clima temperado, como a região do presente estudo, possa haver uma menor população de ixodídeos vetores competentes para transmitir esta rickettsia.

Os animais testados no presente estudo tinham mais de 12 meses de idade, e Ueno et al. (2009) observaram que maior frequência de positivos ocorre em animais até essa idade. Somado a este fato, a amostragem obtida no presente estudo não permite excluir a ocorrência deste patógeno na região, pois, como comprovado por Hoskins (1991), esta bactéria também pode ser transmitida por *R. sanguineus* e estar presente em infecções mistas com *Babesia canis vogeli*, como observaram Benigno; Rodrigues e Serra-Freire (2011). A PCR para *Ehrlichia* spp. é bastante sensível e específica e foi demonstrado que uma única reação de amplificação é capaz de identificar a presença de microorganismos mesmo em baixa parasitemia (DOYLE et al., 2005; McBRIDE et al., 1996).

As amostras de sangue analisadas nesta pesquisa para a detecção de DNA de *Ehrlichia canis* podem não representar a fonte mais adequada para estudos em animais assintomáticos ou cronicamente infectados, pois, de acordo com Harrus et al. (2004), a presença do parasito pode estar restrita a macrófagos no baço, o que reduz significativamente a possibilidade de se obter DNA do parasito em amostras sanguíneas. O aspirado de baço tem a mesma eficiência de detecção do parasito mesmo em uma infecção aguda. Sugere-se, portanto a análise de amostras de

aspirado de baço como método para análise de PCR em animais suspeitos, principalmente naqueles cronicamente infectados.

O parasitismo por *Rangelia vitalii* em cães e canídeos silvestres tem sido relatado no cone sul da América do Sul e também na região sul do Brasil (CARINI; MACIEL, 1914; CORREA et al., 2012; EIRAS et al., 2014; FREDO et al., 2017; PESTANA, 1910a; SOARES et al., 2014; SOARES et al., 2015). Entretanto em Santa Catarina há escassez de relatos. Até o presente estudo não havia relatos de pesquisa utilizando a PCR para a detecção deste parasito em cães domésticos nas regiões do Vale do Itajaí e do Planalto Serrano do estado de Santa Catarina. Nesta pesquisa foi possível constatar a ocorrência de um caso no município de Blumenau, localizado no Vale do Itajaí, e outro no município de Lages, no Planalto Serrano.

Foi obtida uma amostra positiva para *R. vitalii* em Blumenau. Este animal, SRD, era um macho de três anos de idade, residia na zona rural e foi atendido com sinais de anorexia e icterícia. Era um animal que frequentava ambientes de fora da propriedade (matas e ruas), transitava entre as áreas rural e urbana e tinha contato com outros cães. Histórico de parasitismo por carrapato foi relatado, porém não foram obtidas amostras dos ixodídeos para identificação.

Em Lages o animal positivo na PCR para *R. vitalii*, era uma fêmea, SRD, de um ano de idade, residente na área urbana e que apresentou sinais de anemia e icterícia. Mesmo sendo da zona urbana, este animal frequentava uma propriedade rural onde tinha liberdade de circular em áreas circunvizinhas do imóvel e, segundo o proprietário, tinha contato com cães da vizinhança e histórico de infestação por carrapatos. Também não foram obtidos exemplares de ixodídeos deste animal.

Pestana (1910b) já se referia à rangeliose como uma doença que acometia, mais frequentemente, cães jovens, o que comprovaram Correa et al. (2012) ao relatar o caso de um cão de 11 meses, e França et al. (2010), ao descreverem casos em cães com até cinco anos de idade. Em concordância com estes estudos esta também foi a faixa etária em que se encontravam os animais positivos em Lages e Blumenau. Entretanto, animais adultos também podem ser acometidos como observaram Eiras et al. (2014) ao relatar o primeiro caso de rangeliose na Argentina, em um cão de 12 anos de idade.

A icterícia, a anemia e a anorexia são sinais frequentemente presentes na rangeliose (FREDO et al., 2017), assim como sangramento de orelha e melena (FIGHERA et al., 2010). Porém sangramentos ou melena não foram observados ou

relatado nos animais parasitados por *R. vitalii* no presente estudo. Entretanto, corroborando com o observado por Fredo et al. (2017), os animais manifestaram apatia, anorexia, anemia e icterícia.

O animal positivo para *R. vitalii* de Blumenau residia na zona rural onde, segundo Soares (2014), há maior possibilidade de ocorrerem casos de rangeliose, principalmente se o animal tem acesso a mata ou é um animal de caça como descrevem Loretto e Barros (2004). Também Loretto e Barros (2004) citam que é uma enfermidade que atinge os animais principalmente nas épocas mais quentes, todavia a colheita de sangue do animal supracitado ocorreu no inverno (junho/2016).

Na área rural de Blumenau, muitas propriedades têm configuração de residências construídas em área urbana. Foram visitadas casas totalmente cercadas por muros e/ou alambrado corroborando com as condições favoráveis ao desenvolvimento de *R. sanguineus* citadas por Labruna e Pereira (2001), situação menos favorável à infecção por *R. vitalii*, pois este parasito está mais associado a áreas de mata.

