

# ALTERAÇÕES CLÍNICO-HEMATOLÓGICAS DA INFECÇÃO POR *Babesia canis vogeli* EM CÃES DO MUNICÍPIO DE SEROPÉDICA, RIO DE JANEIRO, BRASIL\*

Joice Aparecida Rezende Vilela<sup>1+</sup>, Marcus Sandes Pires<sup>1</sup>, Claudia Bezerra da Silva<sup>2</sup>, Maristela Peckle Peixoto<sup>2</sup>, Aline Falqueto<sup>2</sup>, Huarrisson Azevedo Santos<sup>3</sup>, Argemiro Sanavria<sup>3</sup>, Carlos Luiz Massard<sup>4</sup> e João Luiz Horacio Faccini<sup>4</sup>

**ABSTRACT.** Vilela J.A.R., Pires M.S., da Silva C.B., Peixoto M.P., Falqueto A., Santos H.A., Sanavria A., Massard C.L. & Faccini J.L.H. [Clinical-hematological changes due to *Babesia canis vogeli* infection in dogs from Seropédica, Rio de Janeiro, Brazil]. Alterações clínico-hematológicas da infecção por *Babesia canis vogeli* em cães do município de Seropédica, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 35(1):63-68, 2013. Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Campus Seropédica, BR 465, Km 07, Seropédica, RJ 23897-970, Brasil. E-mail: joicevet@yahoo.com.br

The Canine babesiosis is a disease caused by hemoparasite protozoa of the genus *Babesia* spp., distributed worldwide, and transmitted by Ixodidae ticks. This study aimed to determine the clinical and hematological aspects in dogs from Seropédica, RJ, with babesiosis diagnosed by real time PCR and RFLP. Were collected blood samples of 311 dogs. The diagnosis revealed the frequency of 11.90% (n=37/311) and the subspecies was identified as *Babesia canis vogeli*. The clinical parameters showed no association in the infection. As for hematological parameters were observed normocytic normochromic anemia, hemoglobinemia and thrombocytopenia (P<0.05), being signs common in babesiosis caused by *B. c. vogeli*. The results showed that *B. c. vogeli* affects dogs of this region with considerable frequency, and should be considered as an important pathogen, which is underdiagnosed, mainly due to complications in coinfections and for clinical signs common to other diseases.

KEY WORDS. PCR, *Babesia* spp., clinical, hematology.

**RESUMO.** A babesiose canina é uma hemoparasitose causada por protozoários do gênero *Babesia* spp., mundialmente distribuída, e transmitida por carrapatos Ixodidae. O presente trabalho objetivou determinar os aspectos clínico-hematológicos de cães do município de Seropédica, RJ, com babesiose diagnosticada pela PCR em tempo real e RFLP. Foram coletadas 311 amostras sanguíneas de cães.

O diagnóstico revelou uma frequência de 11,90% (n=37/311) e a subespécie identificada foi *Babesia canis vogeli*. Os parâmetros clínicos avaliados não apresentaram associação com a infecção. Quanto aos parâmetros hematológicos, foram observados anemia normocítica normocrômica, hemoglobi-nemia e trombocitopenia (P<0,05), os quais apresentaram associação estatística, sendo sinais co-

\*Recebido em 18 de março de 2012.

Aceito para publicação em 8 de fevereiro de 2013.

<sup>1</sup> Médico-veterinário, MSc. Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias (CPGCV), Instituto de Veterinária (IV), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), BR 465, Km 7, Seropédica, RJ 23897-970, Brasil. E-mails: marcussandes@yahoo.com.br; <sup>+</sup>Autor para correspondência. E-mail: joicevet@yahoo.com.br - bolsistas CAPES.

<sup>2</sup> Médico-veterinário, CPGCV, IV, UFRRJ, BR 465, Km 7, Seropédica, RJ 23897-970, Brasil. E-mails: claudia\_ufrj@yahoo.com.br; maristelapecckle@yahoo.com.br; alinevet2005@yahoo.com.br- bolsistas CAPES e CNPq.

