

**FACULDADE PATOS DE MINAS
CURSO DE GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

RÊNIA THALITA DA SILVA

**ANÁLISE DA EFICÁCIA ENTRE O TESTE IMUNOENZIMÁTICO ELISA,
PROTEÍNA C REATIVA E ESFREGAÇO SANGUÍNEO PARA O DIAGNÓSTICO
DAS HEMOPARASIToses EM CÃES**

**PATOS DE MINAS
2023**

RÊNIA THALITA DA SILVA

**ANÁLISE DA EFICÁCIA ENTRE O TESTE IMUNOENZIMÁTICO ELISA,
PROTEÍNA C REATIVA E ESFREGAÇO SANGUÍNEO PARA O DIAGNÓSTICO
DAS HEMOPARASIToses EM CÃES**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Faculdade Patos de Minas,
como requisito parcial para a conclusão da
Graduação em Medicina Veterinária.

Orientadora: Dra. Sandra Regina Afonso
Cardoso.

Co Orientadora: Esp. Cristiane Sandra
Silva

**PATOS DE MINAS - MG
2023**

ATA



Faculdade Patos de Minas
Curso de Bacharelado em Medicina Veterinária

ATA DE DEFESA DO TRABALHO DE CURSO, APRESENTADO POR

Rênia Thalita da Silva

COMO PARTE DOS REQUISITOS PARA OBTENÇÃO DO TÍTULO DE MÉDICO(A) VETERINÁRIO(A) DO CURSO DE GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA.

Aos dias do mês e ano abaixo datado, reuniu-se, na Unidade JK da FPM, a Comissão Examinadora designada pelo Colegiado do Curso de Graduação em Medicina Veterinária da Faculdade Patos de Minas, constituída pelos professores abaixo assinados, na prova de defesa de seu trabalho de curso intitulado:

ANÁLISE DA EFICÁCIA ENTRE O TESTE IMUNOENZIMÁTICO ELISA, PROTEÍNA C REATIVA E ESFREGAÇO SANGUÍNEO PARA O DIAGNÓSTICO DAS HEMOPARASIToses EM CÃES

Concluída a exposição, os examinadores arguiram alternadamente o graduando(a) sobre diversos aspectos da pesquisa e do trabalho, como REQUISITO PARCIAL DE CONCLUSÃO DE CURSO. Após a arguição, a comissão reuniu-se para avaliar o desempenho do(a) graduando(a), tendo chegado ao resultado, o(a) graduando(a)

Rênia Thalita da Silva

foi considerado(a) *Aprovada*. Sendo verdade eu, Prof. Dr. Saulo Gonçalves Pereira, Docente Responsável pela Disciplina de TC do Curso de Graduação em Medicina Veterinária, confirmo e lavro a presente ata, que assino juntamente com o Coordenador(a) do Curso e os demais Membros da Banca Examinadora.

Patos de Minas - Defesa ocorrida em quarta-feira, 29 de novembro de 2023

Prof. Dra. Sandra R. Afonso Cardoso
Orientador(a)

Prof. Dr. Saulo Gonçalves Pereira
Examinador(a) 1

Prof. Esp. Paulo Rufino Vieira Paulino
Examinador(a) 2

Prof. Dra. Sandra Regina Afonso Cardoso
Coordenadora do Curso de Graduação em Medicina Veterinária

Prof. Dr. Saulo Gonçalves Pereira
Docente Responsável pela Disciplina de TC do Curso de Graduação em Med. Vet.

DEDICATÓRIA

Dedico primeiramente a Deus, por ter me dado saúde, perseverança e garra para enfrentar todos os desafios que eu teria durante esses 5 anos como acadêmica, a toda minha família pelo apoio durante essa jornada, aos meus pais por me ampararem nos momentos que pensei em desistir, pois sem eles nada disso teria significado, essa formação é o mínimo que eu posso oferecer a eles depois de tudo que eles fizeram e fazem por mim, aos meus amigos que sempre estiveram ao meu lado me dando forças e sempre me motivando a seguir com meus sonhos, em especial dedico este trabalho a três pessoas muito queridas, Suelen Keity, Anna Gabryelli e Cristiane Sandra, trazidas por DEUS e que só trouxeram coisas boas além de muita luz para que eu não me perdesse nos caminhos da vida.

Jamais poderia me esquecer daqueles que com todo amor transmitiram seus conhecimentos a mim tanto fora quanto dentro de sala de aula, aos trancos e barrancos eles nunca desistiram de nós, serei eternamente grata a todos os professores que passaram pelo período de graduação. Por fim dedico a minha fiel companheira Nice, nossa história começou exatamente através da faculdade e de pouquinho em pouquinho fomos nos aproximando e estamos prestes a completar 8 anos juntas, passamos por muitas coisas e ela foi uma peça essencial na minha vida, várias festas, risadas, choro muito choro juntando nossas moedas pra pagar as contas e temos muitas histórias pra contar, obrigada por me amar do jeito que eu sou ou seja você tem passagem direto pro céu por conseguir me suportar por tanto tempo, enfim obrigada por tudo saiba que te amo muito.

AGRADECIMENTO

Agradeço primeiramente a Deus por ter me dado forças para finalizar essa caminhada, aos meus pais, irmãos, amigos e companheira. Todas essas pessoas possuem um grande significado em minha vida e sem eles eu não seria nada, são os responsáveis por eu conseguir mais essa vitória, que me impulsionam para seguir em frente. Amo todos vocês.

*“Os animais são amigos tão agradáveis: não
fazem perguntas, não criticam. “
(George Eliot)*

**ANÁLISE DA EFICÁCIA ENTRE O TESTE IMUNOENZIMÁTICO ELISA,
PROTEÍNA C REATIVA E ESFREGAÇO SANGUÍNEO PARA O DIAGNÓSTICO
DAS HEMOPARASITOSE EM CÃES**

ANALYSIS OF THE EFFECTIVENESS BETWEEN THE ELISA IMMUNOENZYMATIC TEST, C-REACTIVE PROTEIN AND BLOOD SWIMMING FOR THE DIAGNOSIS OF HEMOPARASITOSE IN DOGS

Rênia Thalita da Silva¹

Cristiane Sandra Silva²

Sandra Afonso Regina Cardoso³

RESUMO

As hemoparasitoses consistem em um conjunto de enfermidades ocasionadas por patógenos que se propagam na corrente sanguínea (*Ehrlichia canis*, *Babesia canis* e *Anaplasma marginale*), sendo capazes de lesionar ou alterar o desempenho das células sanguíneas, contribuindo para um crescente problema na rotina da clínica médica de pequenos animais. Estas possuem grande importância clínica e epidemiológica devido ao potencial zoonótico e ao quadro patológico que geram. Participaram deste estudo 43 animais que foram submetidos aos testes e que testaram negativo e/ou positivo nos testes é realizada a comparação com os exames hemoparasitológicos. A análise dos dados revelou a importância dos testes rápidos associados ao exame Hemoparasitológico no sentido de tornar mais fidedigno o diagnóstico, pois evita tanto resultados falsos-positivos quanto falsos-negativos, proporcionando ao clínico maior segurança em relação ao diagnóstico definitivo.

Palavras-chave: Hemoparasitoses, Testes, Diagnósticos.