Também segundo relato dos moradores mais velhos, há cerca de 20 ou 30 anos atrás se observavam mais cães com o que eles intitulavam ser um “amarelão” que atacava os cães e os matava em poucos dias. Hoje em dia acreditam ser mais raros porque segundo esses moradores, há menos caçadores do que antigamente e, principalmente, em Blumenau, as propriedades são menores e os moradores rurais trabalham mais próximos à residência e adentram menos a mata com seus cães.

Em Lages, apesar de o animal não residir na área rural, frequentava este ambiente e tinha contato com animais ali residentes, fator que, somado com o histórico da presença de carrapatos, provavelmente o tenha exposto ao risco de contrair a infecção.

É comprovado que *A. aureolatum* é o transmissor de *R. vitalii* (SOARES, 2014), sendo assim sua presença no ambiente faz-se necessária para a propagação do protozoário. Nas regiões do presente estudo este ixodídeo já foi observado parasitando cães domésticos (BELLATO et al., 2003; LAVINA et al., 2014) e também canídeos silvestres (QUADROS et al., 2012), este último considerado um dos hospedeiros preferenciais do carrapato (SOARES, 2014) e reservatório de *R. vitalii* (FRANÇA et al., 2014). Dos animais do presente estudo, atendidos em clínicas, não foram recuperados exemplares deste acarino, porém espécimes foram obtidos de

animais dos quais foram colhidas amostras nos domicílios em que residem e não eram suspeitos de hemoparasitose.

É importante ressaltar que, além dos três animais positivos para hemoparasitos, outros 14 foram inclusos no estudo de ocorrência de hemoparasitose, pois além de apresentarem histórico de ixodidiose estes animais manifestaram um ou mais sinais indicativos infecção por hemoparasitos. Dentre esses sinais merecem destaque a apatia, anemia, anorexia, icterícia, diarreia e hemorragia nasal. Vale lembrar que estes sinais podem estar presentes em uma ou mais das enfermidades objetos do estudo, de acordo com o observado por diversos autores (ALMOSNY, 2002; EIRAS et al., 2014; FIGHERA et al., 2010; HARRUS; WANER, 2011; IRWIN, 2009).

Dos 121 animais amostrados em seus domicílios nenhum foi positivo para os hemoparasitos testados na PCR, entretanto foi verificada a presença dos vetores *A. aureolatum*, de *R. vitalii*, e *R. sanguineus*, de *B. c. vogeli* e de *E. canis*.

Em virtude da presença destes vetores, pressupõe-se que estes animais estejam em risco de contrair os parasitos. Além disso, alguns desses cães são criados nos quintais ou soltos na propriedade, têm acesso a rua, passeios públicos ou matas e assim podem entrar em contato com ixodídeos, reservatórios ou animais infestados, como descrevem Loretto e Barros (2004) sendo esses fatores considerados predisponentes para a infecção por *R. vitalii*. Alguns desses fatores foram constatados tanto em Blumenau quanto em Lages, e contribuem para a disseminação dos hemoparasitos.

Os 10 animais dos quais foram colhidos carrapatos durante a visita às propriedades para colheita de sangue eram todos de área rural e, de acordo com França et al. (2014), os locais que predispõe ao aparecimento de rangeliose, áreas de mata ou próximas às propriedades podem abrigar carrapatos da espécie *A. aureolatum*, vetor de *R. vitalii*. Como observado neste estudo, sete (70%) dos 10 animais dos quais foram obtidos carrapatos tinham acesso à mata e destes, 57% (4/7) exibiam ixodidiose por *A. aureolatum* indicando a possibilidade de ocorrer a doença conforme os autores supracitados. Em Lages, destes quatro animais, um cão (25%) apresentou parasitismo misto por *A. aureolatum* e *R. microplus* e em outro foi encontrado *R. microplus* isoladamente. Em Blumenau, dois (50%) estavam parasitados simultaneamente por *A. aureolatum* e *A. ovale* o que indica a necessidade

de uma correta identificação dos carrapatos encontrados nos animais, pois *A. ovale* não transmite *R. vitalii* de acordo com Soares (2014).

As espécies de *Amblyomma* spp., bem como a frequência em que foram encontrados em Blumenau e em Lages, confirmam o que constataram Lavina et al. (2014) que, de forma semelhante, observaram, dentre outros gêneros de ixodídeos, ser este o mais frequente em cães nas regiões estudadas.

Dos 10 animais com ixodidiose, um cão (10%), de Lages, apresentou ixodidiose por *R. sanguineus* no momento da colheita de sangue. Este animal não frequentava áreas de mata e sua movimentação era restrita às proximidades da residência. Estes fatos estão de acordo com Labruna e Pereira (2001), que descrevem essa situação como favorável ao parasitismo de cães por este carrapato e não por *Amblyomma* spp.