<sup>3</sup> Médico-veterinário, DSc. Departamento de Epidemiologia e Saúde Pública, IV, UFRRJ, BR 465, Km 7, Seropédica, RJ 23897-970. E-mails: huarrisson@yahoo.com.br; sanavria@ufrj.br

<sup>4</sup> Médico-veterinário, DSc. Departamento de Parasitologia Veterinária, IV, UFRRJ, BR 465, Km 7, Seropédica, RJ 23897-970. E-mails: carlosmassard@ufrj.br; faccinijlh@ufrj.br

muns em babesiose por *B. c. vogeli*. Os resultados demonstraram que *B. c. vogeli* acomete cães desta região com frequência considerável, e deve ser considerado como um importante patógeno, que é subdiagnosticado, principalmente por complicações em coinfeções e por ter sinais clínicos comuns a outras doenças, ressaltando a importância do diagnóstico para um tratamento clínico adequado.

PALAVRAS-CHAVE. PCR, *Babesia* spp., clínica, hematologia.

## INTRODUÇÃO

Entre as doenças transmitidas por carrapatos em cães a babesiose destaca-se por sua distribuição mundial (Sá et al. 2006), sendo causada por *Babesia canis* (subespécies *B. canis canis*, *B. c. vogeli* e *B. c. rossi*) e *Babesia gibsoni*. No Brasil, destaca-se *B. canis*, sendo *B. c. vogeli* a principal subespécie que acomete os cães (Vidotto & Trapp 2004), porém, *B. gibsoni* já foi isolada no Brasil (Trapp et al. 2006). A doença é de importância veterinária (Dantas-Torres 2008) e está associada à alta incidência do vetor *Rhipicephalus sanguineus* (Labruna 2004).

No Brasil, a forma subclínica é predominante nos cães com babesiose (Vidotto & Trapp 2004) e tem importância relevante na manutenção dessa enfermidade, já que esses animais geralmente apresentam-se normais ao exame físico (Maia 2005). Os cães exibem, em sua maioria, sinais clínicos inespecíficos como: anemia hemolítica, hipertermia, icterícia, anorexia, depressão, vômito, diarreia, hemoglobinúria e hepatoesplenomegalia (Almosny 2002). Portanto, cães doentes com histórico de exposição a vetores devem ser submetidos a exames que confirmem o agente etiológico (De Caprariis et al. 2010).

Estudos em diferentes regiões do Brasil têm demonstrado grande diversidade de alterações hematológicas decorrentes da babesiose canina. Dentre as alterações, as de maior frequência são: anemia normocítica normocrômica, policromasia, anisocitose, leucocitose por neutrofilia, monocitose, linfopenia e trombocitopenia (Guimarães et al. 2004).

Tendo em vista a ampla distribuição da babesiose canina no Brasil, a falta de diagnóstico e o tratamento incorreto, principalmente em coinfeções com outros patógenos e desconhecimento sobre a subespécie que ocorre na microrregião de Itaguaí, RJ, impulsionou realizar o diagnóstico molecular de subespécies de *B. canis* e correlacioná-lo às alterações clínico-hematológicas mais frequentes em cães desta microrregião.

## MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado no município de Seropédica, Estado do Rio de Janeiro, Brasil, realizando-se amostragem por conveniência não probabilística. A prevalência esperada utilizada para o cálculo foi de 40%, com margem de erro de 6%, resultando em amostra mínima de 256 cães. Foram coletados 5 mL de sangue em tubo com anticoagulante EDTA (ácido etileno diamino tetraacético) de 311 cães, através de venopunção cefálica. As amostras foram identificadas, conservadas e enviadas ao Laboratório de Hemoparasitos e Vetores da Estação Experimental para Pesquisas Parasitológicas W. O. Neitz, Departamento de Parasitologia Animal, Instituto de Veterinária, UFRRJ, Campus Seropédica, RJ, para serem submetidas às análises.

A anamnese e os aspectos clínicos como: comportamento do animal, hidratação, coloração de mucosas oral e ocular, distúrbios de coagulação atuais e progressos, perfusão capilar, escore corporal, temperatura retal, ausculta cardíaca e ausculta pulmonar foram realizados em cada animal antes da coleta de sangue.

As amostras de sangue foram submetidas à análise hematológica utilizando-se contador automático de células (ABC VET, Horiba ABX). A contagem diferencial de células brancas foi realizada por microscopia óptica, através da análise de esfregaços sanguíneos. Os sólidos totais foram determinados através de refratometria. Aliquotas de sangue foram acondicionadas em microtubos mantidos a -20°C até a realização da extração de DNA.

