

Piroplasmose em cão: relato de caso

Pyroplasmosis in dog: case report

Piroplasmosis en perro: reporte de caso

Recebido: 24/12/2021 | Revisado: 01/01/2022 | Aceito: 03/01/2022 | Publicado: 04/01/2022

Jessica Fontes Chaves

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2567-459X>

Associação Nacional dos Clínicos Veterinários de Pequenos Animais, Brasil

E-mail: jessica.biovet@hotmail.com

Henri Donnarumma Levy Bentubo

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0091-2504>

Universidade Paulista, Brasil

Universidade do Vale do Paraíba, Brasil

E-mail: hbentubo@yahoo.com.br

Resumo

As piroplasmoses constituem hemoparasitoses que acometem os mamíferos domésticos e são causadas pela infecção de células sanguíneas por protozoários dos gêneros *Babesia* e *Rangelia*. Este trabalho trata de um caso de piroplasmose ocorrido em São Paulo, SP, Brasil, onde um cão macho SRD, com dois anos e nove meses de idade apresentou sinais clínicos inespecíficos, porém sugestivos de hemoparasitose. O paciente apresentava notada apatia e linfadenomegalia bilateral em linfonodos poplíteo e femoral. Os exames hematológicos revelaram apenas trombocitopenia. Apesar de o paciente ter apresentado resultado negativo nos exames de sorodiagnóstico para detecção de *Babesia* sp e teste 4DX para pesquisa de anticorpos contra *Babesia* sp, baseados nos achados de esfregaço sanguíneo, onde foi possível observar a presença de protozoário, o diagnóstico para piroplasmose foi considerado positivo. O animal foi tratado com doxiciclina durante 28 dias e, em retorno pós-tratamento, foi observada a remissão completa do quadro clínico, com reestabelecimento dos níveis plaquetários. Apesar de no presente relato os tutores não terem aceitado continuar com a realização de mais exames complementares que pudessem identificar a *Rangelia* sp, os autores endossam a necessidade de investigações mais minuciosas, a fim de que, se possa diferenciar melhor os quadros clínicos que envolvem esses dois protozoários e também se esclareça com maior contundência às questões epidemiológicas das hemoparasitoses caninas.

Palavras-chave: Piroplasmose; Rangeliose; Babesiose; Hematozoários; Hemoparasitose.

Abstract

Pyroplasmosis is a hemoparasitosis that affects domestic mammals and is caused by infection of blood cells by *Babesia* and *Rangelia* protozoa. This work deals with a case of pyroplasmosis that occurred in São Paulo, SP, Brazil, where a male SRD dog, aged two years and nine months old, presented nonspecific clinical signs, but suggestive of hemoparasitosis. The patient had noted apathy and bilateral lymphadenomegaly in popliteal and femoral lymph nodes. Haematological tests revealed only thrombocytopenia. Although the patient had a negative result in the serodiagnostic tests for the detection of *Babesia* sp and the 4DX test to search for antibodies against *Babesia* sp, based on the findings of a blood smear, where it was possible to observe the presence of protozoa, the diagnosis for pyroplasmosis was considered positive. The animal was treated with doxycycline for 28 days and, upon return after treatment, complete remission of the clinical picture was observed, with reestablishment of platelet levels. Although in the present report, the tutors did not accept to continue carrying out more complementary exams that could identify *Rangelia* sp, the authors endorse the need for more detailed investigations, in order to better differentiate the clinical conditions involving these two protozoa and also clarify with greater force the epidemiological issues of canine hemoparasitosis.

Keywords: Pyroplasmosis; Rangeliosis; Babesiosis; Hematozoa; Hemoparasitosis.

Resumen

La piroplasmosis es una hemoparasitosis que afecta a los mamíferos domésticos y es causada por la infección de las células sanguíneas por protozoos *Babesia* y *Rangelia*. Este trabajo trata de un caso de piroplasmosis ocurrido en São Paulo, SP, Brasil, donde un perro SRD macho, de dos años y nueve meses de edad, presentó signos clínicos inespecíficos, pero sugerentes de hemoparasitosis. El paciente había notado apatía y linfadenomegalia bilateral en los ganglios linfáticos poplíteos y femorales. Los exámenes hematológicos revelaron solo trombocitopenia. Si bien el paciente tuvo resultado negativo en las pruebas de serodiagnóstico para la detección de *Babesia* sp y la prueba 4DX

para búsqueda de anticuerpos frente a *Babesia* sp, a partir de los hallazgos de un frotis de sangre, donde se pudo observar la presencia de protozoos, el diagnóstico de piroplasmosis se consideró positivo. El animal fue tratado con doxiciclina durante 28 días y, al regresar después del tratamiento, se observó una remisión completa del cuadro clínico, con restablecimiento de los niveles de plaquetas. Si bien en el presente informe los tutores no aceptaron seguir realizando más exámenes complementarios que pudieran identificar a *Rangelia* sp, los autores avalan la necesidad de investigaciones más detalladas, con el fin de diferenciar mejor las condiciones clínicas que involucran a estos dos protozoos y también aclarar con fuerza mayor los problemas epidemiológicos de la hemoparasitosis canina.