Apesar de poucos animais estarem parasitados por carrapatos no presente estudo, os resultados assemelham-se aos observados por Stalliviere et al. (2009) que, no município de Lages, de 622 cães, apenas em um foi constatado parasitismo por *R. sanguineus*. Este cão residia na área central da cidade enquanto no presente trabalho, o cão parasitado pertencia à área rural. De acordo com estes autores, a pequena quantidade de ixodídeos encontrada parasitando cães provavelmente seja em razão do clima, principalmente se tratando de um carrapato trioxeno, em que as condições climáticas exercem influência no seu desenvolvimento.

7 CONCLUSÕES

- Constatou-se a ocorrência de animais infectados por *Babesia canis vogeli* e *Rangelia vitalii* no município de Blumenau.
- No município de Lages, diagnosticou-se a ocorrência de infecção por *R. vitalii*.
- Neste estudo não foi constatada a infecção de cães por *Ehrlichia canis* em Lages ou em Blumenau.
- Foram encontrados os ixodídeos *Rhipicephalus sanguineus* (vetor de *B. c. vogeli*), *Amblyomma aureolatum* (vetor de *R. vitalii*), também *Amblyomma ovale* e *Rhipicephalus microplus* parasitando cães.
- São necessários mais estudos para determinar a prevalência e a incidência destas hemoparasitoses nestes municípios e em outras localidades do estado de Santa Catarina.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR, D. M. et al. Diagnóstico sorológico de erliquiose canina com antígeno brasileiro de *Ehrlichia canis*. **Ciência Rural**. v. 37, n. 3, p. 796–802, 2007.

ALMOSNY, N. R. P. **Hemoparasitoses em pequenos animais domésticos e como zoonoses**. 1. ed. Rio de Janeiro: L.F. Livros de Veterinária Ltda, 2002.135p.

ALMOSNY, N. R. P.; MASSARD, C. L. **Erliquiose em pequenos animais domésticos e como zoonose**. In: ALMOSNY, N. R. P. Hemoparasitoses em pequenos animais domésticos e como zoonoses. 1. ed. Rio de Janeiro: L.F. Livros de Veterinária Ltda, 2002.p. 15-56.

ARAUJO, A. C. et al. *Babesia canis vogeli* infection in dogs and ticks in the semiarid region of Pernambuco, Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 35, n. 5, p. 456–461, 2015.

BARROS-BATTESTI, D. M.; ARZUA, M.; BECHARA, G. H. **Carrapatos de importância médico-veterinária da região neotropical: um guia ilustrado para identificação de espécies**. São Paulo: Vox/ICTTD-3/Butantan, 2006. 223p.

BARTON, L. L.; FOY, T. M. *Ehrlichia canis* infection in a child. **Pediatrics**. v. 4, n. 3, p. 580–582, 1989.

BELLATO, V. et al. Ectoparasitos em caninos do Município de Lages, Santa Catarina, Brasil. **Revista Brasileira De Parasitologia Veterinária**. v. 12, n. 3, p. 95–98, 2003.

BENIGNO, R. N. M.; RODRIGUES, B. R. F.; SERRA-FREIRE, N. M. Avaliação das infecções por *Babesia* e *Ehrlichia* em cães e das infecções humanas por carrapatos oriundos desses cães no município de Campinas, estado de São Paulo. **Revista Brasileira De Medicina Veterinária**. v. 33, n. 4, p. 238–245, 2011.

BRAGA, J. F. V.; SOUZA SILVA, S. M. M. Babesiose canina: uma visão geral da doença. **Revista De Ciências Agroveterinárias**. v. 12, n. 2, p. 204–213, 2013.

BRANDÃO, L. P.; HAGIWARA, M. K.; MYIASHIRO, S. I. Humoral immunity and reinfection resistance in dogs experimentally inoculated with *Babesia canis* and either treated or untreated with imidocarb dipropionate. **Veterinary Parasitology**. v. 114, n. 4, p. 253–265, 2003.

CARINI, A. Notícias sobre zoonoses observadas no Brasil. **Revista Médica De São Paulo**. v. 22, p. 459–462, 1908.

CARINI, A. Sobre o ciclo de desenvolvimento exoeritrocitário de um piroplasma do cão. **Arquivos De Biologia**. v. 32, n. 285, p. 49–52, 1948.