A extração do DNA foi realizada a partir de 200µL de sangue total através do kit Wizard Genomic DNA Purification (Promega®, Madison, WI, USA) de acordo com as recomendações do fabricante. As amostras de DNA foram submetidas à SYBR Green PCR em tempo real para a amplificação de um fragmento específico de aproximadamente 71 pb do gene 18S rRNA das espécies do gênero *Babesia*. Para esta análise, utilizaram-se os oligonucleotídeos iniciadores *Babesia* Real-F (5'-CTTTGACCGCGTTTATTAGTTTG-3') e *Babesia* Real-R (5'-TGCGATTCGCCAGTTTATTATG-3) (Lisbôa 2010). Foram consideradas positivas amostras com limiar de detecção ( $C_T$ ) inferior a 35 ciclos. As amostras positivas na PCR em tempo real foram novamente submetidas a amplificação com os oligonucleotídeos iniciadores PIRO-A 5'-AGGGAGCCTGAGAGACGGCTACC-3' e PIRO-B 5'-TTA AATACGAATGCCCCAAC-3' (Földvári et al.

2005) que amplificam 450pb. As amostras positivas amplificadas na PCR (os produtos da PCR) foram submetidas à restrição, utilizando-se as enzimas de restrição *Hinf*I e *Taq* I (Promega Corporation®, Madison, EUA), conforme recomendações do fabricante para distinção das subespécies de *B. canis* de acordo com o perfil de digestão (Carret et al. 1999). Os produtos digeridos foram visualizados em gel de agarose a 3% corado com brometo de etídio.

As frequências de cães com alterações clínicas e hematológicas dentre os animais positivos e negativos para *B. canis* foram comparadas através do teste Qui-quadrado ou pelo teste exato de Fisher em nível de 5% de significância. Os valores médios dos parâmetros hematológicos dos cães positivos e negativos, com distribuição normal dos dados, foram submetidos à análise de variância e comparados pelo teste F, em nível de 5% de significância. Quando estes dados não apresentaram distribuição normal, foi utilizado o teste Mann Whitney, a 5% de significância. As análises estatísticas foram realizadas através do programa BioEstat 5.0 (Ayres et al. 2007).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Do total de 311 cães avaliados no município, 11,90% (n=37) foram positivos para *B. canis*, através da PCR em tempo real. A partir da análise de restrição do fragmento amplificado pela PCR das amostras positivas, pôde-se diagnosticar a subespécie *B. c. vogeli* (Carret et al. 1999). Este achado está de acordo com os resultados de Passos et al. (2005) ao diagnosticar a mesma subespécie no território nacional.

Em relação aos aspectos clínicos observados, não se evidenciou diferença significativa entre os sinais característicos da doença entre os cães positivos e os negativos na PCR. Apesar de alguns cães positivos apresentarem febre (n=5/37), apatia (n=2/37) e mucosas hipocoradas (n=7/37), não houve diferença significativa (P>0,05) frente ao percentual de cães negativos com estes mesmos achados clínicos. Este resultado pode estar relacionado a outras coinfeções nos animais avaliados, principalmente no grupo de cães negativos para *B. canis*, o que acarretaria alterações clínicas nestes animais, mas não em virtude da infecção por este hemoparasito. Os aspectos clínicos comumente verificados na babesiose canina incluem febre, anorexia, depressão, oligúria, hemoglobinúria, vômito, letargia, desidratação, icterícia, mucosas pálidas, esplenomegalia e dispnéia

(Irwin 2009). Apesar de a maioria destes sinais não terem sido evidenciados nos animais positivos, é importante destacar que a doença pode apresentar-se de forma subclínica, justificando, portanto, a ausência de sinais clínicos nos cães infectados. Vale destacar também que a ausência de sinais clínicos nos cães infectados pode estar associada com a subespécie de *B. canis* envolvida na infecção (Caccio et al. 2002). Tem sido observado que as subespécies *B. c. canis* e *B. c. vogeli* possuem de baixa a moderada patogenicidade, com animais apresentando parasitemia transiente e infecção inaparente (Schetters et al. 1997).