Palabras clave: Piroplasmosis; Rangeliosis; Babesiosis; Hematozoos; Hemoparasitosis.

1. Introdução

As piroplasmoses constituem hemoparasitoses que acometem os mamíferos domésticos e são causadas pela infecção de células sanguíneas por protozoários dos gêneros *Babesia* e *Rangelia*. Assim como é observado em outras enfermidades parasitárias semelhantes, nas piroplasmoses, esses agentes etiológicos também são transmitidos aos hospedeiros susceptíveis por meio da picada e repasto de vetores invertebrados hematófagos. Condições ambientais e socioculturais são fatores importantes na epidemiologia dessas doenças, pois influenciam de maneira relevante na manutenção dos parasitas, bem como, de seus vetores invertebrados no ambiente peridomiciliar, o que favorece a perpetuação das infecções e o descontrole do número de casos. Infecções maciças observadas em mamíferos domésticos representam pior prognóstico para essas vítimas devido à limitação de princípios farmacológicos disponíveis para o tratamento da doença e à elevada toxicidade apresentada por algumas dessas opções (Jericó et al, 2015 & Mongruel et al, 2018).

Os principais agentes etiológicos causadores de hemoparasitoses encontrados no Brasil são *Anaplasma platys*, *Babesia canis*, *B. vogeli*, *Ehrlichia canis*, *Mycoplasma haemocanis* e, com menor frequência e importância clínica *Anaplasma phagocytophilum* (Prado et al, 2019). As piroplasmoses representam uma importante fatia desse conglomerado de agentes causadores de hemoparasitoses, sendo que seus agentes mais importantes são membros da família Babesidae (Jericó et al, 2015). Essa família faz parte do subfilo Apicomplexa e ordem Piroplasmidae. A família Babesidae compreende mais de 100 espécies diferentes e, provavelmente, muitas restantes a serem descobertas e descritas (Chauvin et al, 2009). Estudos moleculares recentes de casos de rangeliase indicam que os gêneros *Babesia* e *Rangelia* sejam os principais causadores de piroplasmoses nas regiões Sudeste e Sul do Brasil. Esses mesmos estudos citam *B. canis vogeli*, *B. gibsoni* e *R. vitalii* como as principais espécies envolvidas na etiologia dos casos de piroplasmoses (Lemos et al, 2012). *Babesia* spp. são parasitas intracelulares que infectam células sanguíneas e a doença produzida por sua infecção é, popularmente, conhecida como babesiose (Duarte et al, 2011). Já, a rangeliase é uma piroplasmose grave que afeta cães domésticos e conta com inúmeros relatos no Brasil, Uruguai e Argentina (Soares et al, 2015, Eiras, 2014 & Lemos, 2017). O agente etiológico da doença é a *R. vitalii*, considerada um dos protozoários transmitidos por carrapatos mais patogênicos para cães em todo o mundo (Lemos et al, 2017 & Soares et al, 2018).

As características dinâmicas das piroplasmoses ainda não são completamente compreendidas pela comunidade científica. Os carrapatos constituem os principais vetores das piroplasmoses em todo o mundo. Os elevados índices pluviométricos e temperaturas observadas em países de clima tropical, como o Brasil, favorecem os ciclos de vida desses aracnídeos hematófagos, o que torna seu controle um grande desafio (Prado et al, 2019). O papel das espécies de carrapatos *Rhipicephalus sanguineus* e *Amblyomma aureolatum* na transmissão das *Babesia* spp. é bem conhecido (Lemos et al, 2012). Contudo, as diferentes e possíveis vias de transmissão ainda aguçam a curiosidade dos pesquisadores, especialmente, em relação a *Rangelia* sp. Por isso, Soares et al., (2018), em trabalho recente, avaliaram a competência vetorial das seis principais espécies de carrapatos que infestam cães na América do sul. São eles: *R. sanguineus*, *A. aureolatum*, *A. ovale*, *A. tigrinum* e *A. sculptum* para *R. vitalii*. Os resultados do trabalho indicaram que *A. aureolatum* é o vetor natural de *R. vitalii*. Os autores

também constataram pela primeira vez que *R. vitalii* é capaz de fazer migração transovariana nos carrapatos do gênero *Amblyomma* (Soares et al, 2018).

