

Infecção por hematozoários nos cães domésticos atendidos em serviço de saúde animal, Rio de Janeiro, Brasil*

Paulo Daniel Sant'Anna Leal¹⁺, Maria Isabel Menezes Ramos Moraes², Larissa Licurci de Oliveira Barbosa³ e Carlos Wilson Gomes Lopes⁴

ABSTRACT. Leal P.D.S., Moraes M.I.M.R., Barbosa L.L. deO. & Lopes C.W.G. [Blood parasites infections in domiciled dogs in an animal health service in Rio de Janeiro, Brazil.] Infecção por hematozoários nos cães domésticos atendidos em serviço de saúde animal, Rio de Janeiro, Brasil. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 37(Supl.1):55-62, 2015. Curso de Pós-Graduação de Ciências Veterinárias, Anexo 1, Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, BR 465 Km 7, Campus Seropédica, BR 465 Km 7, Seropédica, RJ 23890-970, Brasil. E-mail: pauloleal@ctiveterinario.com.br

The vector-borne diseases in dogs are caused by pathogens with different biological behaviors that result in different clinical and laboratory findings presentations. The diagnosis of these diseases is a challenge for veterinarians and those caused by obligate intracellular blood parasites of blood cells constitute vogeli of *Babesia canis*, *Anaplasma platys*, *Ehrlichia canis* and *Mycoplasma canis*. This paper looks at the frequency of these parasites in 204 laboratory results dogs treated at the Intensive Care Unit and Emergency Veterinary through CBC and research of blood parasites in blood estiração and concentrate platelets and leukocytes. There was one or more species of haemoparasites in 132 dogs (64.7%) through blood samples. They were observed: 7 (5.3%) dogs for *B. c. vogeli*, 64 (48.5%) for *A. platys*, 16 (12.2%) for *M. canis*, *A. platys* and *E. canis* in one (0.7%), *A. platys* and *M. canis* in 36 dogs (27.3%), *M. canis* and *B. c. vogeli* five (3.8%), *M. canis* and *E. canis* one (0.7%), *A. platys*, *B. c. vogeli* and *M. canis* in two (1.50%), confirming thus the high frequency of blood parasites in pet dogs in an urban environment, treated in the routine, the importance of viewing parasitic inclusions in leukocytes, platelets and red blood cells, It thus demonstrating the need for greater attention to the diagnosis of multiple infections by different parasitic agents in order to determine the most effective treatment.

KEY WORDS. Haemoparasites, domestic dog, urban area, veterinary health service, Rio de Janeiro.

RESUMO. As doenças transmitidas por artrópodes para cães são causadas por patógenos com diferentes comportamentos biológicos que resulta em diferentes avaliações tanto clínica como laboratoriais. O diagnóstico destas doenças é um desafio para os veterinários e são causadas por parasitos obriga-

tórios das células do sangue caracterizando-se por *Babesia canis vogeli*, *Anaplasma platys*, *Ehrlichia canis* and *Mycoplasma canis*. Este trabalho teve como objetivo determinar a frequência desses hemoparasitos em 204 amostras de sangue procedentes de cães tratados no serviço de saúde animal. A observação

*Recebido em 29 de outubro de 2015.

Aceito para publicação em 3 de dezembro de 2015.

¹ Médico-veterinário, DSc, Curso de Pós-Graduação de Ciências Veterinárias. Anexo 1, Instituto de Veterinária (IV), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Campus Seropédica, BR 465 Km 7, Seropédica, RJ 23897-970. *Autor para correspondência, E-mail: pauloleal@ctiveterinario.com.br - Programa Pós Doutorado.

² Médica-veterinária. Centro de Terapia Intensiva e Emergência Veterinária, Av. das Américas, 3939, Bloco 2, Loja I, Barra da Tijuca, RJ 22631-003, Brasil. E-mail: ctivet@ctiveterinario.com.br

³ Médico-veterinário, PhD, LD. Departamento em Parasitologia Animal, Anexo 1, IV, UFRRJ, Campus Seropédica, BR 465 Km 7, Seropédica, RJ 23897-970. E-mail: lopescwg@ufrj.br - bolsista CNPq.

dos hematozoários foi feita durante a observação dos elementos figurados em estiraços de sangue corados pelo Panóptico onde um ou mais parasitos puderam ser observados. Houve um ou mais espécies de parasitos em 64,7% (132/204) das amostras examinadas. Sete (5,3%) dos cães foram positivos para *B. c. vogeli*, 64 (48,5%) for *A. platys*, 16 (12,2%) for *M. canis*, *A. platys* and *E. canis* in 1 animal (0,7%), *A. platys* and *M. canis* in 36 animais (27,3%), *M. canis* and *B. canis vogeli* 5 animais (3,8%), *M. canis* and *E. canis* 1 cão (0,7%), *A. platys*, *B. c. vogeli* and *M. canis* in 20 dogs (1,50%), confirmando alta frequência de hemoparasitos em cães na região urbana da cidade do Rio de Janeiro, demonstrando com isso que se deve ter maior atenção no diagnóstico das múltiplas infecções observadas por hemoparasitos para que se possa determinar um tratamento mais efetivo.

PALAVRAS-CHAVE. Hemoparasitos, cão domestico, serviço de saúde animal, Rio de Janeiro.

INTRODUÇÃO

As hemoparasitoses em cães são de grande importância na clínica médica veterinária devido à frequência com que ocorrem, constituem-se de enfermidades cosmopolitas causadas por parasitos intracelulares obrigatórios de células sanguíneas, transmitidas biologicamente pela picada de artrópodes hematófagos, tendo como principal vetor o carrapato marrom do cão *Rhipicephalus sanguineus*, ocorrendo através da picada de cão a cão (Regendanz & Muniz, 1936; Simpson et al. 1991; Ettinger & Feldman 1997, Inokuma et al. 2000; Shaw et al., 2001, Birchard & Sherding, 2003, Massard & Fonseca 2004, Dantas-Torres 2008, Leal et al. 2012, Sainz et al. 2015, Starkey et al. 2015), o qual pode transmitir esses organismos por mais de cinco meses após o ingurgitamento com sangue infectado (Ettinger & Feldman, 1997) e pelos gêneros *Amblyomma* e *Anocentor*, importantes na dispersão de algumas dessas doenças que acometem animais de várias espécies, entre cães, gatos, equinos e bovinos, e responsáveis por manifestações clínicas variáveis, com apresentação multissistêmicas que podem levar a óbito (Massard & Fonseca 2004, Zobba et al. 2015) ou sendo portadores assintomáticos, principalmente o cão, capazes de manter a infecção a longo prazo, podendo servir como reservatório (Starkey et al. 2015).