Manifestações hematológicas nos casos de babesiose causada por *B. canis* incluem anemia hemolítica e trombocitopenia, sendo os parasitas raramente vistos no sangue periférico de animais com a infecção subclínica (Weiss & Wardrop 2010). No presente estudo, observou-se que os cães infectados (n=37) apresentaram valores médios de número de eritrócitos, hematócrito e concentração de hemoglobina inferior em relação aos cães negativos, sendo observado também um quadro de anemia leve, com valores médios abaixo dos valores de referência (Tabela 1). Esta anemia é confirmada ao observar que a frequência de cães com o número de eritrócitos diminuído, o hematócrito baixo e a concentração de hemoglobina diminuída foi maior (P<0,005) dentre os cães infectados (Figura 1). Estes achados corroboram os de Furlanello et al. (2005), que demonstraram em infecções naturais por *B. canis*, a ocorrência de anemia, de leve à moderada. Contudo, Zygnier et al. (2007) observaram que o quadro de anemia esteve presente em uma minoria de cães diagnosticados com babesiose, o que pode estar intimamente relacionado a subespécie de *Babesia canis* envolvida na infecção (Reyers et al. 1998).

Em relação ao número de plaquetas, tanto a média dos animais positivos, quanto a frequência de cães neste grupo avaliado (81,1%, n=30/37) apresentaram o mesmo comportamento hematológico de diminuição, sendo estatisticamente diferentes do grupo negativo (P<0,05). Os resultados da presente avaliação corroboram as afirmações referentes à ocorrência de trombocitopenia em cães com babesiose (Guimarães et al. 2004, Furlanello et al. 2005).

A alteração da homeostasia pode ocorrer devido a uma resposta de fase aguda e dano endotelial induzido pela hemólise, bem como a interação de eritrócitos parasitados com as células endoteliais (Schetters et al. 2009). Apesar da alta frequência

Tabela 1. Eritrograma e sólidos totais de cães positivos na PCR em tempo real para *Babesia canis* em cães do município de Seropédica, Rio de Janeiro.

Parâmetros	Resultado	N	Média	DP	EP	Valores limites		Valores Referenciais**
						Mín.	Máx.	
He (x10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup> ) <sup>*</sup>	Positivo	37	4,97 <sup>a</sup>	1,12	0,18	3,10	7,90	5,50 - 8,50
	Negativo	274	5,69 <sup>b</sup>	1,50	0,09	1,00	10,00	
HB (g/dL) <sup>*</sup>	Positivo	37	11,43 <sup>a</sup>	2,74	0,45	7,50	18,10	12,00 - 18,00
	Negativo	274	12,92 <sup>b</sup>	3,43	0,21	2,90	25,00	
HT (%) <sup>*</sup>	Positivo	37	31,20 <sup>a</sup>	8,09	1,33	17,80	54,80	37,00 - 55,00
	Negativo	274	36,23 <sup>b</sup>	10,41	0,63	7,80	70,00	
VCM (fm <sup>3</sup> )	Positivo	37	62,59 <sup>a</sup>	4,85	0,80	50,00	71,00	60 - 77
	Negativo	274	63,37 <sup>a</sup>	5,33	0,32	43,00	80,00	
HCM (pg)	Positivo	37	23,02 <sup>a</sup>	1,49	0,25	20,10	26,80	22,00 - 27,00
	Negativo	274	22,75 <sup>a</sup>	2,85	0,17	7,00	29,90	
CHCM (g/dL)	Positivo	37	36,95 <sup>a</sup>	3,32	0,55	31,50	46,20	32,00 - 36,00
	Negativo	274	35,95 <sup>a</sup>	4,12	0,25	11,80	43,00	
ADH (%)	Positivo	37	16,01 <sup>a</sup>	1,62	0,27	13,20	19,60	14,00 - 17,00
	Negativo	274	15,84 <sup>a</sup>	1,88	0,11	4,90	22,00	
PLAQ (x10 <sup>3</sup> / mm <sup>3</sup> )	Positivo	37	142,03 <sup>a</sup>	95,54	15,71	22,00	438,00	200 - 500
	Negativo	274	204,82 <sup>b</sup>	132,74	8,02	15,00	900,00	
MPV (fm <sup>3</sup> )	Positivo	37	10,00 <sup>a</sup>	1,79	0,29	7,80	17,40	6,70 - 11,10
	Negativo	274	9,77 <sup>a</sup>	1,64	0,10	3,10	16,70	
Sólidos Totais (g/dL)	Positivo	37	7,64 <sup>a</sup>	1,24	0,20	5,40	10,40	6,00 - 8,00
	Negativo	274	7,92 <sup>a</sup>	1,24	0,07	4,40	12,00	