- CARINI, A.; MACIEL, J. Sobre a molestia dos cães, chamada nambiuvú, e o seu parasita (*Rangelia vitalii*). **Annaes Paulistas de Medicina e Cirurgia**. v. 3, p. 65–71, 1914.
- CHAUVIN, A. et al. *Babesia* and its hosts: adaptation to long-lasting interactions as a way to achieve efficient transmission. **Veterinary Research**. v. 40, n. 2, p. 37, 2009.
- CORREA, R. K. R. et al. Infecção por *Rangelia vitalii* em canino – relato de caso. **Archives Of Veterinary Science**. v. 17, n. (supl.) Resumo 134, p. 420–422, 2012.
- COSTA-JÚNIOR, L. M. et al. Canine babesiosis caused by *Babesia canis vogeli* in rural areas of the State of Minas Gerais, Brazil and factors associated with its seroprevalence. **Research In Veterinary Science**. v. 86, n. 2, p. 257–260, 2009.
- COSTA, H. X. **Interação de hemoparasitos e hemoparasitoses em casos clínicos de trombocitopenia em cães no município de Goiânia**. 2011. 70 f. Dissertação (Mestrado) - Escola de Veterinária e Zootecnia, Pós-graduação em Ciencia Animal, Universidade Federal de Goiás, Goiania.
- COSTA, H. X. **Anaplasma platys e Ehrlichia canis em cães: Avaliação de alterações oculares, desenvolvimento e validação de técnica de diagnóstico molecular**. 2015. 60 f. Tese (Doutorado) - Curso de Escola de Veterinária e Zootecnia, Pós-graduação em Ciencia Animal, Universidade Federal de Goiás, Goiania.
- COSTA, M. M. et al. *Rangelia vitalii*: changes in the enzymes ALT, CK and AST during the acute phase of experimental infection in dogs. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**. v. 21, n. 3, p. 243–248, 2012.
- DANTAS-TORRES, F. Canine vector-borne diseases in Brazil. **Parasites & Vectors**. v. 1, n. 1, p. 25, 2008.
- DANTAS-TORRES, F. Biology and ecology of the brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus*. **Parasites & Vectors**. v. 3, n. 1, p. 26, 2010.
- DANTAS-TORRES, F.; FIGUEREDO, L. A. Canine babesiosis: A Brazilian perspective. **Veterinary Parasitology**. v. 141, n. 3–4, p. 197–203, 2006.
- DAVOUST, B.; BONI, M.; PARZY, D. Apport du laboratoire au diagnostic de l'ehrlichiose monocyttaire canine. **Revue Française Des Laboratoires**. n. 310, p. 25–32, 1999.
- DONATIEN, A.; LESTOQUARD, F. Existence en Algérie d'une Rickettsia du chien. **Bulletin de la Société de Pathologie Exotique**. v. 28, p. 418–419, 1935.

DOYLE, C. K. et al. Detection of Medically Important *Ehrlichia* by Quantitative Multicolor TaqMan Real-Time Polymerase Chain Reaction of the *dsb* Gene. **The Journal Of Molecular Diagnostics**. v. 7, n. 4, p. 504–510, 2005.

DUMLER, J. S. et al. Reorganization of genera in the families Rickettsiaceae and Anaplasmataceae in the order Rickettsiales: unification of some species of *Ehrlichia* with *Anaplasma*, *Cowdria* with *Ehrlichia* and *Ehrlichia* with *Neorickettsia*, descriptions of six new species combi. **International Journal Of Systematic And Evolutionary Microbiology**. v. 51, n. 6, p. 2145–2165, 2001.

EIRAS, D. F. et al. First molecular characterization of *Babesia canis vogeli* in two naturally infected dogs of Buenos Aires, Argentina. **Veterinary Parasitology**, v. 157, n. 3–4, p. 294–298, 2008.

EIRAS, D. F. et al. First report of *Rangelia vitalii* infection (canine rangelirosis) in Argentina. **Parasitology International**. v. 63, n. 5, p. 729–734, 2014.

FIGHERA, R. A. Rangelirose. **Acta Scientiae Veterinariae**. v. 35, n. Supl 2, p. 261–263, 2007.

FIGHERA, R. A. et al. Patogênese e achados clínicos, hematológicos e anatomopatológicos da infecção por *Rangelia vitalii* em 35 cães (1985-2009). **Pesquisa Veterinaria Brasileira**. v. 30, n. 11, p. 974–987, 2010.

FISCHER, E. C. et al. Ocorrência e perfil clínico e hematológico de *Rangelia vitalii* em cães errantes do município de pelotas - rs. In: XVIII CIC e XI ENPOS e I Mostra Científica da UFPel, 2009, Anais...Pelotas: UFPel, 2009.

FONSECA, J. P.; HIRSCH, C.; GUIMARÃES, A. M. Eriquirose monocítica canina: epidemiologia, imunopatogênese e diagnóstico. **Pubvet**. v. 7, n. 8 (Ed. 231), p. Art. 1529, 2013.

FORTES, E. **Parasitologia Veterinária**. 4. ed. São Paulo: Ícone, 2004. 607 p.

FRANÇA, R. T. et al. *Rangelia vitalii* in dogs in southern Brazil. **Comparative Clinical Pathology**. v. 19, n. 4, p. 383–387, 2010.

FRANÇA, R. T. **Hemograma e mielograma de cães infectados experimentalmente com *Rangelia vitalii***. 2013. Dissertação (Mestrado) Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2013.

FRANÇA, R. T. et al. Canine rangelirosis due to *Rangelia vitalii*: From first report in Brazil in 1910 to current day – A review. **Ticks And Tick-borne Diseases**. v. 5, n. 5, p. 466–474, 2014.