ABSTRACT

Hemoparasitosis consists of a set of illnesses caused by pathogens that spread in the bloodstream (*Ehrlichia canis*, *Babesia canis* and *Anaplasma marginale*), being capable of damaging or altering the performance of blood cells, contributing to a growing problem in the routine of medical clinics of small animals. These have great clinical and epidemiological importance due to their zoonotic potential and the pathological condition they generate. The objective of the work was to verify which of the tests used to detect hemoparasitosis are most effective within the small animal clinic. 43 animals participated in this study that were subjected to tests and that tested negative and/or positive in the tests and comparison with hemoparasitological tests was carried out. Data analysis revealed the importance of rapid tests associated with the Hemoparasitological examination to make the diagnosis more reliable, as it avoids both false-positive and false-negative results, providing the clinician with greater security in relation to the definitive diagnosis.

Keywords: Hemoparasitoses, Tests, Diagnostics.

¹ Graduanda em Medicina Veterinária, FPM – 2023. E-mail: renia11147@alunofpm.com.br

² Professora Especialista da Graduação, FPM
2023. Email: cristiane.silva@faculdadepatosdeminas.edu.br

³ Professora Doutora da Graduação e Pós Graduação, FPM – 2023. E-mail: sandra.cardoso@faculdadepatosdeminas.edu.br

1 INTRODUÇÃO

Ultimamente é evidente o crescente número de animais de estimação que têm sido adquiridos. Com essa constatação de proximidade vem a preocupação com a saúde pública e a possível transmissão de doenças para o homem. Neste contexto, observa-se na rotina clínica que boa parte das enfermidades presentes nesses animais são originadas por infecções hemoparasitárias (SILVEIRA, *et al.*, 2019).

A presença dos pets no cotidiano das pessoas aumenta consideravelmente a cada dia demonstrando vários benefícios para ambos, como: melhorias nas relações interpessoais, combatendo a ansiedade, depressão, estresse, síndromes entre outros malefícios havendo assim, a necessidade de se monitorar a saúde e o bem-estar desses animais, os quais comumente são acometidos por ectoparasitos hematófagos como pulgas e carrapatos e outros vetores transmissores de microrganismos patogênicos (BRUM; CARVALHO, 2022).

As hemoparasitoses consistem em um conjunto de enfermidades ocasionadas por patógenos que se propagam na corrente sanguínea (*Ehrlichia canis*, *Babesia canis* e *Anaplasma marginale*), sendo capazes de lesionar ou alterar o desempenho das células sanguíneas, contribuindo para um crescente problema na rotina da clínica médica de pequenos animais, onde os mesmos expressam sinais clínicos inespecíficos que limitam o diagnóstico preciso, tornando mínima as possibilidades de recuperação do paciente (HOLANDA *et al.*, 2019).

A ocorrência de tais parasitos se justifica devido a sua ampla distribuição geográfica, tanto em ambientes rurais quanto urbanos, principalmente em regiões de clima tropical cujos vetores principais são carrapatos e mosquitos. Em se tratando de cães e gatos tais doenças assumem grande importância clínica e epidemiológica devido ao potencial zoonótico e o quadro patológico que geram (SILVEIRA *et al.*, 2019).

O objetivo do presente trabalho é verificar quais dos testes utilizados para detecção das hemoparasitoses se apresenta mais eficaz dentro da clínica de pequenos - Imunocromatografia, Elisa e Citológico.

A escolha do tema é justificada pela alta prevalência de hemoparasitoses na clínica de pequenos animais, evidenciado ao se utilizar os testes rápidos considerados mais qualificados dentro do mercado pet, que em alguns casos os resultados negativos apresentaram se falsos após suas respectivas amostras serem submetidas

ao teste de esfregaço sanguíneo, onde foi evidenciado a presença da bactéria ou protozoários. As hemoparasitoses vêm trazendo uma grande preocupação dentro da clínica, visto que, na maioria dos pacientes é observado a fase crônica da doença levando a suspeita de que os testes podem estar apresentando uma falha ao não detectar essa fase induzindo um resultado falso negativo.

Sendo assim, essa pesquisa se propôs a fazer a contraprova das amostras utilizadas em testes rápidos submetendo-os ao esfregaço sanguíneo, onde é possível visualizar a presença da bactéria ou protozoário dentro da célula sanguínea.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Para a realização desta pesquisa foram analisadas amostras de pacientes caninos submetidos à consulta veterinária com a suspeita de algum tipo de hemoparasitose utilizando os testes citados como exame diferencial para a detecção das diferentes hemoparasitoses. As amostras utilizadas foram de uma clínica de pequenos animais situada na cidade de Patos de Minas. O trabalho foi submetido à avaliação do CEUA (Comitê de Ética de uso de Animais) 43 animais sendo aprovado para dar início a pesquisa. A coleta dos dados ocorreu de janeiro de até o final de agosto de 2023. Para inclusão na pesquisa foram levados em consideração os sintomas, sinais clínicos e também as alterações em hemograma de cada paciente suspeito de hemoparasitose.

Após a realização dos testes rápidos as mesmas amostras foram submetidas a confecção de lâminas para uma contraprova a fim de evidenciar possíveis falsos negativos como também avaliar a acurácia do exame citológico.

Um dos testes rápidos utilizados foi o Snap 4dx Plus Test (Tecnologia ELISA) (Figura 1), diagnóstico *in vitro* para a detecção do antígeno de *Dirofilaria immitis* e dos anticorpos de *Anaplasma phagocytophilum*, *Borrelia burgdorferi*, *Ehrlichia canis* e *Ehrlichia ewingii* em soro, plasma ou sangue total caninos. Para a realização do teste, utilizou-se 3 gotas de amostra sanguínea e 4 gotas do reagente específico do laboratório, após 10 minutos o teste pode ser interpretado tendo o resultado positivo ou não para as hemoparasitoses específicas, o teste dispõe também de um aparelho de leitura Snap pró onde é feita a leitura automaticamente sendo o impresso o resultado ou disponibilizado em tela para visualização.

Figura 1: Teste e leitor IDEXX



Fonte: IDEXX (sd)

O segundo teste utilizado na pesquisa foi o teste rápido específico apenas na detecção de *Ehrlichia Canis*, *Ehrlichia* Ab ECOVet(Figura 2). Este teste conta com o ensaio imunocromatográfico para a detecção qualitativa de anticorpos IgG contra *Ehrlichia canis*. Para a realização do mesmo foi utilizado amostra sanguínea, sendo 10 l de sangue e duas gotas de reagente próprio, o exame deve ser interpretado após 10 minutos de sua execução.

Figura 2: Teste de Imunocromatografia



Fonte: Ecovet (2021)

O terceiro exame utilizado para a pesquisa foi a técnica de esfregaço sanguíneo, ou seja, a citologia, onde o mesmo utilizou-se a amostra sanguínea do paciente para a confecção das lâminas. Para a realização utilizamos o auxílio de um tubo capilar para capturar uma quantidade de amostra contendo Edta ou a amostra diretamente do paciente após coleta, o sangue foi posto em uma lâmina limpa e com uma segunda lâmina realizamos a técnica do esfregaço sanguíneo percorrendo toda a lâmina, após, deixarmos a mesma em repouso para secagem, e logo após alguns minutos começamos a coloração.