Em cães os hemoparasitos mais comuns transmitidos pelos carrapatos ixodídeos são microorganismos como *Ehrlichia canis*, *Anaplasma platys*, *Mycoplasma canis* (= *Mycoplasma haemocanis* e os

protozoários *Babesia canis* e *Babesia gibsoni* (Neer et al. 2002, Diniz 2006, Salgado 2006, Carlos et al. 2007, Miranda et al. 2008, Mundim et al. 2008, Leal et al. 2012, Silva et al. 2012, Sainz et al. 2015, Zobba et al. 2015).

A anaplasmoze trombocítica canina é uma doença causada por bactéria gram negativa pertencente ao gênero *Anaplasma* (Baker et al. 1987, Harrus et al. 1997, Dumler et al. 2001, Ferreira et al. 2007). Observada plaquetas e eventualmente leucócitos de cães, identificada como *A. platys*. Inicialmente identificada como *Ehrlichia platys* (Harvey 1978, French et al. 1983, Baker et al. 1987, Dagnone et al. 2001), responsável por um quadro clínico denominado trombocitopenia infecciosa cíclica canina, cujo prognóstico varia de leve a severo (Baker et al. 1987, Dumler et al. 2001, Ferreira et al. 2007, Sainz et al. 2015, Zobba et al. 2015). Um grande número de plaquetas é afetado. Alguns dias após a infecção há diminuição brusca no número de plaquetas e o agente etiológico causal desaparece da circulação, a contagem plaquetária retorna a valores próximos aos de referência em aproximadamente quatro dias. A parasitemia e a trombocitopenia, subsequentes tendem a ocorrer periodicamente em intervalos de uma a duas semanas, com a diminuição do número de plaquetas infectadas, a trombocitopenia pode continuar severa ou diminuir de intensidade (Baker et al. 1987, Harrus et al. 1997, Inokuma et al. 2000). Os sinais clínicos começam após um período de incubação de oito a 15 dias, com alguns sinais digestivos, anorexia, febre, letargia e distúrbios hemostáticos (Baker et al. 1987, Harvey 1978, Leal et al. 2012). O agente etiológico é visualizado como inclusões basofílicas no interior de plaquetas em estiraços corados com Giemsa e/ou Panóptico Rápido. Os achados laboratoriais, assim como o histórico e o exame clínico apenas indicam o diagnóstico, porém a visualização do agente etiológico, ou a demonstração dos seus anticorpos ou antígenos e a utilização da técnica da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) podem confirmar o diagnóstico (Miranda et al. 2008, Mundim et al. 2008, Miranda et al. 2011, Leal et al. 2012, Silva et al. 2012, Zobba et al. 2015). Há, ainda, outro agente etiológico pertencente a essa família, denominado *Anaplasma phagocytophilum* que pode parasitar leucócitos polimorfonucleares de cães (Dagnone et al. 2001, Dumler et al. 2001, Ferreira et al. 2007, Santos et al. 2011, Silveira et al. 2015).

Os micoplasmas hemotrópicos (hemoplasmas) são organismos pleomórficos, epicelulares, gram negativos que infectam a superfície dos eritrócitos

de diversas espécies, genericamente denominados micoplasmas, são desprovidos de uma parede celular. O gênero *Mycoplasma* (ordem Mollicutes) forma um grupo de bactérias que são parasitos obrigatórios e estão associados com anemia, artrite, infertilidade e distúrbios respiratórios (Chalker 2005). Em cães, a infecção pelo referido agente etiológico pode causar anemia hemolítica na fase aguda, enquanto que na doença crônica não há sinais clínicos, sendo que a imunossupressão e a esplenectomia podem desencadear a doença na sua forma aguda (Kemming et al. 2004, Messick 2003, Chalker 2005). Certas espécies estão associadas com anemia canina, doenças respiratórias e infecções do trato urogenital, são caracterizadas pelo parasitismo da superfície de eritrócitos de diferentes espécies de mamíferos em que causam anemia com variável intensidade, da ausências de sinais clínicos ao óbito (Chalker 2005) e o agravamento dos sinais clínicos estão relacionados a associações com outros hemoparasitos (Sasaki et al. 2008).

A erliquiose canina tem como responsável uma bactéria do gênero *Ehrlichia*, parasito de leucócitos e plaquetas, as espécies que naturalmente infectam cães são: *E. canis* (cepa mononuclear), *A. platys* (*Anaplasma platys*) (cepa plaquetária) e *E. ewingii* (cepa neutrofílica). Além dessas espécies, *E. equi* (cepa neutrofílica), *E. risticii* (cepa mononuclear) e *E. chaffeensis* (erliquiose humana) também já foram assinaladas como responsáveis pela erliquiose em cães (Dagnone et al. 2001, Birchard 2003, Massard & Fonseca 2004, Moraes et al. 2004, Oriá et al. 2004, Miranda et al. 2011). *Ehrlichia canis* é a mais comum e causa doença clínica mais grave, forma agrupamentos intracitoplasmáticos em forma de amora e com coloração magenta-escura ou azul-acinzentada chamadas de mórulas, pode ser encontrada em plaquetas, monócitos, linfócitos e neutrófilos (Birchard & Sherding 1998, Massard & Fonseca 2004, Leal et al. 2012). A fase aguda tem duração de duas a quatro semanas, período em que ocorre multiplicação do micro-organismo, as células infectadas são levadas pela circulação sanguínea para outros órgãos, promovendo vasculite e infecção do tecido subendotelial, além de anemia progressiva em razão da destruição e supressão da produção eritrocitária (Breitschwerdt 2008). Não há predisposição racial, por idade, por sexo em cães, todas as raças são propensas às infecções, no entanto, cães das raças, Pastor Alemão e Huskies Siberianos estão mais propensos a desenvolver sinais clínicos graves de erliquiose; por conseguinte, estas raças tendem a necessitar de uma maior atenção no tratamento (Sainz et al. 2015).