Outro aspecto importante está relacionado particularmente aos agentes etiológicos da piroplasmose. As infecções produzidas por *Babesia* spp. são bastante conhecidas no meio médico-veterinário. Infecções diagnosticadas tanto em grandes, como pequenos animais são amplamente difundidas na literatura científica. No entanto, realizar o diagnóstico definitivo nem sempre é uma tarefa tão fácil, pois as manifestações clínicas podem ser bastante inespecíficas, se confundindo com aquelas também observadas em outras hemoparasitoses. A realização de um exame molecular, mais específico, nem sempre é uma opção para o clínico veterinário em virtude do elevado custo. O conhecimento em relação à *Rangelia* sp é mais limitado. Ainda pairam dúvidas acerca de aspectos particulares desse microrganismo no contexto diagnóstico e clínico. O diagnóstico se torna difícil, pois as manifestações clínicas se assemelham a babesiose e erliquiose. Exames básicos, como o hemograma, não permitem diferenciar a rangeliose da babesiose, pois ambas têm morfologia microscópica idêntica. Infecções associadas são, incomumente, descritas na literatura. Elas ocorrem, mas de forma menos frequente do que àquelas produzidas por um único agente. Não foi possível localizar relato na literatura disponível sobre co-infecção *Babesia* spp. e *Rangelia* sp. No entanto, a literatura refere com bastante frequência à identificação de *Babesia* spp. e *Anaplasma* spp.; e em um trabalho de 2011 realizado na cidade de Cuiabá, no estado do Mato Grosso (Brasil) os pesquisadores relataram o primeiro caso de identificação simultânea de *Hepatozoon* sp e *Babesia* sp em cão, reafirmando a possibilidade de co-infecção, o que poderia representar importantes implicações epidemiológicas para as hemoparasitoses (Spolidorio et al, 2011).

As manifestações clínicas nas hemoparasitoses são, geralmente, semelhantes e inespecíficas. Os principais sinais associados à enfermidade e relatados pela literatura são: apatia, anorexia e febre; acompanhados de algumas alterações hematológicas, como anemia e trombocitopenia (Prado et al, 2019 & Santos et al, 2020). As alterações clínicas e patológicas que ocorrem em cães infectados podem variar conforme a espécie de *Babesia* envolvida na infecção (Santos et al, 2020). Uma vez infectados, esses animais apresentam desde sinais leves de perda de peso, fraqueza e letargia associada com anemia discreta, até disfunções associadas a múltiplos órgãos e/ou infecções subclínicas, para os casos mais graves. A manifestação da plaquetopenia em cães infectados com piroplasmas, especialmente os do gênero *Babesia*, é considerada a alteração hematológica mais importante na piroplasmose canina (Santos et al, 2020). Cães adultos infectados com *B. canis vogeli*, normalmente, desenvolvem quadros mais graves, embora a literatura confirme que seja possível observar pior prognóstico em animais mais jovens (Jericó et al, 2015 & Santos et al, 2020). Em animais diagnosticados com *R. vitalii*, as alterações clínicas mais, frequentemente, observadas são prostração, diarreia, febre, sangramento cutâneo espontâneo, trombocitopenia e anemia, que pode ser regenerativa ou arregenerativa. Os autores consentem que quaisquer manifestações, isoladas ou associadas, com histórico e epidemiologia que possam sugerir risco para a infecção, devem ser consideradas como caso suspeito (Lemos et al, 2017).

Na babesiose a trombocitopenia é causada pela destruição de plaquetas, sequestro de plaquetas do baço, aumento da temperatura corporal e disseminação da coagulação intravascular (Santos et al, 2020). O hemograma completo constitui uma importante ferramenta para o diagnóstico. Além da trombocitopenia, entre os achados laboratoriais mais comuns estão: a anemia regenerativa, hiperbilirrubinemia, bilirrubinúria, hemoglobínúria, acidose metabólica, azotemia e cilindros renais (Dias & Ferreira, 2016). Nos casos de infecção pela *Rangelia* sp os trabalhos de pesquisa mostram ainda que é possível observar no hemograma a neutrofilia com desvio à esquerda e presença de granulação tóxica. Adicionam, ainda, que o perfil bioquímico evidencia alterações séricas dos níveis de compostos nitrogenados (uréia) e bilirrubinas; diminuição de proteínas totais e albumina (Silva, 2018). A literatura cita também diferentes espécies de *Hepatozoon* spp., que inclusive infectam cães por meio da ingestão de carrapatos infectados pelo protozoário, como uma alternativa para ser incluída no diagnóstico diferencial para as

piroplasmoses. As infecções por *Hepatozoon* spp. podem confundir o clínico porque as manifestações clínicas gerais assemelham-se àquelas observadas em outras doenças, igualmente, transmitidas por carrapatos, como: apatia, letargia, anorexia, perda de peso, anemia, neutrofilia e, inclusive, a trombocitopenia (Spolidorio et al, 2011).