Para corar as lâminas foram utilizadas os corantes panópticos(Figura 3), sendo eles três etapas na qual o esfregaço fica mergulhado em cada etapa por 40 segundos, feito isso na última etapa, enxaguamos a lâmina em água corrente e em seguida deixamos descansar para secagem em posição vertical para que não houvesse acúmulo ou presença de água no momento da interpretação. Após a devida secagem, levamos as lâminas já prontas para o microscópio e com o auxílio do óleo de imersão visualizamos na objetiva de 100 as células alvo.

O exame é utilizado devido a seu potencial em detectar as variadas alterações a nível celular, visto que o principal é a qualificação do veterinário patologista responsável por tal interpretação, sendo assim levando em consideração as hemoparasitoses, é possível detectar *Ehrlichia canis*, *Anaplasma spp*, *Hepatozoon spp*, *Babesia spp*, *Dirofilariose spp*, entre outras.

Figura 3: Materiais utilizados na confecção de lâminas



Fonte: Autoria própria (2023)

Ao desenvolver o trabalho obtivemos um N final de 43 amostras, onde as mesmas foram submetidos tanto a realização de testes rápidos quanto ao esfregaço sanguíneo para análise parasitária, os resultados foram classificados de acordo com a idade e raça, sendo os números separados em tabelas, as quais descrevem a acurácia de cada teste positivo ou negativo na detecção de hemoparasitoses.

3. UMA BREVE REVISÃO COMPARATIVA DA LITERATURA

Segundo a pesquisa de FERNANDES (2017), a anemia é uma doença clínica e alteração de laboratório com múltiplas causas subjacentes. Por diversas razões, acredita-se que os hemoparasitas sejam a raiz da anemia. O autor fez a ousada afirmação de que *Ehrlichia canis*, *Babesia spp.*, *Anaplasma platys* e *Hepatozoon spp.*

foram encontrados em animais anêmicos atendidos no Hospital Veterinário da UFPB. Para fins de detecção de *Ehrlichia canis*, *Babesia spp.*, *Anaplasma platys* e *Hepatozoon spp.*, FERNANDES (2017) utilizou 95 amostras de animais anêmicos, que foram submetidas à extração de DNA e análise de reação em cadeia polimerase (PCR), foram encontrados em 67,3% dos animais, *E.canis* esteve em 31,6%, *A. platys* esteve em 10,5% dos animais e *Babesia spp.* em 45,3%. Nas infecções, podem ser observados dois hemoparasitas, sendo que 16,8% dos animais tiveram infecções simultâneas por três hemoparasitas.

A autora chegou à conclusão de que a investigação direta de hemoparasitas apresentou resultados falso-negativos e falso-positivos em relação à PCR, que o uso da PCR é fundamental porque auxilia no diagnóstico definitivo de casos de hemoparasitoses em animais.

Já na atual pesquisa, pudemos observar levando em consideração os testes analisados que, o teste de Elisa e Imunocromatografia apresentaram falsos negativos e falsos positivos devido a exposição ao agente patológico, sendo assim fez-se muito necessário realizar a contraprova utilizando o hemoparasitológico. Na lâmina foi possível detectar a presença do patógeno intracelular e também a associação de mais de um parasito presente na mesma amostra, assim como a conclusão da autora acima citada.

Segundo Bittencourt (2022), as doenças hemoparasitárias possuem significativa importância na clínica de pequenos animais devido à sua alta prevalência e ampla distribuição no território brasileiro. Os principais agentes responsáveis pelas infecções caninas incluem *Babesia sp.*, *Ehrlichia canis* e *Hepatozoon canis*. Os animais infectados são assintomáticos ou apresentam sinais clínicos vagos, sendo necessária a utilização de testes diagnósticos para identificar o agente etiológico e fornecer um diagnóstico confiável.

Segundo o autor, o objetivo do estudo foi identificar a presença desses microrganismos em cães naturalmente infectados residentes nos municípios de Vila

Velha e Anchieta, no Espírito Santo, por meio de diversos métodos de detecção, incluindo reação em cadeia da polimerase por transcrição reversa (PCR), sorologia para detecção de anticorpos contra *Ehrlichia canis* e hematozoários em esfregaço sanguíneo.

Bittencourt (2022) examinou 65 amostras de sangue obtidas por punção venosa de veia cefálica. No teste PCR, 4,62% dos animais testaram positivo para *Babesia vogeli* e 1,54% testaram positivo para *Ehrlichia canis*, sendo negativo para *Hepatozoon canis*. Os animais testaram positivo para presença de anticorpos, e no estudo dos fatores de coagulação sanguínea, 3% das amostras testaram positivo para outros hemoparasitas.

Os resultados mostram que esses hemoparasitas estão disseminados na população canina da região de estudo, mas ainda há concordância. O teste PCR mostrou-se o mais preciso, sendo *Babesia vogeli* o agente mais frequentemente observado.

Os hemoparasitas mais frequentemente transmitidos via carrapatos, de acordo com Alves (2020) encontrados durante procedimentos clínicos de rotina, embora haja poucas descrições de coinfeção simultânea com esses agentes em hemogramas. Diante do exposto, o objetivo deste estudo foi descrever os casos de quatro caninos atendidos no Hospital Veterinário Adalio Santos de Azevedo (HV -ASA) do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Paraguai (IFPB), campus Sousa, que foi diagnosticado com coinfeção por *Ehrlichia spp.* e *Hepatozoon canis*.

Foi relatado que os pacientes apresentavam carrapatos, hiporexia e oligodipsia no momento da avaliação clínica. Posteriormente foram realizados, hemogramas e todos os animais apresentaram anemia leve a moderada. Adicionalmente, notou-se que os animais 2 e 3 apresentaram neutrófilos, enquanto o animal 1 apresentava trombocitopenia ALVES (2022). Infecção por *H. canis* e *E. spp.* foi visto na amostra dos quatro animais.

Dessa forma, essa história ilustrou a importância de usar o hemograma e investigar os agentes responsáveis pelas hemoparasitoses através de um esfregaço sanguíneo. Deve-se enfatizar que o teste em lâmina, embora seja um método pouco confiável e de baixa sensibilidade, pode e deve ser usado rotineiramente porque é uma técnica fácil, rápida, acessível, minimamente invasiva e de diagnóstico conclusivo. ALVES (2022).

Assim como Alves (2022), a atual pesquisa também foi capaz de observar a importância da realização da lâmina que apesar de apresentar baixa sensibilidade, é capaz de descartar os resultados tanto falso negativo quanto positivo, essa baixa sensibilidade deve-se ao fato de o exame não identificar a presença de anticorpos mais sim, de fato a presença do agente causador.

Em seu trabalho, Ferraz (2021) observa que por ser rápido, fácil e de preço razoável, o exame microscópico direto da esfluorescência sanguínea é frequentemente utilizado no diagnóstico hemoparasitológico de rotina. O método tem um alto grau de especificidade, mas um baixo grau de sensibilidade. Isso é porque o hemoparasita tem sua visualização mais provável de ocorrer nos estágios finais, quando a parasitemia é menor, tornando mais provável a ocorrência de resultados falsos negativos. O autor também descreveu o caso de um cão infectado com espécies de *Babesia* e *Anaplasma platys*, determinadas por técnicas microscópicas e de biologia molecular, respectivamente.