A babesiose tem como agentes etiológicos protozoários intracelulares do gênero *Babesia*. Possuem características clínicas variáveis e inespecíficas, podendo o cão apresentar infecções de leve a severa com óbito (Regendanz & Muniz 1936, Miranda et al. 2011). Geralmente se caracteriza por redução dos elementos figurados do sangue (Birchard & Sherding 2003, Moraes et al. 2004, Oriá et al. 2004, Miranda et al. 2011, Leal et al. 2012).

Achados de mórulas em leucócitos e plaquetas confirmam o diagnóstico de anaplasiose ou erliquiose canina através da visualização destas estruturas citoplasmáticas em estiraços de sangue, constituindo-se de importante técnica de diagnóstico, assim como na visualização de *B. canis* em hemácias (Harikrishnan et al. 2005, Miranda et al. 2011, Leal et al. 2012), porém nas infecções crônicas ou de baixa parasitemia o diagnóstico citológico de sangue periférico não é totalmente confiável, sendo indicado para esses casos aspirados de medula óssea ou esplênico (Moreira et al. 2005). Não sendo observados os parasitos em estiraços de sangue, o diagnóstico sorológico não deve ser descartado (Tenório et al. 2007, Nakaghi et al. 2008, Miranda et al. 2011), assim como nas fases, subclínica e crônica da doença, utiliza-se como apoio no diagnóstico o nPCR para o diagnóstico na fase aguda e, especialmente, na identificação da espécie envolvida (Nakaghi et al. 2008).

Diante da importância dessas enfermidades na clínica de cães, este trabalho teve como objetivo verificar a frequência com que esses hemoprotozoários são observados em cães urbanos na cidade do Rio de Janeiro que tenham acompanhamento de rotina assistido por médico veterinário.

MATERIAIS E MÉTODOS

Área de estudo

O estudo foi realizado na cidade do Rio de Janeiro, estado do Rio de Janeiro, Brasil. A cidade está localizada na região sudeste, litoral, ao nível do mar, com 1.197,46 km², com uma população de cerca de 6,320 milhões habitantes. O clima do Rio de Janeiro é tropical atlântico e a média anual das temperaturas é de 23,8 °C, com média anual das temperaturas médias máximas mensais é 27,3°C, e das mínimas mensais, 21°C. Por se tratar de uma cidade litorânea, o efeito da maritimidade é bastante perceptível, traduzindo-se em amplitudes térmicas relativamente baixas. Os verões são marcados por dias quentes e úmidos, eventualmente suplantando a barreira dos 40°C em pontos isolados, enquanto os invernos apresentam-se amenos e com regime de chuvas mais restrito, com mínimas raramente inferiores a 10°C. De modo geral, o ano pode ser dividido em duas estações: uma quente e relativamente chuvosa, e outra de tempe-

raturas amenas; desta forma, primavera e outono agregam-se às características das demais, tratando-se mais de intervalos de transição do que estações propriamente definidas. Devido à altíssima concentração de edifícios nas regiões urbanas centrais, é comum o surgimento de ilhas de calor com temperaturas acima de 40°C nos meses mais quentes do ano. Nessas áreas e em outras, é possível verificar disparidades de alguns graus Celsius com relação às zonas costeiras, em razão das brisas marítimas.

Cães examinados

O estudo foi conduzido de fevereiro a julho de 2014. Total de 204 cães atendido pelo serviço médico veterinário do Centro de Terapia Intensiva e Emergência Veterinária, Barra da Tijuca, Rio de Janeiro, RJ. Conforme a necessidade de exames laboratoriais para o diagnóstico ou apenas como exames de avaliação (*check-up*). As amostras de sangue foram coletadas em seringa descartável, com agulha 25x7mm, 2 a 3 mL, conforme volume total das coletas foram acondicionadas em tubo de ensaio pediátrico com o anticoagulante ácido etilendiaminotetracético (EDTA), utilizando-se o material da própria seringa para confecção de dois estiraços sanguíneos, assim como a confecção de dois estirões de concentrado de plaquetas e leucócitos em lâminas de vidro após a separação dos elementos figurados e plasma através da confecção de microhematócrito da amostra sem ocorrer armazenamento em refrigeração, em seguida, disposto em microcentrífuga (Centrífuga Micro-Hematócrito E3500108 MICROSPIN CDR, Rua Japão, 150, Bairro Sorocabano, Jaboticabal, SP). As amostras de sangue foram processadas, com a utilização de aparelho automático (Ms4-Vet-Melet Schloesing Laboratoires coulter) para leucometria, plaquetograma e eritrograma, para mensuração da proteína plasmática total foi utilizado um refratômetro clínico manual modelo Q667 (Quimis Aparelhos Científicos).

Coloração e observação das amostras

As lâminas dos estiraços e concentrados de leucócitos e plaquetas foram corados utilizando conjunto para coloração rápida em hematologia (Panótico Rápido LB-Laborclin produtos para laboratórios Ltda, Rua Casemiro de Abreu, 521 Pinhais, PR), obedeceram à mesma técnica de fixação, desidratação e coloração, observados em microscópio binocular (Eclipse E200, Nikon Instruments Inc. Japão) para avaliação da morfologia dos elementos figurados do sangue e presença de hematozoários.

Identificação e diagnóstico

Os parasitos foram classificados conforme as células ou elementos figurados do sangue parasitado, coloração e morfologia.

Babesia canis vogeli e *M. canis* quando observadas em eritrócitos, sob as formas de merozoítos e na forma de cocos, respectivamente ou, ainda, assumindo características amórficas ou amebóides que correspondem a diferentes fases do processo de divisão, corados pelo panótico, apresentam citoplasma azulado e o núcleo rosa

para os merozoítos das espécies de *Babesia* (Duh et al. 2004, Kemming et al. 2004).