\*Valores seguidos de mesma letra, na mesma coluna, não diferem significativamente através do teste F a 5% de significância (p<0,05). <sup>a</sup>Valores seguidos de mesma letra, na mesma coluna, não diferem significativamente através do teste de Mann-Whitney a 5% de significância (p<0,05). HE: hemácias; HB: hemoglobina; HT: hematócrito; VCM: volume corpuscular médio; HCM: hemoglobina corpuscular média; CHCM: concentração de hemoglobina corpuscular média; ADH: amplitude de distribuição das hemácias; PLAQ: plaquetas; MPV: volume plaquetário médio; N: número de cães; DP: desvio padrão; EP: erro padrão. Mín.: valor mínimo de referência; Máx.: valor máximo de referência. \*\*Valores de referência segundo Weiss e Wardrop (2010).

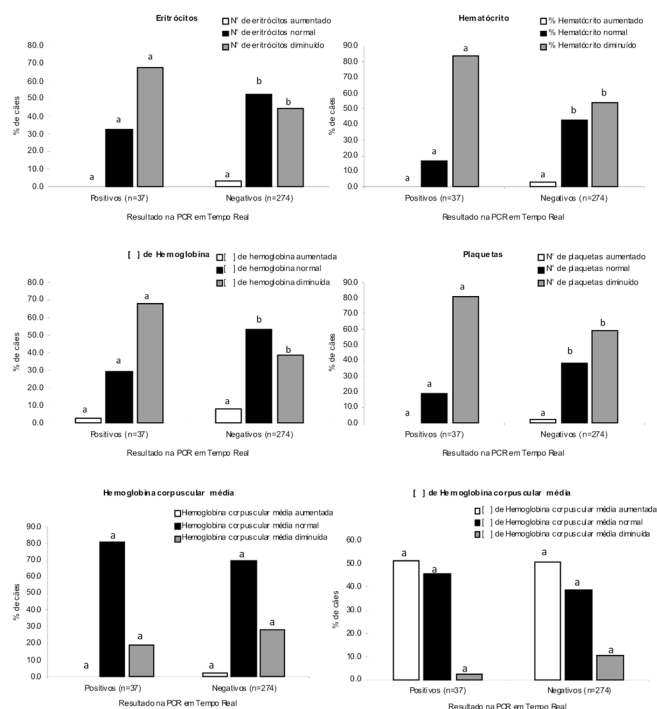


Figura 1. Frequência de cães com alterações no número de eritrócitos, no valor do hematócrito, na concentração de hemoglobina plasmática e número de plaquetas, hemoglobina corpuscular média, concentração de hemoglobina corpuscular média, em função do resultado positivo na PCR em tempo real para *Babesia canis*. <sup>a</sup>Letras iguais entre as colunas de mesma legenda não diferem entre si pelo teste de Qui-quadrado ou Exato de Fisher em nível de 5% de confiança.

de trombocitopenia entre os animais positivos, ao exame físico dos cães não foram observados sinais desta alteração, provavelmente por se tratar de uma trombocitopenia moderada.

Em relação aos valores médios da série branca, observou-se diferença significativa (P<0,05) entre os animais positivos e negativos quanto ao número de leucócitos totais, sendo o valor médio inferior nos cães positivos (Tabela 2). Contudo, vale destacar que os mesmos valores não se apresentaram fora da faixa de normalidade de referência. Da mesma forma, o valor médio do número de monócitos nos cães positivos foi menor (P<0,05), mas sem extrapolar os valores de referência para a espécie. Apesar da leucopenia ou leucocitose ser descrita em diferentes estágios da babesiose (Guelfi & Candebat, 1998), não foi evidenciada diferença significativa (P>0,05) entre as frequências de cães positivos com estas alterações, frente aos cães negativos (Figura 2).