Sendo assim, mais uma vez a atual pesquisa se encaixa com o desenvolvimento de outros autores que, também puderam observar que o exame microscópico pode ajudar o clínico a chegar a um diagnóstico definitivo dando continuidade ao tratamento do paciente, visto que, a clínica sendo soberana deve ser conciliada com outros exames e sintomatologias apresentadas. Ao mesmo passo que ao desenvolver a parte prática da pesquisa observamos que quanto mais sintomas estavam aparentes, mais resultados positivos foram visualizados, principalmente quando se tratava da presença de *Anaplasma* e *Babesia*, sendo assim faz-se necessário investir e investigar a real acurácia do exame hemoparasitológico, visto que pode ser que ele auxilia no estágio agudo das patologias aqui descritas.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Hemoparasitoses Caninas: considerações gerais

As hemoparasitoses caninas constituem um grupo de doenças causadas por parasitos sanguíneos transmitidos por vetores invertebrados, sendo responsáveis por manifestações clínicas que variam, desde imperceptíveis até quadros clínicos mais

graves, sem chance de recuperação do animal, vindo assim ao óbito. As hemoparasitoses como *anaplasmoses*, *babesiose*, *erliquiose* e *hepatozoonose* são as principais doenças que acometem os cães de todo o mundo e os carrapatos do complexo *Rhipicephalus sanguineus* são os principais vetores (VALENTE, 2014).

O diagnóstico das infecções hemoparasitárias é caracterizado como um grande desafio, devido aos diferentes tipos de agentes que podem provocar sintomatologias semelhantes. Os animais podem estar ou serem infectados por um ou mais agentes ao mesmo tempo, principalmente em regiões endêmicas. Assim, a complexa interação entre o agente infeccioso, o vetor e a resposta imunológica gerada pelo indivíduo irão determinar os riscos de infecção e a gravidade dos sinais clínicos gerados por essas hemoparasitoses (ARAÚJO *et al.*, 2022).

As hemoparasitoses possuem capacidade de alterar ou lesionar a função das células sanguíneas, onde apresentam um crescente problema na rotina clínica de pequenos animais, por expressarem sinais clínicos inespecíficos o que minimiza as possibilidades de recuperação devido a limitação do diagnóstico preciso e conseqüentemente comprometendo a instituição de um tratamento eficaz e uma taxa considerável de cura (HOLANDA *et al.*, 2019).

O esfregaço sanguíneo é frequentemente utilizado na rotina clínica para o diagnóstico das hemoparasitoses por se tratar de uma técnica de rápida execução, simples e de baixo custo. É considerado um método de alta especificidade, no entanto com baixa sensibilidade. Além disso, existe maior probabilidade de visualização dos hemoparasitos durante a fase aguda, podendo haver falsos negativos na fase de baixa parasitemia (FERRAZ *et al.*, 2021).

O diagnóstico definitivo desses patógenos geralmente é realizado pela observação de alterações clínicas e hematológicas encontradas, em associação com a pesquisa parasitológica direta, detecção de anticorpos nos exames sorológicos e testes moleculares (PADILHA, 2020).

A utilização do esfregaço sanguíneo, corado por azul de metileno e Giemsa é o método mais comum. Por esse método pode ser observado inclusões de células basófilas nas plaquetas apresentando formatos variados (redondo, oval ou em forma feijão), envoltos por uma membrana dupla. Entretanto, a identificação dos parasitos ao microscópio óptico apresenta baixa sensibilidade, já que a parasitemia, além de cíclica, pode se desenvolver com baixo número de agentes, tornando difícil a identificação das células parasitadas ((ARAÚJO *et al.*, 2022).

Os agentes etiológicos das hemoparasitoses podem ser encontrados nas fases subclínicas, hiperagudas, agudas, crônicas ou atípicas, contudo, as que são mais relevantes são as fases agudas e crônicas. Os animais infectados podem também atuar como reservatórios dos patógenos, que em alguns casos possuem potencial zoonótico (BRUM; CARVALHO, 2022).

Diversos testes sorológicos estão disponíveis para o diagnóstico de anaplasmose, como fixação do complemento, Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) e Ensaio Imunoenzimático (ELISA), e métodos moleculares, como a reação em cadeia da polimerase (PCR), possibilitando a detecção direta do DNA de microrganismos do gênero *Anaplasma* em amostras de sangue e tecido, carrapatos ou outros (ARAÚJO *et al.*, 2022).

Em cães, temos como destaque a Trombocitopenia Cíclica e a Eriquiose Monocítica, respectivamente causadas pelos agentes intracelulares obrigatórios *Ehrlichia canis* e *Anaplasma platys*, representando duas das mais frequentes hemoparasitoses em cães (HOLANDA *et al.*, 2019).

A Eriquiose monocítica canina e a Trombocitopenia cíclica canina são doenças causadas, principalmente, pelas bactérias *Ehrlichia canis* e *Anaplasma platys*. Esses parasitos pertencem à família *Anaplasmataceae*. Além disso, são consideradas parasitas intracelulares obrigatórias de células sanguíneas de mamíferos, sendo a primeira de leucócitos e a segunda de plaquetas (AE *et al.*, 2021).

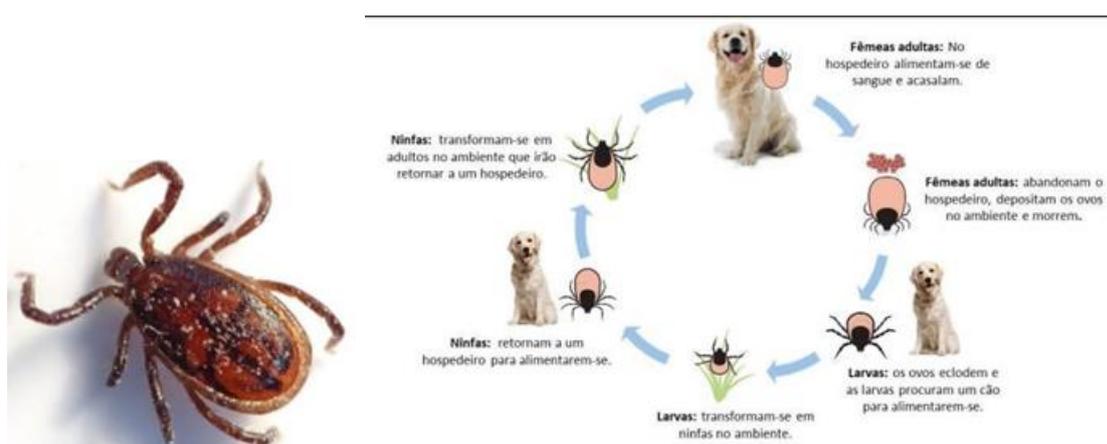
As manifestações clínicas, além de incomuns, são também inespecíficas, como febre, apatia, anorexia, mucosas pálidas, linfonodos aumentados, secreção nasal, anemia e trombocitopenia. Os vetores no Brasil de ambos os parasitos são carrapatos *Rhipicephalus sanguineus*, o que pode colaborar para a coinfeção. Outra forma de se transmitir a babesia além da picada do carrapato seria verticalmente, através da via transplacentária, mordeduras durante brigas e transfusão sanguínea (FERRAZ *et al.*, 2021).