Anaplasma platys e as espécies de *Ehrlichia* quando observadas em plaquetas e células mononucleares respectivamente, obedecem à morfologia e a coloração, características de cada espécie. Quando coradas pelo Panótico foram consideradas positivas (Sainz et al. 2015).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 204 cães examinados, 58 tiveram anemia e 29 trombocitopenia, 51 leucocitose e 20 com leucopenia, 42 com hiperproteinemia e 15 com hipoproteinemia. Nenhuma das alterações hematológicas observadas tinha correlação positiva com os cães positivos por infecção natural. Destes, 132 cães foram positivos para um, ou mais hematozoários caracterizando como infecções múltiplas por diferentes hematozoários, totalizando 64,70% das amostras positivas (Tabela 1). Os resultados aqui observados foram superiores aos encontrados por Mudin et al. (2008), Scherer & Mergener (2014) e Sila et al. (2014), que obtiveram 33,96%, 2,15%, 25,31% e 27,6% respectivamente dos resultados de observação. As diferenças encontradas podem ser explicadas pelo fato de que no presente estudo a observação dos hemoparasitos foi feita em estiraços e concentrados de leucócitos e plaquetas (Otranto et al. 2011, Leal et al. 2012) e pelo não contato da amostra de sangue com o EDTA e o não armazenamento destas amostras em refrigeração, o que favorece a visualização desses agentes etiológicos (Ettinger & Feldman 1997, Thrall 2007, Leal et al. 2012). Além disso, a presença de anemia foi constante nos cães positivos para hematozoários em infecções naturais no presente estudo.

A observação de apenas dois pacientes (1%) com mórulas de *E. canis* (Figura 1a) em células mononucleares (monócitos), como resultado observado

Tabela 1. Distribuição dos hemoparasitos e suas associações encontradas através de estiraços de sangue, concentrados de plaquetas e leucócitos de cães examinados em serviço de saúde animal na Barra da Tijuca, Rio de Janeiro, RJ.

Agentes etiológicos observados	Número de casos	
	Absolutos	Relativos
<i>Anaplasma platys</i>	64	48,50
<i>Mycoplasma canis</i>	16	12,20
<i>Babesia canis vogeli</i>	7	5,30
<i>Anaplasma platys</i> + <i>Ehrlichia canis</i>	01	0,70
<i>A. platys</i> + <i>M. canis</i>	36	27,30
<i>E. canis</i> + <i>M. canis</i>	01	0,70
<i>B. c. vogeli</i> spp + <i>M. canis</i>	05	3,80
<i>A. platys</i> + <i>B. c. vogeli.</i> + <i>M. canis</i>	02	1,50
Positivo	132	64,70
Negativo	72	35,29
Totais	204	100

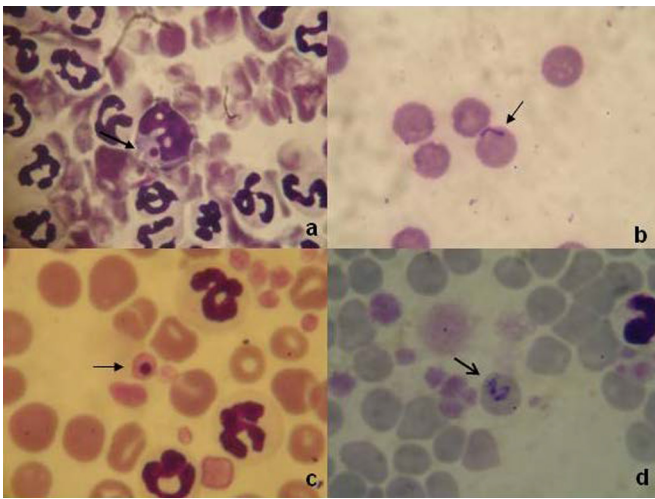


Figura 1. Hematozoários observados em estiraços de Sangue de cães atendidos em serviço de saúde animal na Barra da Tijuca, RJ: Monócito com mórula de *Ehrlichia canis* (a); eritrócito com *Mycoplasma canis* (b); plaqueta com mórula de *Anaplasma platys* (c); eritrócito com merozoítos de *Babesia canis vogeli* (d). Panoptico Rápido. Obj. 100X

neste trabalho (Tabela 1), foi inferior ao assinalado por Macieira et al. (2005), Aguiar et al. (2007), Ueno et al. (2009), Santos et al. (2009), Silva et al. (2012), Costa et al. (2015) e Rotondano et al. (2015) que encontraram 32,1%, 37,9%, 40%, 46,7%, 16,4%, 14,6%, 4%, respectivamente para o referido agente etiológico, sendo justificado pelo grupo de animais avaliados por terem sinais clínicos compatíveis com a erliquiose, principalmente trombocitopenia (Macieira et al. 2005, Greene 2006, Leal et al. 2012, Silva et al. 2012, Rotondano et al. 2015), e os mesmos estarem parasitados pelo vetor e serem errantes (Aguiar et al. 2007, Costa et al. 2015, Rotondano et al. 2015), o que não foi observado no presente estudo; no entanto, o diagnóstico de erliquiose canina através de exame citoscópico de sangue periférico pode ser subestimado (Mylonakis et al. 2003).

Valle et al. (2014) relataram ter encontrado *M. canis* (Figura 1b) em 17 cães (5,1%) que procuraram atendimento médico veterinário, assim como os observados por Alves et al. (2014) de 1,9% que utilizaram a PCR, percentuais esses, inferiores ao verificado no presente estudo (Tabela 1), onde foram observados 16 (12,2%) cães positivos para o referido agente etiológico, porém inferiores aos resultados observados por Kemming et al. (2004), concordando que esse patógeno transmitido por vetores hematófagos são comuns em cães (Hii et al. 2015). No presente estudo os estiraços foram preparados imediatamente após a coleta do sangue, com material proveniente da seringa sem qualquer contato prévio com EDTA, método esse que permitiu manter a integridade celular (Thrall 2007), auxiliando

na visualização dos parasitos; justificando assim, o elevado número de animais positivos. Considerando que outras doenças transmitidas por vetores é fator de risco para a micoplasmose (Valle et al. 2014).