O diagnóstico das piroplasmoses pode ser realizado por meio da detecção por técnicas microscópicas do piroplasma no interior dos eritrócitos. Os testes de diagnóstico microscópico são simples e acessíveis, exigindo um esfregaço de sangue bem preparado e adequadamente corado em conjunto com um observador treinado. Embora a morfometria seja amplamente utilizada no diagnóstico da babesiose, não é possível diferenciar espécies de piroplasmas, como a *Babesia* spp. e, inclusive, com *Rangelia* sp (Santos et al, 2020). A presença do protozoário no esfregaço sanguíneo caracteriza resultado positivo e pode ser encontrado em mais de 66% dos pacientes com sintomatologia clínica. Contudo, *R. vitalii* é morfologicamente idêntica a outros piroplasmas, como a *B. canis vogeli*, inviabilizando a diferenciação por microscopia. Nesse caso, essas espécies só podem ser diferenciadas por testes de biologia molecular (Lemos et al, 2017). Na comparação dos resultados encontrados em ELISA e IFI verifica-se que o teste imunoenzimático apresenta maior sensibilidade. O sistema de teste ELISA, desenvolvido para a detecção de anticorpos IgG anti-*B. canis* é o método mais bem padronizado para reações de interação com antígenos solúveis o que se presta bem ao diagnóstico sorológico da infecção canina por *Babesia* sp (Furuta et al, 2009). Os analistas clínicos devem considerar a inclusão de técnicas moleculares no protocolo de diagnóstico rotineiro de cães com piroplasmose, uma vez que, a identificação mais precisa do agente etiológico nos permite lidar melhor com distintas sensibilidades aos fármacos e, assim, o clínico também pode direcionar o paciente para procedimentos terapêuticos com o uso de técnicas específicas e particulares, algumas vezes, mais econômicas e menos tóxicas (Santos et al, 2020).

A terapêutica é baseada no uso de dipropionato de imidocarb associada à atropina e doxiclina e se necessário é indicado realizar reposição hidroeletrólítica e transfusão sanguínea. (Dias & Ferreira, 2016). A atropina é utilizada para diminuir os efeitos parassimpáticos colaterais (colinérgicos) que ocorrem com o uso do imidazólicos (dipropionato imidocarb) (Correa et al., 2005). Dentre esses efeitos os mais comumente observados é fraqueza muscular, alterações sistema nervoso, convulsão, salivação excessiva, vômito e diarreia. A eliminação completa do agente etiológico da babesiose no organismo animal é possível no tratamento com dipropionato de imidocarb, ocorrendo inibição da perpetuação do estímulo antigênico, sem esses anticorpos os animais ficam suscetíveis a novas infecções. Nestas condições, a persistência de uma infecção residual seria desejável para que houvesse uma estimulação antigênica periódica e a manutenção de um título adequado de anticorpos, os quais, em conjunto, promoveriam uma proteção prolongada. Por isso o uso doxiciclina, poderia ter essa finalidade, pois ela não eliminaria completamente o agente, mas reduziria a parasitemia e limitaria a infecção (Dias & Ferreira, 2016). O dipropionato de imidocarb deixa resíduo em rins e fígado por um longo período após sua utilização, podendo levar a necrose desses órgãos (Andrade et al 2008). Segundo Alberti et al (2018), o fármaco dipropionato de imidocarb possui potencial nefrotóxico e hepatotóxico, dose dependente, porém essa toxicidade também possui fator genético, podendo levar a casos inflamatórios e hepatite dissecante, onde as enzimas hepáticas, nem sempre se elevam durante o processo, porém o órgão apresenta diversas lesões podendo ficar friável, perder função e levar o animal a óbito (Alberti et al, 2018).

As hemoparasitoses piroplasmáticas são um grande desafio para o clínico e para os tutores que, frequentemente, se deparam com fracassos terapêuticos e a consequente perda precoce de um membro importante da família. Nesse sentido, o objetivo do presente trabalho foi relatar um caso de piroplasmose em cão, no qual não foi possível distinguir a espécie do agente etiológico envolvido na infecção, atentando para os exames e tratamento realizados, bem como, a avaliação dos seus respectivos resultados para elucidação do caso. O desenvolvimento desse estudo de caso é de natureza, essencialmente, qualitativa e está fundamentado na metodologia científica disponível em Ludke e André (2013), Yin (2015), Estrela (2018) e Pereira et al (2018).