Também não houve diferença (P>0,05) entre a frequência de cães com alterações no número de linfócitos, neutrófilos bastonetes, neutrófilos segmentados, monócitos e eosinófilos, entre os grupos de animais positivos e negativos (Figura 2). Estes achados diferem dos achados de Vasconcelos (2010), o qual constatou que 86,04% dos cães infectados com *B. canis* apresentavam monocitose. É im-

Tabela 2. Leucograma de cães positivos na PCR em tempo real para *Babesia canis* em cães do município de Seropédica, Rio de Janeiro.

Parâmetros	Resultado	N	Média	DP	EP	Valores limites		Valores Referenciais*
						Mín.	Max.	
LEUC (x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	Positivo	37	11,73 <sup>a</sup>	5,14	0,85	4,50	27,50	6,00 - 17,00
	Negativo	274	13,71 <sup>b</sup>	6,30	0,38	0,40	50,10	
LINF (x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	Positivo	37	2,73 <sup>a</sup>	2,00	0,33	0,50	10,18	1,00 - 4,80
	Negativo	274	3,01 <sup>a</sup>	2,32	0,14	0,11	16,52	
BAST (x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	Positivo	37	0,22 <sup>a</sup>	0,29	0,05	0,00	1,26	0,00 - 0,30
	Negativo	274	0,29 <sup>a</sup>	0,52	0,03	0,00	3,66	
SEGM (x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	Positivo	37	7,42 <sup>a</sup>	3,59	0,59	1,94	16,72	3,00 - 11,50
	Negativo	274	8,58 <sup>a</sup>	4,59	0,28	0,18	39,58	
MON (x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	Positivo	37	0,48 <sup>a</sup>	0,41	0,07	0,00	1,89	0,15 - 1,35
	Negativo	274	0,86 <sup>b</sup>	0,70	0,04	0,00	4,01	
EOS (x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	Positivo	37	0,86 <sup>a</sup>	1,05	0,17	0,00	3,61	0,10 - 1,25
	Negativo	274	0,96 <sup>a</sup>	1,17	0,07	0,00	8,65	
BASO (x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	Positivo	37	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	Raro
	Negativo	274	0,00	0,03	0,00	0,00	0,33	

<sup>a</sup>Valores seguidos de mesma letra, na mesma coluna, não diferem significativamente através do teste de Mann-Whitney a 5% de significância (p<0,05). LEUC: leucócitos; LINF: linfócitos; BAST: Neutrófilo em bastão; SEGM: Neutrófilo segmentado; MON: monócitos; EOS: Eosinófilos; BASO: Basófilo; N: número de cães; DP: desvio padrão; EP: erro padrão. Mín.: valor mínimo de referência; Máx.: valor máximo de referência. \*Valores de referência segundo Weiss e Wardrop (2010).

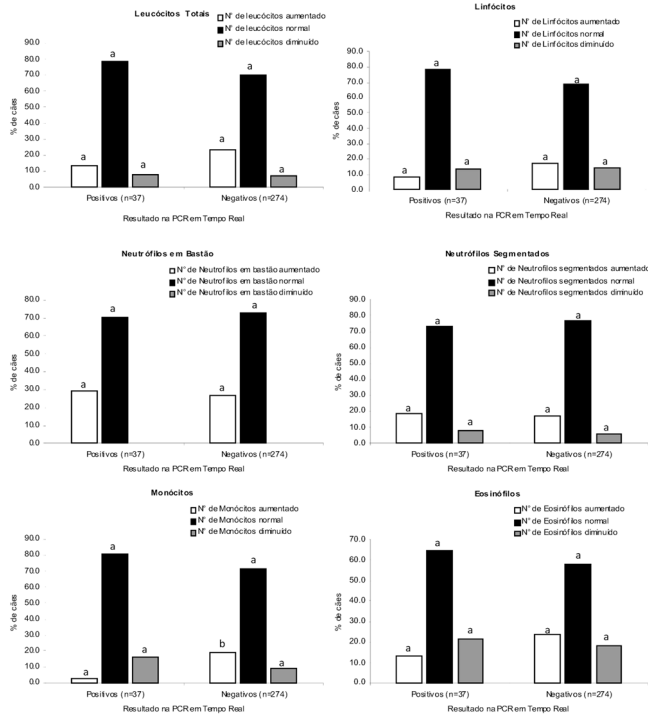


Figura 2. Frequência de cães com alterações na leucometria global, número absoluto de linfócitos, neutrófilos em bastão, neutrófilos segmentados, monócitos e eosinófilos em função do resultado positivo na PCR em tempo real para *Babesia canis*. <sup>a</sup>Letras iguais entre as colunas de mesma legenda não diferem entre si pelo teste de Qui-quadrado ou Exato de Fisher em nível de 5% de confiança.