A Anaplasmosse por *A. Platys* (Figura 1c), aparece com índice superior aos verificados em 19,4% (49/256) por Silva et al. (2012), estudos esses que não utilizaram os concentrados de plaquetas e leucócitos para a pesquisa dos referidos parasitos, o que explicaria as diferenças nos resultados observados. Nos 14 animais (6,86%) apenas a presença de formas de *B. c. vogeli* parasitando eritrócitos, obedecendo as características morfológicas observadas também em Duarte et al. (2008), Jojima et al. (2008) e Leal et al. (2012), resultado esse inferior ao diagnóstico através do PCR com 10 cães (10%). Apesar do diagnóstico pela observação dos merozoítos em eritrócitos ter sido de apenas 2% (Rotondano et al. 2015), inferior ao observado no presente trabalho (Tabela 1), indicando que a análise da capa leucocitária influenciou no resultado observado, visto que é uma opção que oferece sensibilidade de 85,7% (Otranto et al. 2011), por métodos sorológicos e moleculares foi observado em 16,1% (52/322) dos animais, esse resultado pode estar relacionado aos animais da região e ao grupo de animais estudados, frequentemente infestados por carrapatos (Costa et al. 2015) e em 311 cães no município de Seropédica, RJ, por Vilela et al. (2013) que constataram a presença do referido agente etiológico em 37 cães (11,9%) e, em 66 cães (23,4%) com diagnóstico citoscópico, confirmado pelo PCR, porém nesse estudo os cães tiveram um ou mais alterações laboratoriais compatíveis com o hematozoário em questão (Jojima et al. 2008), justificando assim, a divergência observada em virtude do grupo de animais avaliados. No presente estudo, os cães recebiam atendimento veterinário de rotina e profilaxia contra o vetor da babesiose canina. Além de residirem em meio totalmente urbano e domiciliado, apesar da presença constante do vetor, bastante adaptado ao meio urbano o que caracteriza esta doença como endêmica no Brasil (Passos et al. 2005, Dantas-Torres & Figueredo 2006, Dantas-Torres 2010), o que poderia ter influência da avaliação citoscópica do estiraço sanguíneo, subestimando o resultado (Kanta et al. 2015).

No presente estudo foram observadas várias associações parasitárias (Tabela 1). Portadores de erliquiose também podem estar parasitados por outros hemoparasitos (Dagnone et al. 2001, Shaw et al. 2001, Moreira et al. 2003, Mendonça et al. 2005,

Leal et al. 2012, Al Izzi et al. 2013, Wei et al. 2014, Sainz et al. 2015) dificultando com isso, a suspeita clínica das infecções concomitantes (Ewing & Buckner 1965, Al Izzi et al. 2013). Os resultados encontrados e o elevado número de cães portadores foram explicados pela capacidade do mesmo vetor ser competente para disseminar vários hemoparasitos, muitas das vezes encontrados simultaneamente (Shaw et al. 2001, Ndip et al. 2007, Sainz et al. 2015). A associação de *A. platys* e *E. canis* foi observada em apenas um cão (0,7%) na presente avaliação, inferior aos resultados observados, onde 5,47% (14/256) dos animais tiveram co-infecção, provavelmente devido ao estudo se restringir a cães com sinais laboratoriais compatíveis com a presença dos parasitos (Silva et al. 2012) e superior aos observados quando se utilizou a punção de capilares superficiais da face interna do pavilhão auricular (Silva et al. 2014), provavelmente devido a não utilização da observação do concentrado de elementos figurados do sangue (Thrall 2007, Otranto et al. 2011, Leal et al. 2012). A co-infecção de *A. platys*, *B. c. vogeli* (Figura 1d) e *M. canis* foi observada em dois cães (1,50%), indicando que estas são comuns, porém o seu diagnóstico dependente do método de avaliação (Rani et al. 2011, Al Izzi et al. 2013, Wei et al. 2014). Além disso, há que se considerar a constante exposição dos animais aos diferentes estádios do vetor envolvido na transmissão de hematozoários, o carrapato *R. sanguineus*, vetor que possui boas condições de reprodução em regiões urbanas (Labruna et al. 2001) associados a cães capazes de manter a infecção a longo prazo e podendo servir como reservatórios; permitindo assim, a manutenção na natureza destes parasitos (Starkey et al. 2015) em um manejo inadequado ou, a presença de resistência por parte do vetor aos ectoparasitocitas utilizados (Dantas-Torres 2008, Guerrero et al. 2012). Ainda assim, não se pode descartar a presença de insetos hematófagos, principalmente mosquitos, frequentes em centro urbanos na transmissão de riquetsias entre um animal portador e um cão como pode ser observado em Daddow (1980) quando transmitiu *Mycoplasma ovis* entre ovinos com auxílio do *Culex annulirostris* na Austrália.

Apesar de não ser considerada a citoscopia o melhor método de diagnóstico nos casos de baixa parasitemia e infecções crônicas (Mylonakis et al. 2003, Moreira et al. 2005), o presente estudo trouxe resultados expressivos com base somente na observação de estiraços de sangue e capas leucocitárias, confirmando assim que hemoparasitoses são doenças que assumem importância na clínica médica

veterinária, com o diagnóstico através do estiraço sanguíneo (Albernaz et al. 2007, Miranda et al. 2008, Leal et al. 2012) ou mesmo em associação com outras técnicas diagnósticas de melhor sensibilidade (Otranto et al. 2011).

A preparação dos referidos estiraços com material da própria seringa sem contato prévio com EDTA, imediatamente após a coleta, possibilitou melhor visualização das células, uma vez que, o anticoagulante presente no tubo de coleta altera as características morfológicas celulares (Thrall 2007).