2. Relato do Caso

Paciente canino, SRD, macho não castrado, dois anos e nove meses de idade e 23 kg de peso foi trazido ao consultório pelo seu tutor para atendimento. O paciente apresentava aparente cansaço há, aproximadamente, quatro dias com apatia e apetite seletivo, segundo o proprietário referiu. À anamnese, o tutor informou que o paciente recebe apenas ração comercial e água potável *ad libitum*. Apesar da normodipsia o animal tinha apresentado menor atividade e estava recusando a ração comercial com alguma frequência. Quando o proprietário foi questionado sobre o volume, consistência e aspecto das fezes, o mesmo afirmou normoquezia, negando episódios recentes de diarreia e/ou êmese. O cão tinha acesso à rua em passeios frequentes e, segundo seu responsável, fez vermifugação nos últimos seis meses. As vacinações com V10 e raiva encontravam-se atualizadas. O tutor afirmou que faz uso de preventivo contra ectoparasitas, porém não respeita os intervalos recomendados pelo fabricante e/ou orientados por profissionais médicos veterinários. O proprietário afirmou que durante os passeios notou uma aparente disúria do paciente, que apresentava jatos menos volumosos e maior frequência ao urinar. Tutor negou tosse ou engasgos, tanto em exercício como em repouso, ataxia e/ou perda da consciência e emprego de medicamentos de uso contínuo. O paciente possuía um contactante de mesma espécie, mas sem sinais e sintomas à semelhança.

Ao exame físico, a inspeção confirmou a apatia (cabeça baixa e relutância em caminhar). Foi possível notar uma quantidade moderada de secreção purulenta no óstio uretral externo. As mucosas ocular e oral estavam normocoradas e o tempo de perfusão capilar era igual a dois segundos. A temperatura corpórea do paciente era de 38,5°C e o turgor de pele estava normal. Ruídos cardíacos (FC=110bpm) e respiratórios (FR=70mrpm) normais à auscultação. No entanto, foi possível verificar aumento de volume e consistência firme nos linfonodos poplíteo e femoral, bilateralmente. Foram solicitados os seguintes exames complementares: hemograma completo; função renal; função hepática; proteínas totais e albumina; glicemia; bilirrubina total; e urina tipo I. As amostras de sangue foram colhidas por punção da veia cefálica e acondicionadas em tubos seco, com gel e tubo com EDTA. A amostra de urina foi colhida por micção espontânea, realizada diretamente no frasco coletor. Ambas as amostras foram encaminhadas para o laboratório de análises clínicas ao final do atendimento em recipiente refrigerado e termoisolado. O paciente foi encaminhado para casa, ainda sem prescrição, para aguardar os resultados dos exames solicitados.

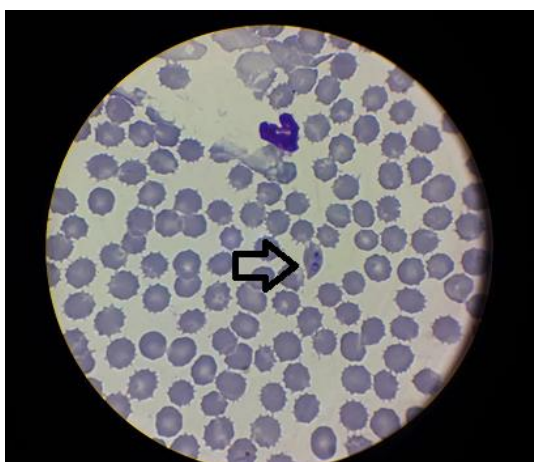
Cerca de 48 horas após o atendimento inicial, paciente e tutor foram chamados ao consultório para a apresentação dos resultados dos exames, reavaliação e orientações de conduta. Hemograma revelou trombocitopenia (Quadro 1) e no exame diferencial dos leucócitos foi possível observar a presença de hematozoário compatível com piroplasma (Figura 1). Assim como as demais variáveis do hemograma, funções hepática e renal, proteínas e glicemia estavam dentro da normalidade (Quadro 2). O exame de urina tipo 1 evidenciou a presença de hemácias e leucócitos (Quadro 3). Após as constatações obtidas com os resultados dos exames inicialmente solicitados, novos exames foram sugeridos ao tutor (sorodiagnóstico para a identificação de *Babesia* spp. e teste 4DX para diferenciação de hematozoários), que prontamente acatou a solicitação. O tutor foi orientado a oferecer ração úmida comercial e peito de frango cozido e desfiado para incentivar a alimentação do paciente. Também foram prescritas as seguintes medicações: amoxicilina associada com ácido clavulânico (20mg/kg, BID, por sete dias) e meloxicam (0,2mg/kg, SID, por três dias) e solicitado um retorno em, aproximadamente, oito dias.