portante destacar que, estas alterações relatadas são observadas em cães na fase aguda da doença, com o quadro sintomatológico incluso. Neste estudo, os animais, em sua maioria, eram assintomáticos para babesiose, e desta forma, o grupo de cães positivos, provavelmente se encontrava na fase subclínica da

infecção, não demonstrando tantas alterações na série branca conforme observado na literatura.

Os presentes achados para a contagem de eosinófilos corroboram os achados de Zygnier et al. (2007) que não observaram alteração no número de eosinófilos em cães infectados por *Babesia* spp.

## CONCLUSÃO

Os resultados do estudo permitiram concluir que a babesiose canina ocorre com frequência no município de Seropédica, microrregião de Itaguaí, RJ, e atualmente, apenas uma subespécie de *Babesia canis* acomete os cães desta região: *Babesia canis vogeli*. Os cães infectados apresentaram quadro de anemia leve, do tipo normocítica normocrômica e trombocitopenia leve. No entanto, nestes mesmos animais não foram evidenciadas alterações significativas no leucograma, frente aos valores de referência. Os sinais clínicos observados nos animais não foram significativos, e apresentaram-se brandos, sendo estes achados clínico-hematológicos, característicos da forma subclínica, muito frequente em cães de áreas endêmicas e comumente associados à subespécie diagnosticada.

**Agradecimentos.** À UFRRJ, CPGCV, CNPq, CAPES e FAPERJ.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Almosny N.R.P. Hemoparasitoses em pequenos animais domésticos e como zoonoses. L.F. Livros de Veterinária Ltda, Rio de Janeiro. 2002. p.58-63.