FREDO, G. et al. Rangeliosis: histopathological analysis, hematology and molecular detection of canine *Rangelia vitalii* in Rio Grande do Sul, Brazil. **Ciência Rural**. v. 47, n. 10, e20161121, 2017.

FREDO, G. et al. Natural infection of wild canids (*Cerdocyon thous* and *Lycalopex gymnocercus*) with the Intraendothelial Piroplasm *Rangelia vitalii* in Southern Brazil. **Journal of Wildlife Diseases**. v. 51, n. 4, p. 880–884, 2015.

FRITZ, C. L. Emerging Tick-borne Diseases. **Veterinary Clinics Of North America - Small Animal Practice**. v. 39, n. 2, p. 265–278, 2009.

GUGLIELMONE, A. A. et al. *Amblyomma aureolatum* (Pallas, 1772) and *Amblyomma ovale* Koch, 1844 (Acari: Ixodidae): hosts, distribution and 16S rDNA sequences. **Veterinary Parasitology**. v. 113, n. 3–4, p. 273–288, 2003.

GUIMARÃES, J. C. et al. Aspectos Clínico-Laboratoriais Da Babesiose Canina Na Cidade De Campos Dos Goytacazes,Rj. **Revista Brasileira De Parasitologia Veterinária**. v. 13, n. 1, p. 229, 2004.

HARRUS, S. et al. Comparison of three enzyme-linked immunosorbant assays with the indirect immunofluorescent antibody test for the diagnosis of canine infection with *Ehrlichia canis*. **Veterinary Microbiology**. v. 86, n. 4, p. 361–368, 2002.

HARRUS, S. et al. Comparison of simultaneous splenic sample PCR with blood sample PCR for diagnosis and treatment of experimental *Ehrlichia canis* infection. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**. v. 48, n. 11, p. 4488–4490, 2004.

HARRUS et al. **Ehrlichiosis and anaplasmosis**. In: Shaw S. E., Day M. J.: Arthropod-borne Infectious Diseases of the Dog and Cat. 2005, Londres: Manson Publishing, 2005, p. 120-133.

HARRUS, S.; WARNER, T.; NEER, T. M. **Ehrlichia and Anaplasma infections**. In: GREENE, C.: Infectious Diseases Of The Dog And Cat. 4. ed. Saint Louis: Saunders, 2011. p. 227-259.

HARRUS, S.; WANER, T. Diagnosis of canine monocytotropic ehrlichiosis (*Ehrlichia canis*): An overview. **The Veterinary Journal**. v. 187, n. 3, p. 292–296, 2011.

HOSKINS, J. D. Ehrlichial diseases of dogs: diagnosis and treatment. **Canine Practice**. v. 16, n. 3, p. 13-21, 1991.

HUXSOLL, D. L. Canine ehrlichiosis (tropical canine pancytopenia): a review. **Veterinary Parasitology**. v. 2, n. 1, p. 49–60, 1976.

IRWIN, P. J. Canine babesiosis: from molecular taxonomy to control. **Parasites & Vectors**. v. 2, n. Suppl 1, p. 4, 2009.

JOJIMA, F. S. et al. Ocorrência e caracterização molecular de espécies de *Babesia* em cães de uma população hospitalar da região de Londrina, PR. **Revista Brasileira De Parasitologia Veterinária**. v. 17, n. 1, p. 277–283, 2008.

KRAUSPENHAR, C.; FIGHERA, R. A.; GRAÇA, D. L. Anemia hemolítica em cães associada a protozoários. **MedveP - Revista Científica de Medicina Veterinária - Pequenos Animais E Animais De Estimação**. v. 1, n. 4, p. 273–281, 2003.

KRAWCZAK, F. D. S. et al. Serological survey on *Ehrlichia* sp. among dogs in the central region of Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira De Parasitologia Veterinária**. v. 21, n. 4, p. 415–417, 2012.

LA FUENTE, J. The fossil record and the origin of ticks (Acari: Parasitiformes: Ixodida). **Experimental And Applied Acarology**. v. 29, n. 3–4, p. 331–344, 2003.

LABARTHE, N. et al. Serologic prevalence of *Dirofilaria immitis*, *Ehrlichia canis*, and *Borrelia burgdorferi* infections in Brazil. **Veterinary Therapeutics : Research In Applied Veterinary Medicine**. v. 4, n. 1, p. 67–75, 2003.

LABRUNA, M. B. et al. Prevalência de carrapatos em cães de áreas rurais da região norte do Estado do Paraná. **Arquivo Brasileiro De Medicina Veterinária E Zootecnia**. v. 53, n. 5, p. 553–556, 2001.

LABRUNA, M.B.; PEREIRA, M.C. Carrapato em cães no Brasil. **Clínica Veterinária**. ano 6, n. 30, p.24-32, 2001.

LAVINA, M. S. et al. Ixodídeos coletados em equinos e caninos no estado de Santa Catarina. **Revista Brasileira De Medicina Veterinária**. v. 36, n. 1, p. 79–84, 2014.