Quadro 1. Resultado do primeiro hemograma completo solicitado para paciente canino com piroplasmose atendido em consultório veterinário particular. São Paulo, SP, Brasil.

Hemograma Completo Canino				
Materia: Sangue com E.D.T.A				
Método: Contagem manual (Câmara de Neubauer) e Citologia do esfregaço sanguíneo				
Eritrograma:		Resultado	Valor de Referência Cães	
Eritrócitos		6,6 x 1000 ³	5,5 a 8,5 x 1000 ³	
Hemoglobina		16 g/dL	12 a 18 g/dL	
Hematócrito		49 %	37 a 55 %	
V.C.M. (Volume corpuscular média)		73 fL	60 a 70 fL	
H.C.M. (Hemoglobina corpuscular média)		24 fL	12 a 15 fL	
C.H.C.M. (Concentração de Hemoglobina corpuscular média)		33 g/dL	32 a 36 g/dL	
Proteínas Totais		5,8 g/dL	6 a 8 g/dL	
Icterícia		Negativo	Negativo	
Hemólise		Negativo	Negativo	
Observações: Anisocitose +				
Leucograma			Valor de Referência	
Leucócitos		7.000 uL	6.000 a 17.000 uL	
	Valor Relativo %	Valor Absoluto	Valor Relativo %	Valor Absoluto uL
Neutrófilos				
Mielócitos	0	0	0	0
Metamielócitos	0	0	0	0
Bastonetes	02	140	0 a 3	0 a 300
Segmentados	83	5810	60 a 70	3000 a 11500
Linfócitos	08	560	10 a 30	1000 a 4800
Monócitos	07	490	0 a 10	150 a 1350
Eosinófilos	0	0	2 a 10	100 a 1250
Basófilos	0	0	0	Raros
Observações: Morfologia celular normal.				
Plaquetas		108.000 uL	200.000 a 500.000 uL	
Observações: Presença de trofozoito de <i>Piroplasma</i> spp. Sugere-se sorologia para hemoparasitoses.				

Fonte. Laudo emitido por laboratório de análises clínicas particular (2021).

Figura 1. Trofozoíto de piroplasma observado em exame direto diferencial de paciente canino com piroplasmose atendido em consultório particular. São Paulo, SP, Brasil.



Fonte: Arquivo pessoal dos autores.

Quadro 2. Resultados dos testes bioquímicos realizado em paciente canino com piroplasmose atendido em consultório veterinário particular. São Paulo, SP, Brasil.

Bioquímico		
Material: Soro		
Método: Bioplus 2000		
Enzima	Resultado	Valor de Referência (Cão)
ALT – Alanina Aminotransferase	36 U/L	21 a 102 U/L
FA – Fosfatase Alcalina	71 U/L	20 a 156 U/L
Uréia	51 mg/dL	21 a 60 mg/dL
Creatinina	1,1 mg/dL	0,5 a 1,5 mg/dL
Albumina	3,6 mg/dL	2,6 a 4,5mg/dL
Glicose	64 mg/dL	64 a 118 mg/dL
Proteína	5,8 mg/dL	5,8 a 8,1 mg/dL
Bilirrubina	0,3 mg/dL	0,1 a 0,5 mg/dL

Fonte. Laudo emitido por laboratório de análises clínicas particular (2021).

Quadro 3. Resultado do exame de urina tipo 1 de paciente canino com piroplasmose atendido em consultório veterinário particular. São Paulo, SP, Brasil.

Urínalise		
Material: Urina		
Método de coleta: Micção Espontânea		
Ex. Físico	Resultado	Valor de Referência
Volume	04 mL	
Coloração	Alaranjada	Amarelo citrino
Aspecto	Turva	Cristalino
Odor	Fétida	Característico
Densidade	1,015	1,035 – 1,045
Ex. Químico	Resultado	Valor de Referência
pH	7,5	6,0 – 7,0
Glicose	Negativo	Negativo
Corpos cetônicos	Negativo	Negativo
Proteínas	++	Negativo
Bilirrubina/ Urobilinogênio	Normal	Normal
Eritrócitos	++	Negativo
Nitrito	Negativo	Negativo
Ex. Sedimento	Resultado	Valor de Referência
Leucócitos	450.000	Até 15.000
Eritrócitos	26.000	Até 5.000
Células	Raras	Raras
Bactérias	Negativo	Negativo
Cilindros	Negativo	Negativo

Fonte. Laudo emitido por laboratório de análises clínicas particular (2021).