- Ayres M., Ayres Jr M., Ayres D.L. & Santos A.A.S. BioEstat 5.0 - Aplicações Estatísticas nas Áreas das Ciências Biológicas e Médicas. Sociedade Civil Mamirauá, Tefé, 2007. 380p.
- Cacciò S.M., Antunovic B., Moretti A., Mangili V., Marinculic A., Baric R.R., Slemenda S.B. & Pieniazek N.J. Molecular characterization of *Babesia canis canis* and *Babesia canis vogeli* from naturally infected European dogs. *Vet. Parasitol.*, 106:285-292, 2002.
- Carret C., Walas F., Carey B., Grande N., Precigout E., Moubri K., Schetters T.P. & Gorenflot A. *Babesia canis canis*, *Babesia canis vogeli*, *Babesia canis rossi*: differentiation of the three subspecies by a restriction fragment length polymorphism analysis on amplified small subunit ribosomal RNA genes. *J. Euk. Microbiol.*, 46:298-303, 1999.
- Dantas-Torres F. Causative agents of canine babesiosis in Brazil. *Prev. Vet. Med.*, 83:210-211, 2008.
- De Caprariis D., Dantas-Torres F., Capelli G., Mencke N., Stanneck D., Breitschwerdt E.B. & Otranto D. Evolution of clinical, haematological and biochemical findings in young dogs naturally infected by vector-borne pathogens. *Vet. Microbiol.*, 149:206-212, 2010.
- Földvári G., Hell É. & Farkas R. *Babesia canis canis* in dogs from Hungary: detection by PCR and sequencing. *Vet. Parasitol.*, 127:221-226, 2005.
- Guimarães J.C., Albernaz A.P., Machado J.A., Junior O.A.M. & Garcia L.N.N. Aspectos clínico-laboratoriais da babesiose canina na cidade de Campos do Goytacazes, RJ. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, 13:229-249, 2004.
- Guelfi J.F. & Candebat D. Variations de l'hémogramme en fonction de l'ancienneté des symptômes chez les chiens adultes atteints de babésiose äigue spontanée. *Rev. Med. Vet.*, 149:65-68, 1998.
- Furlanello T., Fiorio F., Caldin M., Lubas G. & Solano-Gallego L. Clinicopathological findings in naturally occurring cases of babesiosis caused by large form *Babesia* from dogs of northeastern Italy. *Vet. Parasitol.*, 134:77-85, 2005.
- Irwin P.J. Review. Canine babesiosis: from molecular taxonomy to control. *Parasit. Vect.*, 1:1-9, 2009.
- Labruna M.B. Biologia-Ecologia de *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae). *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, 13:123-124, 2004.
- Lisbôa R.S. Diagnóstico dos Gêneros *Ehrlichia* e *Babesia* em Cães Domésticos e Caracterização de *Anaplasma platys* na Região Metropolitana do Rio de Janeiro. 2010. 111p. Tese (Ciências Veterinárias) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2010. (Disponível em: <<http://capesdw.capes.gov.br/capesdw/Pesquisa.do?jsessi onid=98D34ED9E8BD87C4B25B1146FD552A63?autor =Raquel+Silva&tipoPesqAutor=T&assunto=Babesia&tipoPesqAssunto=T&ies=UFRRJ&tipoPesqIes=T&nivel=Doutorado&anoBase=2010>>).
- Maia M.G. *Aspectos epidemiológicos da babesiose canina em área semi-árida do estado de Minas Gerais*. Dissertação (Medicina Veterinária), Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2005. 46f. (Disponível em: <[http://www.biblioteca.digital.ufmg.br/dspace/bitstream/1843/SSLA7VGGKY/1/disserta\\_o\\_m\\_nica\\_final\\_05\\_7\\_06.pdf](http://www.biblioteca.digital.ufmg.br/dspace/bitstream/1843/SSLA7VGGKY/1/disserta_o_m_nica_final_05_7_06.pdf)>).
- 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. *Vet. Parasitol.*, 127:81-85, 2005.
- Reyers F., Leisewitz A.L., Lobetti R.G., Milner R.J., Jacobson L.S. & Van Zyl M. Canine babesiosis in South Africa: more than one disease. Does this serve as a model for falciparummalaria? *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 92:503-511, 1998.
- Schetters T.H.P.M., Moubri K., Precigout E., Kleuskens J., Scholtes N.C. & Gorenflot A. Different *Babesia canis* isolates, different diseases. *Parasitology*, 115:485-493, 1997.
- Schetters T.H.P.M., Kleuskens J., Van De Crommert V., De Leeuw P.W., Finizio A.L. & Gorenflot A. Systemic inflammatory responses in dogs experimentally infected with *Babesia canis*; a haematological study. *Vet. Parasitol.*, 162:7-15, 2009.
- Sá A.G., Cerqueira A.M.F., O'Dwyer L.H., Macieira D.B., Abreu F.S., Ferreira R.F., Pereira A.M., Velho P.B. & Almosny N.R.P. Detection and molecular characterization of *Babesia canis vogeli* from naturally infected Brazilian dogs. *Int. J. Appl. Res. Vet. Med.*, 4:163-168, 2006.
- Trapp S.M., Dagnone A.S., Vidotto O., Freire R.L., Amude A.M. & Morais H.S. Seroepidemiology of canine babesiosis and ehrlichiosis in a hospital population. *Vet. Parasitol.*, 140:223-230, 2006.
- Vasconcelos M.F. *Estudo da infecção por Babesia spp. em cães da região periurbana de Brasília, Distrito Federal*, Dissertação (Saúde Animal), Universidade de Brasília, 2010. 85 f. (Disponível em: <[http://repositorio.bce.unb.br/bitstream/10482/8253/1/2010\\_MartaFreitasVasconcelos.pdf](http://repositorio.bce.unb.br/bitstream/10482/8253/1/2010_MartaFreitasVasconcelos.pdf)>).
- Vidotto O. & Trapp S.M. Babesiose canina. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, 13:58-61, 2004.
- Weiss D.J. & Wardrop K.J. *Schalm's Veterinary Hematology*. 6<sup>th</sup> ed. Blackwell Publishing Ltd, Ames, 2010. 1232p.
- Zygnier W., Rapacka G., Gójska-Zygnier O., Dlugosz E. & Wedrychowicz H. Biochemical abnormalities in serum of dogs infected with large *Babesia* in Warsaw (Poland). *Poland J. Vet. Sci.*, 10: 245-253, 2007.