LEMONS, T. D. et al. Detection and molecular characterization of piroplasms species from naturally infected dogs in southeast Brazil. **Revista Brasileira De Parasitologia Veterinária**. v. 21, n. 2, p. 137–42, 2012.

LORETTI, A. P.; BARROS, S. S. Parasitismo Por *Rangelia vitalii* em cães ("nambiuvú", "peste de sangue")- uma revisão crítica sobre o assunto. **Arquivos Do Instituto Biológico**. v. 71, n. 1, p. 101–131, 2004.

LORETTI, A. P.; BARROS, S. S. Hemorrhagic disease in dogs infected with an unclassified intraendothelial piroplasm in southern Brazil. **Veterinary Parasitology**. v. 134, n. 3–4, p. 193–213, 2005.

MANOEL, C. S. **Alterações clínicas, hematológicas e sorológicas de cães infectados por *Ehrlichia canis***. 65f. 2010. Dissertação (Mestrado) Universidade de São Paulo, São Paulo.

MASSARD, C. L.; FONSECA, A. H. Carrapatos e doenças transmitidas comuns ao homem e aos animais. **A Hora Veterinária**. v. 135, n. 1, p. 15–23, 2004.

MATHEW, J. S. et al. Efficacy of a modified polymerase chain reaction assay for detection of *Ehrlichia canis* infection. **Journal Of Veterinary Diagnostic Investigation**. v. 12, n. 5, p. 456–459, 2000.

MCBRIDE, J. W. et al. PCR detection of acute *Ehrlichia canis* infection in dogs. **Journal Of Veterinary Diagnostic Investigation**. v. 8, p. 441-447, 1996.

MILKEN, V. M. F. et al. Ocorrência de babesiose canina no município de Uberlândia, Minas Gerais. **Arquivos De Ciências Veterinárias E Zoologia Da UNIPAR**. v. 7, n. 1, p. 19-22, 2004.

MEHLHORN, H.; SCHEIN, E. The piroplasms: life cycle and sexual stages. **Advances in Parasitology**. v. 23, p. 37-103, 1985.

MORAES-FILHO, J. et al. Genetic analysis of ticks belonging to the *Rhipicephalus sanguineus* group in Latin America. **Acta Tropica**. v. 117, n. 1, p. 51–55, 2011.

MORAES-FILHO, J. et al. Comparative evaluation of the vector competence of four south american populations of the *Rhipicephalus sanguineus* group for the bacterium *Ehrlichia canis*, the agent of canine monocytic ehrlichiosis. **Plos One**. v. 10, n. 9, p. 1–17, 2015.

MURRELL, A.; BARKER, S. C. Synonymy of *Boophilus curtice*, 1891 with *Rhipicephalus* Koch, 1844 (Acari: Ixodidae). **Systematic Parasitology**. v. 56, n. 3, p. 169–172, 2003.

NAKAGHI, A. C. H. et al. Canine ehrlichiosis: clinical, hematological, serological and molecular aspects. **Ciência Rural**. v. 38, n. 3, p. 766–770, 2008.

NEITZ, W. O. Classification, transmission, and biology of piroplasms of domestic animalS. **Annals Of The New York Academy Of Sciences**. v. 64, p. 56–111, 1956.

O'DWYER, L. H.; MASSARD, C. L. **Babesiose em pequenos animais domésticos e como zoonose**. In: ALMOSNY, N. R. P. Hemoparasitoses em pequenos animais domésticos e como zoonoses. 1. ed. Rio de Janeiro: L.F. Livros de Veterinária Ltda, 2002. p. 57-67.

O'DWYER, L. H. et al. *Babesia* spp. infection in dogs from rural areas of São Paulo state, Brazil. **Revista Brasileira De Parasitologia Veterinária**. v. 18, n. 2, p. 23–26, 2009.

PANDOLFO, C. et al. **Atlas climatológico digital do Estado de Santa Catarina**. Florianópolis: Epagri, 2002.1 CD-Rom.

PASSOS, L. M. F. et al. First molecular detection of *Babesia vogeli* in dogs from Brazil. **Veterinary Parasitology**. v. 127, n. 1, p. 81–85, 2005.