Os vetores nesse caso os carrapatos, ectoparasitas que pertencem ao Reino *Animalia*, Filo *Arthropoda*, Classe *Arachnida*, Subclasse *Acarina*, Superordem, *Parasitiformes*, Ordem *Acari*, Subordem *Ixodida*, com duas principais Famílias, *Ixodidae* e *Argasidae*, onde a primeira apresenta várias espécies de interesse na avaliação diagnóstica das hemoparasitoses em cães, grande parte pertencente aos gêneros *Amblyomma*, *Dermacentor*, *Ixodes*, *Haemaphysalis* e *Rhipicephalus*. Esses ectoparasitas invertebrados possuem diferentes hospedeiros vertebrados, e algumas

espécies, têm grande afinidade por seres humanos, onde de maneira geral apresentam um extenso período de alimentação, em certas situações sua picada ser inicialmente indolor e não ser percebida por horas ou mesmo por dias.

São encontrados em diferentes locais, infestando os cães tanto no ambiente rural como no urbano (FOURNIER,2018)

Figura 4: Ciclo de vida do carrapato *Rhipicephalus sanguineus*



Fonte: Santos (2021)

Entre as espécies principais, a *Rhipicephalus sanguineus* (Figura 4) possui maior importância quando a infestação de cães é em ambiente urbano. Tal espécie possui um ciclo do tipo trióxeno, ou seja, necessita de três hospedeiros para desenvolver seu ciclo completo, que é compreendido em fases de ovo, larva, ninfa e adultos com dimorfismo sexual ou seja é quando o macho, e a fêmea de uma mesma espécie são diferentes externamente (SANTOS *et al.*, 2022).

A babesiose em cães é uma enfermidade parasitária que acomete as células sanguíneas, especificamente os eritrócitos, causada por protozoários do gênero *Babesia*. As espécies que podem infectar cães domésticos e silvestres existentes no Brasil, são a *B. gibsoni* e *B. canis*. Possuem uma extensa distribuição geográfica, e a gravidade dos sinais clínicos está relacionada a imunidade idade do animal, grau de parasitismo e a espécie de protozoário, o cão pode não apresentar sintomatologia, mas caso apresente ele apresenta os sintomas podem ser: apatia, febre, icterícia, mucosas pálidas e esplenomegalia, podendo haver uma evolução para casos mais graves, e até na morte do animal. Porém, a infecção subclínica se apresenta na

maioria dos casos, na presença de coinfeção, o que pode levar à piora do quadro (FERRAZ *et al.*, 2021).

O diagnóstico da Erliquiose Monocítica Canina (EMC), como das demais hemoparasitoses citadas acima, tem seu diagnóstico preciso por meio da anamnese, manifestações clínicas e resultados de exames laboratoriais como, Imunofluorescência direta (RIFI), Ensaio de Imunoabsorção Enzimática (ELISA), esfregaço sanguíneo e Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), sendo o PCR o mais indicado na detecção de infecção sanguínea ativa no decorrer da fase clínica da infecção (ARAÚJO *et al.*, 2022).

Os antibióticos utilizados no tratamento da Ehrlichia têm a doxiciclina da classe das tetraciclinas. Devido a sua boa absorção intestinal e alcançar alta concentração celular esse medicamento é muito utilizado na rotina clínica, mostrando-se positivo, pois a Ehrlichia é uma bactéria intracelular. Não há um tempo estimado que determine a duração do tratamento, porém alguns autores indicam que a administração seja instituída na dose de 10 mg/kg por 21 - 28 dias, havendo intervalos de 12 ou 24 horas (STIVAL 2021).

Segundo Stival (2021) ainda não se tem um protocolo vacinal disponível para prevenção da *E. canis*, então recomenda-se o uso de antiparasitários tanto no animal quanto no ambiente em que o mesmo habita, em períodos críticos onde os animais ficam mais expostos a esses ectoparasitas. Os antiparasitários utilizados de forma correta interrompe o ciclo evolutivo do carrapato, que tem seu estágio evolutivo no cão seu hospedeiro definitivo, assim como a *E. canis* outros agentes patogênicos não completaram seu ciclo, nem infectaram outros cães.

Para a prevenção podem ser utilizados amitraz, fibronile piretrinas, já no controle de indivíduos acometidos pelo parasito recomenda-se o tratamento terapêutico com tetraciclinas, pois ela possui resultados satisfatórios fármaco profilático tanto para infecção em primeiro contato quanto para casos de reinfecção, fazendo a administração via oral na dose de 6,6mg/kg/dia (STIVAL 2021).

3.1 AVALIAÇÃO DOS MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO DAS HEMOPARASITOSE

No geral, as formas de diagnósticos possuem semelhança para todas as hemoparasitoses, porém com suas particularidades e limitações também, podendo ser falhos, com possíveis reações cruzadas, resultados falsos negativos ou falso

positivo. De acordo com métodos mais utilizados, podemos citar, exame microscópico direto, testes sorológicos como RIFI e ELISA, exames hematológicos como o hemograma e bioquímicos, além de técnicas moleculares como o PCR (ARAÚJO *et al.*, 2022).

As pesquisas parasitológicas diretas e os testes sorológicos são mais simples e também mais utilizados. Porém, há um elevado número de animais com resultados que dão falsos negativos pela baixa parasitemia, a presença de reações cruzadas com outros patógenos, a dificuldade de diferenciar a exposição prévia de infecção presente, entre outras. Tornando assim, um método que não passa tanta confiança, o que torna questionável os resultados obtidos (VALENTE, 2014).

Na erliquiose, apesar de a detecção direta atualmente realizada por meio de esfregaços sanguíneos ser a técnica-padrão mais utilizada, em virtude de sua rapidez, ela se mantém como técnica de baixa sensibilidade, visto o pequeno número de células com o parasita, considerando quadros comumente caracterizados por leucopenia e a dependência do microscopista, devido ao cansaço do observador, decorrente do número de esfregaços e células examinados (OLIVEIRA, 2015).

3.1.1 EXAMES HEMATOLÓGICOS

Os critérios hematológicos de maneira isolada não permitem a execução do diagnóstico de hemoparasitoses, pois não possibilitam a identificação do agente. Pois, indivíduos infectados podem apresentar ou não diferentes alterações em seus resultados. Porém, quando manifestadas, as alterações observadas no hemograma são: anemia em diferentes graus (normocítica normocrômica, normocítica hipocrômica, microcítica hipocrômica), policromasia, anisocitose, leucocitose ou leucopenia, eosinopenia, trombocitopenia e desvio nuclear de neutrófilos para a esquerda (WAGNER DE MATOS; BEATRIZ; ROCHA-LIMA, 2021)

As principais alterações hematológicas observadas em casos de erliquiose monocítica canina (EMC), incluem trombocitopenia variável, anemia e leucopenia discretas durante a fase aguda, trombocitopenia discreta na fase subclínica, e pancitopenia durante a fase crônica (GUIMARÃES, 2022).

Nos exames bioquímicos, alterações como no número de proteínas plasmáticas e elevação de ALT (alanina aminotransferase) e FA (fosfatase alcalina) são as mais descritas. Alterações nas concentrações séricas de albumina e globulina

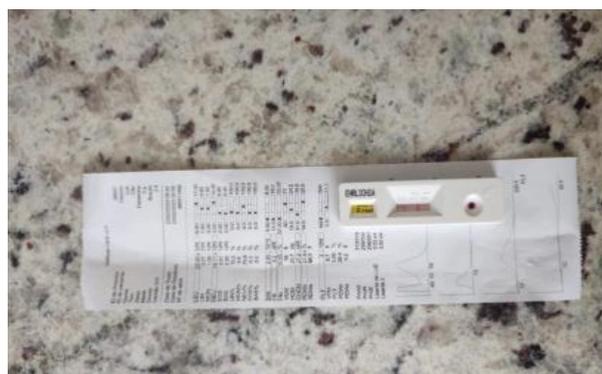
são comuns nas hemoparasitoses, que explica o quadro de hipoalbuminemia, quando há o extravasamento da proteína para o interstício e a redução da ingestão de proteínas, apresentando também uma resposta autoimune secundária aos componentes das células lesadas dos hospedeiros (DORIA, 2016).