CONCLUSÃO

A alta frequência de hematozoários em infecções naturais em cães que recebem acompanhamento de rotina por médico veterinário em clínica na cidade do Rio de Janeiro foi determinada pela presença nos estiraços sanguíneos de *A. platys* em 48,5% dos casos e co-infecção por *A. platys* e *M. canis* em 27,3% dos casos atendidos, bem como a importância da citoscopia como ferramenta na observação de hemoparasitos, utilizando o estiraço sem contato com EDTA e o concentrado de plaquetas e leucócitos em sangue fresco, sem armazenamento em refrigeração.

REFERÊNCIAS

- Aguiar D.M., Cavalcante G.T., Pinter A., Gennari S.M., Camargo L.M.A. & Labruna M.B. Prevalence of *Ehrlichia canis* (Rickettsiales: Anaplasmataceae) in dogs and *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) ticks from Brazil. *Journal of Medical Entomology*, 44:126-132, 2007.
- Albernaz A.P., Miranda F.J.B., Melo Jr A.O., Machado J.A. & Fajardo H.V. Erliquiose canina em Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro, Brasil. *Ciência Animal Brasileira*, 8:799-806, 2007.
- Al Izzi S., Martin D.S., Chan R.Y. & Leutenegger C.M. *Babesia canis vogeli*, *Ehrlichia canis*, and *Anaplasma platys* infection in a dog. *Veterinary Clinical Pathology*, 42:471-475, 2013.
- Alves T.B., Faggion S.A., Santos E.V., Roberto P.G., França S.C., Fachin A.L. & Marins M. Real-time PCR-based study of haemotrophic mycoplasmas in dogs from Ribeirão Preto, Brazil. *Archives in Medicina Veterinariae*, 46:333-336, 2014.
- Baker D.C., Simpson M., Gaunt S.D. & Corstvet R.E. Acute *Ehrlichia platys* infection in the dog. *Veterinary Pathology Online*, 24:449-453, 1987.
- Birchard S.J. & Sherding R.G. *Clínica de Pequenos Animais (Manual Saunders)*. Editora Roca, São Paulo, 2003. p.1793.
- Breitschwerdt E.B. Riquetsioses, p.422-429. In: Ettinger S.J. & Feldman E.C. (Eds), *Tratado de Medicina Interna Veterinária*. 5ª ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2008.
- Carlos R.S., Muniz N.E.S., Spagnol F.H., Oliveira L.L., Brito R.L.L., Albuquerque G.R. & Andreotti R. Frequência de anticorpos anti-*Ehrlichia canis*, *Borrelia burgdorferi* e antígenos de *Dirofilaria immitis* em cães na microrregião Ilhéus-Itabuna, Bahia, Brasil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 16:117-120, 2007.
- Chalker V.J. Canine mycoplasmas. *Research in Veterinary Science*, 79:1-8, 2005.
- Costa A.P.D., Costa F.B., Labruna M.B., Silveira I., Moraes-Filho J., Soares J.F. & Guerra R.D.M.S.N. A serological and molecular survey of *Babesia vogeli*, *Ehrlichia canis* and *Rickettsia* spp. among dogs in