No segundo retorno, oito dias após, o tutor relatou melhora do comportamento alimentar e da disúria do paciente; entretanto, ressaltou a persistência da hiporexia. Ao exame físico o paciente apresentou redução do peso corporal (20,5 kg) e

discreta melhora da linfadenopatia. Os resultados dos exames solicitados foram negativos (Quadros 4 e 5). O paciente foi submetido à nova coleta de sangue para realização de hemograma e verificação dos níveis plaquetários e pesquisa de hematozoários em sangue periférico (coleta realizada por punção de ponta de orelha).

Quadro 4. Resultado de teste de sorodiagnóstico para a pesquisa de *Babesia canis* em paciente canino com piroplasmose atendido em consultório particular. São Paulo, SP, Brasil.

***Babesia canis* (Babesiose) - ELISA**

Material: SORO SANGUÍNEO
Metodologia: E.L.I.S.A.

Resultado: NEGATIVO

Interpretação: Foi realizado o ensaio imunoenzimático indireto (ELISA) para detecção de anticorpos da classe IgG anti *Babesia canis*.
Esse método deve ser interpretado em conjunto com outros testes laboratoriais, com os sinais clínicos manifestados pelo paciente, além de seu histórico, não sendo considerado diagnóstico definitivo. O teste não permite a diferenciação entre animais doentes e animais nos quais os anticorpos são remanescentes de uma infecção precedente.
Filhotes e animais testados no início da infecção (2 a 3 semanas pós infecção) podem apresentar resultados falsos negativos, período em que ainda não houve a produção de anticorpos detectáveis pelo teste, além de falsos positivos transmitidos imunidade passiva.
Visto que, os títulos de anticorpos se mantêm por um determinado tempo, mesmo após a eliminação do agente, em caso de avaliação de eficácia de tratamento recomenda-se testes moleculares para a detecção do material genético do agente na circulação sistêmica do paciente e hemogramas pareados.

Fonte. Laudo emitido por laboratório de análises clínicas particular (2021).

Quadro 5. Resultado de teste 4DX para detecção de anticorpos neutralizantes contra *Ehrlichia canis*, *Dirofilaria immitis*, *Borrelia burgdorferi* e *Anaplasma phagocytophilum* em paciente canino com piroplasmose atendido em consultório veterinário particular. São Paulo, SP, Brasil.

Teste de ELISA Quádruplo canino

Material: SORO OU PLASMA
Metodologia: E.L.I.S.A. SNAP

Ac *Ehrlichia canis*.....: **NEGATIVO**
Ag *Dirofilaria immitis*.....: **NEGATIVO**
Ac *Borrelia burgdorferi*.....: **NEGATIVO**
Ac *Anaplasma phagocytophilum*: **NEGATIVO**

Interpretação.: Ac = Anticorpos e Ag = Antígeno. *Borrelia burgdorferi* = Doença de Lyme

Os anticorpos testados contra *Anaplasma phagocytophilum* possuem reação cruzada com *Anaplasma platys*, assim como o de *Ehrlichia canis* com *Ehrlichia ewingii*, não sendo possível sua diferenciação neste teste.

Fonte. Laudo emitido por laboratório de análises clínicas particular (2021).

Em cerca de 72 horas foi possível obter os resultados dos últimos exames solicitados. Os níveis plaquetários apresentaram uma queda considerável e, dessa vez, o hemograma evidenciou diminuição eritrocitária e hemoglobínica, a pesquisa de hematozoários em sangue periférico teve resultado negativo (Quadro 6). O tutor foi contatado para atualização sobre os últimos resultados dos exames e conduta médica recomendada. No entanto, o tutor informou que estava em viagem de trabalho e, por isso não poderia comparecer em atendimento para que fosse possível iniciar o tratamento do paciente.

Quadro 6: Resultado do segundo hemograma completo e pesquisa de hematozoários realizado em paciente canino atendido em consultório veterinário particular em 2021. São Paulo, SP, Brasil.