- PEREZ, M. et al. Human infection with *Ehrlichia canis* accompanied by clinical signs in Venezuela. **Annals of the New York Academy of Sciences**. v. 1078, n. 1, p. 110–117, 2006.
- PESTANA, B. R. O nambyuvú (nota preliminar). **Revista Da Sociedade Científica De São Paulo**. v. 5, p. 14–17, 1910a.
- PESTANA, B. R. O nambiuví. **Revista De Medicina**. v. 22, p. 423–426, 1910b.
- PINTER, A. et al. Study of the seasonal dynamics, life cycle, and host specificity of *Amblyomma aureolatum* (Acari: Ixodidae). **Journal Of Medical Entomology**. v. 41, n. 3, p. 324–332, 2004.
- QUADROS, R. M. et al. Ocorrência de carrapatos ixodídeos em carnívoros silvestres do planalto catarinense do estado de santa catarina, Brasil. **The Biologist**. v. 10, n. 2, p. 96, 2012.
- QUADROS, R. M. et al. Natural infection of the wild canid *Lycalopex gymnocercus* by the protozoan *Rangelia vitalii*, the agent of canine rangeliellosis. **Journal Of Wildlife Diseases**. v. 51, n. 3, p. 787–789, 2015.
- RAMOS, C. A. N. et al. Comparação de nested-PCR com o diagnóstico direto na detecção de *Ehrlichia canis* e *Anaplasma platys* em cães. **Revista Brasileira De Parasitologia Veterinária**. v. 18, n. e1, p. 58–62, 2009.
- REGENDANZ, P.; MUNIZ, J. Piroplasmose canina. **Memorias Do Instituto Oswaldo Cruz**. v. 31, n. 1, p. 81–84, 1935.
- RENÉ, M. et al. First evidence and molecular characterization of *Babesia vogeli* in naturally infected dogs and *Rhipicephalus sanguineus* ticks in southern France. **Veterinary Parasitology**. v. 187, n. 3–4, p. 399–407, 2012.
- RIBEIRO, M. F. B. et al. Frequência de anticorpos fluorescentes anti-*Babesia canis* em cães de Belo Horizonte, Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro De Medicina Veterinária E Zootecnia**. v. 42, p. 511–517, 1990.
- SALES, M. R. R. P. et al. Prevalência de *Ehrlichia canis* pela nested-PCR, correlação com a presença de mórula e trombocitopenia em cães atendidos no hospital veterinário da Universidade Federal do Espírito Santo. **Revista Brasileira De Medicina Veterinaria**. v. 37, n. 1, p. 47–51, 2015.
- SANTOS, F. et al. Molecular evaluation of the incidence of *Ehrlichia canis*, *Anaplasma platys* and *Babesia* spp. in dogs from Ribeirão Preto, Brazil. **The Veterinary Journal**. v. 179, n. 1, p. 145–148, 2009.

SARTOR, A. A. et al. Diagnóstico sorológico da infecção por *Ehrlichia canis*, *Dirofilaria immitis* em cães do município de Lages, SC. In: Jornada Acadêmica, 2004, Florianópolis. **Resumos dos trabalhos**. Florianópolis: UDESC, 2004. v. 1. p. 26-26.

SARTOR, A. A. et al. Diagnóstico sorológico da infecção por *Ehrlichia canis*, *Dirofilaria immitis* e *Borrelia burgdorferi* em cães do Litoral de Santa Catarina.. In: Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária 14. Simpósio Latino-Americano de Rickettsioses 2., 2006, Ribeirão Preto. **Resumos**. Ribeirão Preto: CBPV, 2006. v. 1. p. 396-396.

SCHOEMAN, J. P. Canine babesiosis. **Onderstepoort Journal Of Veterinary Research**. v. 76, p. 59–66, 2009.

SCOLA, B. LA; RAOULT, D. Laboratory diagnosis of Rickettsioses: Current approaches to diagnosis of old and new Rickettsial diseases. **Journal Of Clinical Microbiology**. v. 35, n. 11, p. 2715–2727, 1997.

SHAW, S. E.; DAY, M. J. **Arthropod-born Infectious Diseases of the Dog and Cat**. 1. ed. Londres: Manson Publishing Ltd, 2005.

SHAW, S. E. et al. Tick-borne infectious diseases of dogs. **Trends In Parasitology**. v. 17, n. 2, p. 74–80, 2001.

SILVA, A. B. et al. Detecção molecular de *Babesia canis vogeli* em cães e em *Rhipicephalus sanguineus* na mesorregião do oeste maranhense, nordeste brasileiro. **Ciência Animal Brasileira**. v. 13, n. 3, p. 388–395, 2012.

SILVA, A. S. et al. Experimental infection with *Rangelia vitalii* in dogs: acute phase, parasitemia, biological cycle, clinical-pathological aspects and treatment. **Experimental Parasitology**. v. 128, n. 4, p. 347–352, 2011.

SILVA, G. C. F. et al. Occurrence of *Ehrlichia canis* and *Anaplasma platys* in household dogs from northern Parana. **Brazilian Journal Of Veterinary Parasitology**. v. 21, n. 4, p. 379–85, 2012.

SILVA, J. N. et al. Soroprevalência de anticorpos anti-*Ehrlichia canis* em cães de Cuiabá, Mato Grosso. **Revista Brasileira De Parasitologia Veterinária**. v. 19, n. 2, p. 108–111, 2010.

SOARES, J. F. et al. Detection and molecular characterization of a canine piroplasm from Brazil. **Veterinary Parasitology**. v. 180, n. 3–4, p. 203–208, 2011.

SOARES, J. F. **História natural da rangelirose**. 2014. 121 f. Tese (Doutorado) - Curso de Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Programa de Pós-graduação em Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.

SOARES, J. F. et al. Natural infection of the wild canid, *Cerdocyon thous*, with the piroplasmid *Rangelia vitalii* in Brazil. **Veterinary Parasitology**. v. 202, n. 3–4, p. 156–163, 2014.