- the state of Maranhão, northeastern Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 24:28-35, 2015.
- Daddow K.N. *Culex annulirostris* as a vector of *Eperythrozoon ovis* infection in sheep. *Veterinary Parasitology*, 7:313-317, 1980.
- Dagnone A., Morais H.S.A. & Vidotto O. Erliquiose nos animais e no homem. *Semina: Ciências Agrárias*, 22:191-201, 2001.
- Dantas-Torres F. The brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae): from taxonomy to control. *Veterinary Parasitology*, 152:173-185, 2008.
- Dantas-Torres F. Biology and ecology of the brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus*. *Parasites and Vectors*, 3:1-11, 2010.
- Dantas-Torres F. & Figueredo L.A. Canine babesiosis: a Brazilian perspective. *Veterinary Parasitology*, 141:197-203, 2006.
- Duarte S.C., Louly C.C.B., da Silveira Neto O.J., de Azevedo Romanowski T.N., Junior R.D. S.L. & Linhares G.F.C. Diagnóstico parasitológico e molecular da Babesiose canina na cidade de Goiânia-GO. *Revista de Patologia Tropical*, 37:229-236, 2008.
- Duh D., Tozon N., Petrovec M., Strašek K. & Avšič-Županc T. Canine babesiosis in Slovenia: molecular evidence of *Babesia canis canis* and *Babesia canis vogeli*. *Veterinary Research*, 35:363-368, 2004.
- Dumler J.S., Barbet A.F., Bekker C.P., Dasch G.A., Palmer G.H., Ray S.C. & Rurangirwa F.R. Reorganization of genera in the families Rickettsiaceae and Anaplasmataceae in the order Rickettsiales: unification of some species of *Ehrlichia* with *Anaplasma*, *Cowdria* with *Ehrlichia* and *Ehrlichia* with *Neorickettsia*, descriptions of six new species combinations and designation of *Ehrlichia equi* and 'HGE agent' as subjective synonyms of *Ehrlichia phagocytophila*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 51:2145-65, 2001.
- Ewing S.A. & Buckner R.G. Manifestations of babesiosis, ehrlichiosis, and combined infections in the dog. *American Journal of Veterinary Research*, 26:815-828, 1965.
- Ettinger S.J. & Feldman E.C. *Tratado de Medicina Interna Veterinária*. 4ª ed., Manole, São Paulo, 1997, p.546-564.
- Ferreira R.F., Cerqueira A.M.F., Pereira A.M., Guimarães C.M., Sá A.G., Abreu F.S. & Almosny N.P. *Anaplasma platys* diagnosis in dogs: comparison between morphological and molecular tests. *International Journal of Applied Research in Veterinary Medicine*, 5:113, 2007.
- French T.W. & Harvey J.W. Serologic diagnosis of infectious cyclic thrombocytopenia in dogs using an indirect fluorescent antibody test. *American Journal of Veterinary Research*, 44:2407-2411, 1983.
- Greene C.E. *Infectious diseases of the dog and cat*. 3ª ed. Elsevier B.V. Saunders Company, Philadelphia, 2006. 1387p.
- Guerrero F.D., Lovis L. & Martins J.R. Acaricide resistance mechanisms in *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 21:1-6, 2012.
- Harrus S., Aroch I., Lavy E. & Bark H. Clinical manifestation of infectious canine cyclic thrombocytopenia. *Veterinary Record*, 141:247-250, 1997.
- Harvey J., Simpson C.F. & Gaskin J.M. Cyclic thrombocytopenia induced by a Rickettsia-like agent in dogs. *Journal of Infectious Diseases*, 137:182-188, 1978.
- Hii S.F., Traub R.J., Thompson M.F., Henning J., O'Leary C.A., Burleigh A. & Kopp S.R. Canine tick-borne pathogens and associated risk factors in dogs presenting with and without clinical signs consistent with tick-borne diseases in northern Australia. *Australian Veterinary Journal*, 93:58-66, 2015.
- Inokuma H., Raoult D. & Brouqui P. Detection of *Ehrlichia platys* DNA in brown dog ticks (*Rhipicephalus sanguineus*) in Okinawa Island, Japan. *Journal of Clinical Microbiology*, 38:4219-4221, 2000.
- Jojima F.S., Garcia J.L., Vidotto M.C., Balarin M.R.S., Fabretti A.K., Gasparini M.R. & Vidotto O. Ocorrência e caracterização molecular de espécies de *Babesia* em cães de uma população hospitalar da região de Londrina, PR. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 17:277-283, 2008.
- Kanta B., Prabhat C.S., Dipak K.S., Ramgopal L. & Parikshit K. Acute to chronic (cryptic) babesiosis in a dog and its therapeutic management. *International Journal of Recent Scientific Research*, 6:2766-2767, 2015.
- Kemming G.I., Messick J.B., Enders G., Boros M., Lorenz B., Muenzing S., Kisch-Wedel H., Mueller W., Hahmann-Mueller A., Messmer K. & Thein E. *Mycoplasma haemocanis* infection - a kennel disease? *Comparative Medicine*, 54:404-409, 2004.
- Labruna M.B. & Pereira M.C. Carrapatos em cães no Brasil. *Clínica Veterinária*, 30:24-32, 2001.
- Leal P.D.S., Flausino W. & Lopes C.W.G. Diagnóstico de infecções concomitantes por *Neospora caninum*, *Babesia canis* e *Ehrlichia* spp. em canino adulto da raça Golden Retriever - Relato de caso. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 34:47-51, 2012.
- Macieira D.D.B., Messick J.B., Cerqueira A.D.M.F., Freire I.M.A., Linhares G.F.C., Almeida N.K.D.O. & Almosny N.R.P. Prevalence of *Ehrlichia canis* infection in thrombocytopenic dogs from Rio de Janeiro, Brazil. *Veterinary Clinical Pathology*, 34:44-48, 2005.
- Massard C.L. & Fonseca A.H. Carrapatos e doenças transmitidas, comuns ao homem e aos animais. *Hora Veterinária*, 135:15-23, 2004.
- Messick J.B. New perspectives about Hemotrophic mycoplasma (formerly, Haemobartonella and Eperythrozoon species) infections in dogs and cats. *Veterinary Clinics of the North American: Small Animal Practice*, 33:1453-1465, 2003.
- Miranda F.J.B., Albernaz A.P., Melo J.R.O.A. & Machado J.A. Frequência de cães infectados por *Babesia* spp. Campos dos Goytacazes, RJ. *Ciência Animal Brasileira*, 9:238-241, 2008.
- Miranda F.J.B., Albernaz A.P., Viestel M.A.D., Jr O.A.M. & Alves J. Infecção simultânea por *Ehrlichia canis*, *Babesia canis* e vírus da cinomose canina. *Jornal Brasileiro de Ciência Animal*, 3:238-246, 2011.
- Moraes H.A., Almosny N.R.P. & Labarthe N.V. Diretrizes gerais para diagnóstico e manejo de cães infectados por *Ehrlichia* spp. *Clínica Veterinária*, 9:28-30, 2004.
- Moreira S.M., Bastos C.V., Araújo R.B., Santos M. & Passos L.M.F. Retrospective study (1998-2001) on canine ehrlichiosis in Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 55:141-147, 2003.
- Moreira S.M., Machado R.Z. & Passos L.F. Detection of *Ehrlichia canis* in bone marrow aspirates of experimentally infected dogs. *Ciência Rural*, 3:958-960, 2005.
- Mundim E.C.D.S., Francisco M.M.D.S., Souza J.N., Alencar M.A.G. & Ramalho P.C.D. Incidência de hemoparasitoses em cães (*Canis familiares*) de rua capturados pelo Centro de Controle de Zoonoses (CCZ) da cidade de Anápolis-GO. *Ensaio e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde*, 12:107-115, 2008.
- Mylonakis M.E., Koutinas A.F., Billinis C., Leontides L.S., Kontos V., Papadopoulos O. & Fytianou A. Evaluation of cytology in the diagnosis of acute canine monocytic ehrlichiosis (*Ehrlichia canis*): a comparison between five methods. *Veterinary Microbiology*, 91:197-204, 2003.
- Nakaghi A.C.H., Araújo P.G., Costa M.T., André M.R. & Baldani C.D. Erliquiose canina: aspectos clínicos, hematológicos, sorológicos e moleculares, *Ciência Rural*, 38:766-770, 2008.
- Ndip L.M., Ndip R.N., Ndivé V.E., Awuh J.A., Walker D.H. & McBride J.W. *Ehrlichia* species in *Rhipicephalus sanguineus* ticks in Cameroon. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 7:221-227, 2007.
- Neer T.M., Breitschwerdt E.B., Greene R.T. & Lappin M.R. Consensus statement on ehrlichial disease of small animals from the Infectious Disease Study Group of the ACVIM. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 16:309-315, 2002.
- Oriá A.P., Pereira P.M. & Laus J.L. Uveitis in dogs infected with *Ehrlichia canis*. *Ciência Rural*, 34:1289-1295, 2004.
- Otranto D., Dantas-Torres F., Weigl S., Latrofa M.S., Stanneck D., Decapriariis D. & Baneth G. Diagnosis of *Hepatozoon canis* in young dogs by cytology and PCR. *Parasite and Vectors*, 4:55, 2011.
- Passos L.M.F., Geiger S.M., Ribeiro M.F.B., Pfister K. & Zahler-Rinder M. First molecular detection of *Babesia vogeli* in dogs from Brazil. *Veterinary Parasitology*, 127: 81-85, 2005.
- Rani P.A., Irwin P.J., Coleman G.T., Gatne M. & Traub R.J. A survey of canine tick-borne diseases in India. *Parasites and Vectors*, 4:141, 2011.
- Regendanz P. & Muniz J.O. *Rhipicephalus sanguineus* como transmissor da piroplasmose canina no Brasil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 31: 81-84, 1936.