Vale ressaltar que a fase da doença e a resposta imunológica que o animal apresenta influenciam de maneira direta nesses achados laboratoriais. Na maioria dos casos, a alta ocorrência dessas enfermidades em certas regiões, o histórico do animal de já ter sido parasitado por carrapatos, e a identificação, principalmente, de trombocitopenia no hemograma (Figura 5), é o que leva comumente as suspeitas clínicas para as hemoparasitoses. Por maior coincidência que haja entre essas informações, elas não são suficientes para se determinar um diagnóstico final (ARAÚJO *et al.*, 2022).

Os sinais clínicos vão variar. Principalmente de acordo com o grau da infecção, sendo elas subclínica, superaguda, aguda, crônica e atípica. Os cães jovens são os mais acometidos e apresentam a forma aguda da doença. No geral as características clínicas incluem febre, perda de peso, anorexia, hematúria e icterícia (BRUM e CARVALHO, 2022).

No entanto, a redução do número de plaquetas em cães que vivem em áreas consideradas endêmicas pode atuar como ferramenta indispensável com intuito de orientar novos métodos de diagnósticos (ARAÚJO *et al.*, 2022).

Figura 5: Hemograma indicando alterações competentes ao teste de Imunocromatografia



Fonte: Autoria própria 2023

3.1.2 EXAME MICROSCÓPICO DIRETO

Com o decorrer dos anos, a análise das sequências, têm representado métodos precisos de identificação das espécies, utilizados para o diagnóstico individual e para estudos epidemiológicos das babesioses em cães. As abordagens recentes no campo da biologia molecular têm aumentado a utilização de técnicas moleculares, tornando essas ferramentas apropriadas para estudos taxonômicos e caracterização filogenética, o que tem resultado em novas descobertas e no surgimento de novos grupos, com diversas sugestões para alterações taxonômicas (OLIVEIRA, 2015).

Os testes disponíveis para diagnosticar a doença têm por base identificar antígenos circulantes através de teste de ELISA e na identificação de microfilárias circulantes por meio do exame direto de sangue a fresco ou por métodos de concentração (PADILHA, 2020).

O esfregaço sanguíneo é o exame microscópico direto que é realizado para verificar a presença ou não dos agentes infecciosos no sangue, realizado de três maneiras: sangue de ponta de orelha o mais recomendável, sangue proveniente de vasos mais calibrosos (jugular, cefálica ou safena) ou também capa leucocitária, que é extraído dos sangue dos vasos calibrosos, sendo essa forma a última que apresenta melhores resultados, o que sugere o crescente número de *Anaplasma platys* obtidos pelo esfregaço sanguíneo, confeccionado a partir da capa leucocitária (WEBSIX, 2020).

Figura 6: Varredura de lâmina para pesquisa de hemoparasita.



Fonte: Autoria própria 2023

3.1.3 TESTES SOROLÓGICOS

O ELISA, é uma sorologia de caráter qualitativa, que é muito utilizada na rotina clínica devido a sua rápida e fácil realização, como por exemplo, o teste rápido Canine Snap 4Dx® Plus, diagnóstico rápido baseado na metodologia ELISA que detecta anticorpos contra diferentes agentes (*E. canis*, *Anaplasma spp.*, *Dirofilaria immitis* e *Borrelia burgdorferi*). Apesar de serem bastante úteis, o baixo número de anticorpos no início da infecção torna-se um fator desafiador, evidenciando que um resultado negativo neste teste não descarta a possibilidade de um animal estar contaminado (ARAÚJO *et al.*, 2022).

A avaliação sorológica associada a métodos laboratoriais pode permitir a caracterização do estágio da infecção. Esta avaliação é essencial na caracterização das hemoparasitoses em cães, agregando valor e permitindo uma efetiva consolidação do diagnóstico relacionado a essas enfermidades. A disponibilidade de testes sorológicos rápidos permite ao veterinário a instituição da terapêutica mais adequada em tempo hábil (HOLANDA, *et al.*, 2019).

Dentre os testes sorológicos disponíveis, os mais utilizados para diagnóstico de hemoparasitoses são o ELISA e RIFI, ambos de grande importância clínica, principalmente durante as fases subclínica e crônica da doença, já que a baixa

parasitemia dificulta a detecção do agente no exame direto. Estes testes detectam anticorpos precoces em até sete dias após infecção, no entanto, a maioria dos animais é soropositiva apenas após vinte e oito dias de infecção (ALVES,2022).

Figura 7: Materiais utilizados para realização do teste de ELISA.



Fonte: Autoria própria 2023

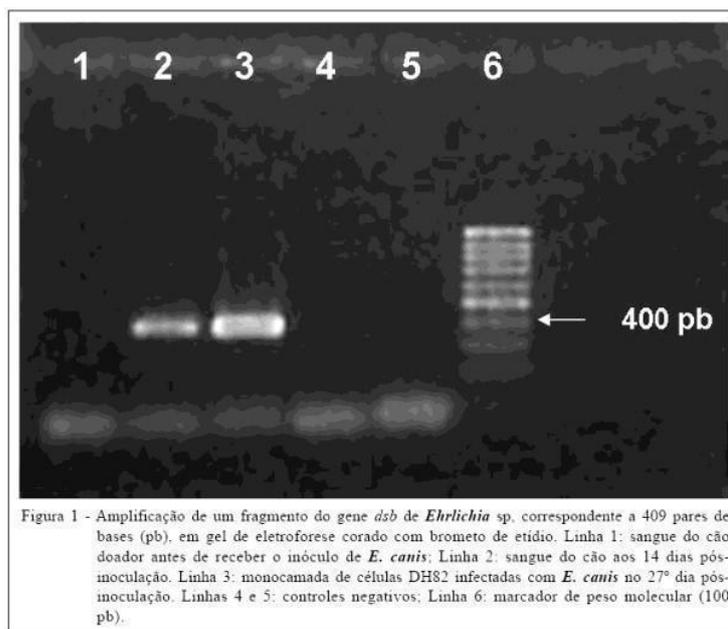
3.1.4 TESTES MOLECULARES

Consiste em um método de diagnóstico molecular de alta sensibilidade, a reação em cadeia de polimerase (PCR), tem sua precisão principalmente em infecções agudas, sendo o mais indicado para a detecção do agente etiológico nas fases crônicas da doença, e possibilita a identificação de cada espécie e subespécie do patógeno envolvido (BITTENCOURT., 2022).

Este diagnóstico é um desafio a ser verificado pelo médico veterinário, pois ele vai encontrar pela frente as diferentes fases de infecção e a variedade de manifestações clínicas. O conhecimento do comportamento do agente e da sensibilidade e especificidade de cada exame, bem como da fase de evolução clínica da doença, é importante no momento de escolha do método diagnóstico. Utiliza-se os exames de E.L.I.S.A. e RIFI ou ainda molecular, com o uso de PCR para um diagnóstico mais preciso (BRUM e CARVALHO, 2022).