SOARES, J. F. et al. Molecular detection of *Rangelia vitalii* in domestic dogs from Uruguay. **Veterinary Parasitology**. v. 210, n. 1–2, p. 98–101, 2015.

SOUZA, B. M. P. S. et al. Prevalence of ehrlichial infection among dogs and ticks in Northeastern Brazil. **Revista Brasileira De Parasitologia Veterinária**. v. 19, n. 2, p. 89–93, 2010.

SPOLIDORIO, M. G. et al. *Hepatozoon canis* infecting dogs in the State of Espírito Santo, southeastern Brazil. **Veterinary Parasitology**. v. 163, n. 4, p. 357–361, 2009.

STALLIVIERE, F. M. et al. Ectoparasitos em *Canis familiaris* da cidade de Lages, SC, Brasil e aspectos sócio-econômicos e culturais das famílias dos proprietários dos animais. **Revista De Ciências Agroveterinárias**. v. 8, n. 2, p. 179–183, 2009.

TABOADA, J.; MERCHANT, S. R. Babesiosis of companion animals and man. **Veterinary Clinics Of North America: Small Animal Practice**. v. 21, n. 1, p. 103–123, 1991.

THEILER, A. *Anaplasma marginale* (gen. and spec. nov). The marginal points in the blood of cattle suffering from a specific disease. In: **Theiler, A. (Ed.), Report of the Government on Veterinary Bacteriology in Transvaal**. Department of Agriculture, South Africa. 1910. v. 1908–1909, p. 7–64.

UENO, T. E. H. et al. *Ehrlichia canis* em cães atendidos em hospital veterinário de Botucatu, Estado de São Paulo, Brasil. **Revista Brasileira De Parasitologia Veterinária**. v. 18, n. 3, p. 57–61, 2009.

UILENBERG, G. et al. Three groups of *Babesia canis* distinguished and a proposal for nomenclature. **Veterinary Quarterly**. v. 11, n. 1, p. 33–40, 1989.

UILENBERG, G. *Babesia*—A historical overview. **Veterinary Parasitology**. v. 138, n. 1–2, p. 3–10, 2006.

URQUHART, J. et al. **Parasitologia Veterinária**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998. 273p.

VARGAS-HERNÁNDEZ, G. et al. Molecular and serological detection of *Ehrlichia canis* and *Babesia vogeli* in dogs in Colombia. **Veterinary Parasitology**. v. 186, n. 3–4, p. 254–260, 2012.

VIAL, H. J.; GORENFLOT, A. Chemotherapy against babesiosis. **Veterinary Parasitology**. v. 138, n. 1–2, p. 147–160, 2006.

VIDOTTO, O.; TRAPP, S. M. Babesiose Canina. **Revista Brasileira De Parasitologia Veterinária**. v. 13, n. 1, p. 58–62, 2004.

VIEIRA, R. F. Da C. et al. Ehrlichiosis in Brazil. **Revista Brasileira De Parasitologia Veterinária**. v. 20, n. 1, p. 01–12, 2011.

WEISS, D. J.; WARDROP, K. J. **Schalm's veterinary hematology**. 6. ed. Ames: Blackwell Publishing, 2011.

ZAHLER, M. et al. Characteristic genotypes discriminate between *Babesia canis* isolates of differing vector specificity and pathogenicity to dogs. **Parasitology Research**. v. 84, n. 7, p. 544–548, 1998.

9 ANEXOS

Anexo1 – Questionário aplicado aos proprietários dos cães amostrados

Questionário Epidemiologia Hemoparasitos

Resenha

Amostra Data Nome do Animal Raça Idade

Sexo Macho Fêmea Município Lages Blumenau Bairro Zona Urbana Rural

Nome do proprietário ou Nº de registro Motivo da consulta ou Suspeita

1- Onde o animal fica na propriedade

Quintal/Pátio Canil Dentro de Casa

2- O animal tem acesso a rua, mata ou algum outro local fora da propriedade?

Sim Não

3- Animal de zona urbana visita zona rural ou vice-versa?

Sim Não

Contatos

4- O animal tem contato com outros animais? Se Sim, quais?

Sim Não

5- O animal já esteve ou está parasitado por carrapatos? Caso POSITIVO guardar carrapato em um frasco e CONGELAR

Sim Não

Tratamentos

6- Fez ou está fazendo tratamento contra carrapato ou pulga? Qual o produto usado?

Fez tratamento está fazendo tratamento Não

Sinais

7- Apresenta alguns dos sinais abaixo? No momento da consulta ou a pelo menos 6 meses atrás

Mucosas amareladas Mucosas esbranquiçadas

Sangramento de ponta de orelha Sangramento de Nariz Sinais não verificados

8- Há quanto tempo apresentou sinais?

1 semana ou mais 1 mês

2 a 6 meses 6 a 12 meses

12 meses ou mais Não se aplica ou não pode informar

Observações

SOLICITO COLHER E CONGELAR O SANGUE EM FRASCO COM EDTA