- Rotondano T.E.D.F., Almeida H.K.A., Krawczak F.D.S., Santana V.L., Vidal I.F., Labruna M.B. & Melo M.A.D. Survey of *Ehrlichia canis*, *Babesia* spp. and *Hepatozoon* spp. in dogs from a semiarid region of Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 24:52-58, 2015.
- Sainz Á., Roura X., Miró G., Estrada-Peña A., Kohn B., Harrus S., & Solano-Gallego L. Guideline for veterinary practitioners on canine ehrlichiosis and anaplasmosis in Europe. *Parasites and Vectors*, 8:75, 2015.
- Santos F., Coppede J.S., Pereira A.L., Oliveira L.P., Roberto P.G., Benediti R.B. & Marins M. Molecular evaluation of the incidence of *Ehrlichia canis*, *Anaplasma platys* and *Babesia* spp. in dogs from Ribeirão Preto, Brazil. *Veterinary Journal*, 179:145-148, 2009.
- Santos H.A., Pires M.S., Vilela J.A., Santos T.M., Faccini J.L.H., Baldani C.D. & Massard C.L. Detection of *Anaplasma phagocytophilum* in Brazilian dogs by real-time polymerase chain reaction. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 23:770-774, 2011.
- Sasaki M., Ohta K., Matsuu A., Hirata H., Ikadaï H. & Oyamada T. A molecular survey of *Mycoplasma haemocanis* in dogs and foxes in Aomori Prefecture. *Japan Journal of Protozoology Research*, 18:57-60, 2008.
- Scherer M. & Mergener M. Prevalência de hemocitozoários em caninos de municípios do Vale do Taquari com foco em Lajeado-RS. *Destques acadêmicos*, 6: 3, 2014.
- Shaw S.E., Day M.J., Birtles R.J. & Breitschwerdt E.B. Tick-borne infectious diseases of dogs. *Trends in Parasitology*, 17:74-80, 2001.
- Silva G.C.F.D., Benitez A.D.N., Giroto A., Taroda A., Vidotto M.C., Garcia J.L. & Vidotto O. Occurrence of *Ehrlichia canis* and *Anaplasma platys* in household dogs from northern Parana. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 21:379-385, 2012.
- Silva M.C.A., Mundim A.V., Mendonça G.A., Mundim M.J.S. & Guimarães E.C. Hemoparasitos em cães domésticos naturalmente infectados, provenientes das zonas urbana e rural do município de Abadia dos Dourados, Minas Gerais, Brasil= Hemoparasites in domestic naturally infected dogs, from urban and rural areas. *Bio-science Journal*, 30(sup.2):892-900, 2014.
- Silveira J.A., Valente P.C., Paes P.R., Vasconcelos A.V., Silvestre B.T. & Ribeiro M.F. The first clinical and laboratory evidence of coinfection by *Anaplasma phagocytophilum* and *Ehrlichia canis* in a Brazilian dog. *Ticks and tick-borne diseases*, 6:242-245, 2015.
- Simpson R.M., Gaunt S.D., Hair J.A., Kocan K.M., Henk W.G. & Casey H.W. Evaluation of *Rhipicephalus sanguineus* as a potential biologic vector of *Ehrlichia platys*. *American Journal of Veterinary Research*, 52:1537-1541, 1991.
- Starkey L.A., Barrett A.W., Beall M.J., Chandrashekar R., Thatcher B., Tyrrell P. & Little S.E. Persistent *Ehrlichia ewingii* infection in dogs after natural tick infestation. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 29:552-555, 2015.
- Tenório A.P.M. *Ehrlichia* sp. em mielócito de cão. *Medicina Veterinária*, 1:62-65, 2007.
- Thrall M.A. *Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária*, 1ª ed. Roca, São Paulo, p.37-42.
- Ueno T.E., Aguiar D.M., Pacheco R.C., Richtzenhain L.J., Ribeiro M.G., Paes A.C. & Labruna M.B. *Ehrlichia canis* em cães atendidos em hospital veterinário de Botucatu, Estado de São Paulo, Brasil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 18:57-61, 2009.
- Wei L., Kelly P., Ackerson K., El-Mahallawy H.S., Kaltenboeck B. & Wang C. Molecular detection of *Dirofilaria immitis*, *Hepatozoon canis*, *Babesia* spp., *Anaplasma platys* and *Ehrlichia canis* in dogs on Costa Rica. *Acta Parasitologica*, 60:21-25, 2014.
- Valle S.F., Messick J.B., dos Santos A.P., Kreutz L.C., Duda N.C.B., Machado G. & González F.H.D. Identification, occurrence and clinical findings of canine hemoplasmas in southern Brazil. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 37:259-265, 2014.
- Vilela J.A.R., Pires M.S., da Silva C.B., Peixoto M.P., Falqueto A., Santos H.A. & Faccini J.L.H. Alterações clínico-hematológicas da infecção por *Babesia canis vogeli* em cães do município de Seropédica, Rio de Janeiro, Brasil. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 35:63-68, 2013.
- Zobba R., Anfossi A.G., Visco S., Sotgiu F., Dedola C., Parpaglia M.P. & Alberti A. Cell tropism and molecular epidemiology of *Anaplasma platys*-like strains in cats. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 6: 272-280, 2015.