Diferentes técnicas foram desenvolvidas com o intuito de aumentar a eficácia deste teste molecular (PCR) como, por exemplo, a PCR em tempo real (qPCR), sendo utilizados com maior frequência para diagnósticos clínicos e experimentos laboratoriais devido sua alta capacidade em obter resultados quantitativos. Outro tipo de protocolo que tem sido amplamente empregado na detecção e discriminação de hemoparasitoses em cães, são os protocolos de ensaios de PCR convencional, nested-PCR e qPCR (ARAÚJO *et al.*, 2022).

Figura 8: Exame PCR (Reação em Cadeia Polimerase)



Fonte: Aguiar 2007

3.1.5 Resultados Finais da Pesquisa

Tabela 1 – Número de animais adultos e filhotes positivos no teste ELISA (4dx) e no exame Hemoparasitologia.

IDADE	NÚMERO DE ANIMAIS	TESTE 4DX ELISA	HEMO PARASITOLÓGICO
		POSITIVOS	POSITIVOS
ADULTOS (2 A 15 a)	36	10	10
FILHOTES (0 a 12 m)	07	01	01
TOTAL	43	11	11

A Tabela 1 mostra que 25,6% dos animais foram positivos tanto no teste ELISA (4dx), quanto no exame parasitológico de sangue.

É possível observar que 30,5% dos animais adultos se mostraram positivos tanto no teste ELISA (4dx) quanto no exame parasitológico de sangue.

Nessa mesma tabela observa-se que no exame Hemoparasitológico existe reação cruzada no teste de ELISA (4dx) em relação aos hemoparasitos. Em alguns casos o teste se mostrou positivo para ehrlichia e no exame citológico pôde ser encontrado tanto anaplasma quanto babesia ou a identificação de um ou mais parasitos, ressalta-se que a Babesiose pode ser encontrada somente no exame hemoparasitologia, pois ainda não há um teste específico para o agente patológico.

Tabela 2 – Número de animais adultos e filhotes positivos no teste imunocromatografia e no exame hemoparasitológico.

IDADE	NÚMERO DE ANIMAIS	TESTE IMUNOCROMATOGRRAFIA	HEMOPARASITOLÓGICO
		POSITIVOS	POSITIVOS
ADULTOS (2 A 15 a)	13	03	03
FILHOTES (0 a 12 m)	03	0	0
TOTAL	43	03	03

Na tabela 2, observa-se que dos 16 animais submetidos ao teste de Imunocromatografia 13 deles são adultos, 3 deles se mostraram positivos tanto no teste Imunocromatográfico quanto no hemoparasitologico. Em relação aos filhotes nenhum apresentou positivo em ambos os testes.

O teste imunocromatográfico é utilizado para detecção de apenas um tipo de hemoparasitose (*Ehrlichia Canis*) o que reforça a necessidade de associar mais de um tipo de teste, onde o exame hemoparasitológico é capaz de identificar inúmeras hemoparasitoses que se encontram no interior das células, por se tratar de um teste qualitativo o mesmo faz a ligação de antígeno e anticorpo detectando se o paciente foi exposto ou não ao patógeno.

Já no exame Hemoparasitológico, observa-se que além de identificar o parasito pesquisado, também pode ser identificado outros tipos de agentes patológicos como: *Babesia*, *Anaplasma*, Doença de Lyme, Dirofilariose e Hepatozoon se mostrando mais eficaz quando associado a outros métodos de diagnóstico.

Tabela 3 – Número de animais (adultos e filhotes) negativos no teste ELISA(4dx) e positivos no exame hemoparasitológico.

IDADE	NÚMERO DE ANIMAIS	TESTE 4DX ELISA	HEMO PARASITOLÓGICO
		NEGATIVOS	POSITIVOS
ADULTOS (2 A 15 a)	36	08	08
FILHOTES (0 a 12 m)	07	03	03
TOTAL	43	11	11

A tabela 3 mostra que 11 Animais foram negativos no teste ELISA (4dx) somando adultos e filhotes, porém, foram positivos no exame hemoparasitológico de sangue indicando a importância do mesmo como teste confirmatório sugerindo que muitas vezes ocorre reações falso negativas, portanto conclui-se que o exame parasitológico, nesta pesquisa mostrou-se superior ao teste ELISA (4dx).

Tabela 4 – Número de animais (adultos e filhotes) negativos no teste Imunocromatografia e positivos no exame hemoparasitológico.

IDADE	NÚMERO DE ANIMAIS	TESTE IMUNOCROMATOGRÁFIA	HEMOPARASITOLÓGICO
		POSITIVO	NEGATIVO
ADULTOS (2 A 15 a)	16	13	10
FILHOTES (0 a 12 m)	03	01	01
TOTAL	43	14	11

A tabela 4 mostra que dos 16 animais submetidos ao teste de Imunocromatografia e hemoparasitológico, 13 adultos se mostraram positivos para imunocromatografia enquanto 10 animais foram negativos no exame

hemoparasitológico, e somente 3 animais adultos se mostraram positivos em ambos os testes, sugerindo um possível resultado falso positivo do teste Imunocromatografia.

Observa-se ainda que 32,6% dos animais testados foram positivos no teste Imunocromatografia, enquanto 25,6% dos animais se mostraram negativos no exame hemoparasitológico.

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Visto que os protozoários *Anaplasma* e *Babesia* são patógenos comuns em espécies Bovinas e Equinas, podemos levantar duas hipóteses a respeito de sua presença na clínica de pequenos animais. A primeira deve-se à expansão do meio urbano para o meio rural facilitando o contato direto com o agente etiológico. A segunda hipótese sugere que com o passar dos anos os pets tornam-se membros da família, sendo assim, estão presentes em viagens, visitas a sítios, fazendas e até mesmo em hotéis.

Para evitar este repasse do patógeno pelo hospedeiro intermediário faz-se necessário os métodos profiláticos.

Em relação aos testes rápidos e o exame hemoparasitológico, ao desenvolver a pesquisa tanto teórica quanto prática, observamos a importância da associação do teste rápido seja ELISA ou Imunocromatografia com o hemoparasitológico, para se evitar tanto falsos-positivos quanto falsos-negativos, chegando a um diagnóstico definitivo mais claro e fidedigno.

REFERÊNCIAS

AE, S; et.al . **ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS E HEMATOLÓGICOS DE CÃES INFECTADOS COM EHRlichia SP E ANAPLASMA SP EM JATAÍ-GO, BRASIL.** Disponível em: <https://rvz.emnuvens.com.br/rvz/article/download/526/309/2391> Acesso em: 26 out. 2023.

ALVES, M. DE M. *et al.* **DIAGNÓSTICO HEMATOLÓGICO DE COINFECÇÃO POR Ehrlichia spp. E Hepatozoon canis EM CÃES NO SEMIÁRIDO DA PARAÍBA.** Ciência Animal, v. 32, n. 4, p. 188–197, 25 dez. 2022. Disponível em: <https://revistas.uece.br/index.php/cienciaanimal/article/view/9965/8215>

BITTENCOURT, J. *et al.* **A OCORRÊNCIA DE Babesia sp., Ehrlichia canis E Hepatozoon canis EM CÃES DOMICILIADOS, EM DOIS MUNICÍPIOS DO ESTADO DO ESPÍRITO SANTO – BRASIL.** Veterinária e Zootecnia, v. 29, p. 1–9, 15 mar. 2022. Disponível em: <https://rvz.emnuvens.com.br/rvz/article/view/611>.

Casa - IDEXX Brasil. Disponível em: <https://www.idexx.com.br/pt-br/> . Acesso em: 26 out. 2023.

DO CARMO, V. **Erliquiose monocitotrópica canina: Revisão.** Pubvet [S. l.], v. 15, n. 01, 2020. DOI: 10.31533/pubvet.v15n01a734.1-7. Disponível em: <https://ojs.pubvet.com.br/index.php/revista/article/view/649> . Acesso em: 27 out. 2023.

DÓRIA, R. G. S. *et al.* **Investigação clínica e comparação do esfregaço sanguíneo e PCR para diagnóstico de hemoparasitas em equinos de esporte e tração (carroceiros).** Pesquisa Veterinária Brasileira, v. 36, n. 8, p. 724–730, ago. 2016. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/pvb/a/F3J3zXhBLJWHnx9frg4LgRG/?lang=pt>

DOS SANTOS, JC; DE LIMA, Álvaro A.; DE SOUZA, RC; BIANCALANA, A.; BIANCALANA, FSC **Avaliação da ocorrência de carrapatos (Acari:Ixodidae) em cães domésticos no Município de Soure-Marajó/PA/Avaliação da ocorrência de carrapatos (Acari:Ixodidae) em cães domésticos no município de Soure-Marajó/PA.** Revista Brasileira de Desenvolvimento , [S. l.] , v. 4, pág. 31439–31448, 2022. DOI: 10.34117/bjdv8n4-566. Disponível em: <https://ojs.brazilianjournals.com.br/ojs/index.php/BRJD/article/view/47165> . Acesso em: 27 out. 2023.

FERNANDES, M. **IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR DA EHRlichia CANIS, BABESIA SPP., ANAPLASMA PLATYS E HEPATOZOON SPP. EM CÃES ANÊMICOS ATENDIDOS NO HOSPITAL VETERINÁRIO DA UFPB.** Disponível em: https://repositorio.ufpb.br/jspui/handle/123456789/1967?locale=pt_BR.

FERRAZ, A. *et al.* **Coinfecção por Babesia spp. e Anaplasma platys em canino doméstico, relato de caso.** Scire Salutis, v. 11, n. 1, p. 1–6, 2021. <https://sustenere.co/index.php/sciresalutis/article/view/CBPC2236-9600.2021.001.0001>

FOURNIER, P.-E. **European Society for Coxiellosis, Chlamydioses, Anaplasmoses and Rickettsioses – American Society for Rickettsiology joint meeting 2017.** New Microbes and New Infections, v. 23, p. 6, maio 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2052297518300076?via%3Dihub>.

GUIMARÃES, G. de M; SILVA, T. M; ACURCIO, T. O. de R; ACURCIO, L. B. **Principais alterações no hemograma de cães domésticos do Município de Formiga-MG de 2017 a 2019 / Main changes in the blood count of domestic dogs in the Municipality of Formiga-MG from 2017 to 2019.** Brazilian Journal of Development, [S. l.], v. 8, n. 5, p. 36373-36380, 2022. DOI: 10.34117/bjdv8n5-241. Disponível em: <https://ojs.brazilianjournals.com.br/ojs/index.php/BRJD/article/view/47871> . Acesso em: 27 oct. 2023.

HOLANDA, L. C. DE *et al.* **ACHADOS HEMATOLÓGICOS EM SANGUE E MEDULA ÓSSEA DE CÃES NATURALMENTE INFECTADOS POR Ehrlichia spp. E Anaplasma spp.** Ciência Animal Brasileira, v. 20, 2019. <https://www.scielo.br/j/cab/a/5STCxcjNGyqmNzRBzTTm7yK/>

LUIZ, A.; MENEZES, G. M. M; TORQUATO JÚNIOR, A. da S; SANTOS, A. L. da C; DELFINO, A. I. S. **A. Levantamento de hemoparasitoses em cães e gatos no Hospital Veterinário Dr. Vicente Borelli – Aracaju – Sergipe.** Pubvet, [S. l.], v. 13, n. 01, 2019. DOI: 10.31533/pubvet.v13n01a260.1-5. Disponível em: <https://ojs.pubvet.com.br/index.php/revista/article/view/940> . Acesso em: 27 out. 2023.

MOURA AGUIAR, D. *et al.* *Ciência Rural*, v.37, n.3, mai-jun. **Ciência Rural**, n. 3, p. 796–802, 2007. Disponível em:

<https://www.scielo.br/j/cr/a/7YQwjSV7GzLFGSmQrQwVK8g/?format=pdf&lang=pt>

NASCIMENTO SOUSA, E. **Coinfecção de anaplasose e erliquiose: Relato de caso.** *Pubvet*, [S. l.], v. 15, n. 05, 2021. DOI: 10.31533/pubvet.v15n05a818.1-6. Disponível em:

<https://ojs.pubvet.com.br/index.php/revista/article/view/255> . Acesso em: 27 out. 2023.

OLIVEIRA, A. C. DE. **Diagnóstico das hemoparasitoses caninas por biologia molecular, alterações hematológicas e centrifugação por gradiente.** *www.locus.ufv.br*, 27 fev. 2015.

<https://www.locus.ufv.br/handle/123456789/6514>

PADILHA, V. M. *et al.* **Erliquiose monocítica canina recidivante: relato de caso.** *Pubvet*, v. 14, n. 5, p. 1–7, maio 2020. <https://ojs.pubvet.com.br/index.php/revista/article/view/584>

SANTOS, G. C. M. DOS. **Perfil farmacocinético e eficácia contra *Ctenocephalides felis felis* e *Rhipicephalus sanguineus* do fipronil administrado pela via oral em cães.** *tede.ufrj.br*, 27 ago. 2021. <https://tede.ufrj.br/jspui/handle/jspui/6489>

SANTOS. C.C **TÉCNICAS DE ESFREGAÇOS SANGUÍNEOS NA PESQUISA DE Ehrlichia spp. EM CÃES ASSINTOMÁTICOS:** São Paulo, V.1, n.1, Jan.2020. DOI

10.22533/at.ed.23820030216. Disponível em:

<https://www.atenaeditora.com.br/catalogo/post/tecnicas-de-esfregacos-sanguineos-na-pesquisa-de-ehrlichia-spp-em-caes-assintomaticos>

VALENTE, P. C. L. G. **Avaliação dos métodos diagnósticos e dos parâmetros hematológicos nas hemoparasitoses caninas no estado de Minas Gerais.** Disponível

em: <https://repositorio.ufmg.br/handle/1843/SMOC-9SQFD5>

WAGNER DE MATOS; R.; BEATRIZ, A; ROCHA-LIMA, C. **Alterações hematológicas em cães diagnosticados com Erliquiose Monocítica Canina Hematological disorders in diagnosed dogs with Canine Monocytic Ehrlichiosis.** *J Health Sci Inst*, v. 39, n. 1, p. 24–32, 2021. Disponível em: https://repositorio.unip.br/wp-content/uploads/tainacan-items/34088/78541/04V39_n1_2021_p24a28.pdf