Hemograma Completo Canino e Pesquisa de Hematozoários				
Material: Sangue com E.D.T.A				
Método: Contagem manual (Câmara de Neubauer) e Citologia do esfregaço sanguíneo				
Eritrograma:				
	Resultado	Valor de Referência Cães		
Eritrócitos	6,0 x 1000 ³	5,5 a 8,5 x 1000 ³		
Hemoglobina	15 g/dL	12 a 18 g/dL		
Hematócrito	45 %	37 a 55 %		
V.C.M. (Volume corpuscular médio)	75 fL	60 a 70 fL		
H.C.M. (Hemoglobina corpuscular média)	25 fL	12 a 15 fL		
C.H.C.M. (Concentração de Hemoglobina corpuscular média)	33 g/dL	32 a 36 g/dL		
Ictericia	Negativo	Negativo		
Hemoíse	Negativo	Negativo		
Observações: Morfologia eritrocitária normal.				
Leucograma				
		Valor de Referência		
Leucócitos	ul	6.000 a 17.000 ul		
13.170				
	Valor Relativo %	Valor Absoluto	Valor Relativo %	Valor Absoluto ul.
Neutrófilos				
Mielócitos	0	0	0	0
Metamielócitos	0	0	0	0
Bastonetes	02	263	0 a 3	0 a 300
Segmentados	80	10536	60 a 70	3000 a 11500
Linfócitos				
Linfócitos	12	1581	10 a 30	1000 a 4800
Monócitos				
Monócitos	02	263	0 a 10	150 a 1350
Eosinófilos				
Eosinófilos	04	527	2 a 10	100 a 1250
Basófilos				
Basófilos	0	0	0	Raros
Observações: Morfologia celular normal.				
Plaquetas				
	54.000 ul	200.000 a 500.000 ul.		
Observações: Presença de macroplaquetas.				
Pesquisa de Hematozoários:				
Resultado: Negativo (coleta realizada em ponta de orelha)				

Fonte. Laudo emitido por laboratório de análises clínicas particular (2021).

Ao retornar da viagem de trabalho, cerca de dez dias após o contato telefônico, o tutor e paciente compareceram ao consultório para dar continuidade ao atendimento. O tutor referiu piora do quadro clínico do paciente e retorno da apatia e hiporexia. Foi recomendada a instauração imediata do protocolo terapêutico para o caso. Para tanto, foram prescritos doxiciclina (10mg/kg, SID, por 28 dias), cloridrato de imidocarb (5mg/kg, SID, a cada 14 dias, em duas aplicações) e atropina (0,02mg/kg, SID, a cada 14 dias, em duas aplicações antes do imidocarb). Devido aos riscos do imidocarb o tutor, receoso, não autorizou as aplicações. Sendo assim o paciente foi medicado apenas com doxiciclina e foi solicitado retorno para reavaliação em 28 dias. Também foram solicitados exames de PCR para *Babesia* spp. e *Rangelia* spp., porém o tutor não realizou por motivos financeiros.

Após dois dias do término do tratamento com doxiciclina o paciente e seu tutor compareceram ao retorno. O tutor referiu melhora significativa do paciente com desaparecimento da apatia e, agora, normorexia. Ao exame físico o paciente apresentava-se alerta e com linfonodos normais à palpação. O paciente havia recuperado 3 kg de peso desde a última pesagem. Foi solicitado novo hemograma que revelou normalização da contagem de eritrócitos e hemoglobina. Os níveis plaquetários

apresentavam valores dentro da referência (Quadro 7), o tutor foi orientado a suspender o tratamento com doxiciclina e foi solicitado um novo hemograma controle em cerca de 15 dias, para verificação dos níveis plaquetários e assim o paciente poder receber a vacina de V10 e raiva (reforço anual) que já estavam no prazo para serem atualizadas.

Quadro 7. Resultado do terceiro hemograma completo de acompanhamento clínico de paciente canino com piroplasmose atendido em consultório veterinário particular. São Paulo, SP, Brasil.

Hemograma Completo Canino				
Material: Sangue com E.D.T.A				
Método: Contagem manual (Câmara de Neubauer) e Citologia do esfregaço sanguíneo				
Eritrograma:		Resultado	Valor de Referência Cães	
Eritrócitos		7,2 X 1000 ³		5,5 a 8,5 x 1000 ³
Hemoglobina		17 g/dL		12 a 18 g/dL
Hematócrito		52 %		37 a 55 %
V.C.M. (Volume corpuscular médio)		72 fl		60 a 70 fl
H.C.M. (Hemoglobina corpuscular média)		24 fl		12 a 15 fl
C.H.C.M. (Concentração de Hemoglobina corpuscular média)		33 g/dL		32 a 36 g/dL
Proteínas Totais		6,8 g/dL		6 a 8 g/dL
Icterícia		Negativo		Negativo
Hemolise		Negativo		Negativo
Observações: Morfologia eritrocitária normal.				
Leucograma			Valor de Referência	
Leucócitos		9.000 uL		6.000 a 17.000 uL
		Valor Relativo %	Valor Absoluto	Valor Relativo %
				Valor Absoluto uL
Neutrófilos				
	Mielócitos	0	0	0
	Metamielócitos	0	0	0
	Bastonetes	0	0	0 a 3
	Segmentados	50	4500	60 a 70
Linfócitos				
	Linfócitos	38	3420	1000 a 4800
Monócitos				
	Monócitos	06	540	150 a 1350
Eosinófilos				
	Eosinófilos	06	540	100 a 1250
Basófilos				
	Basófilos	0	0	Raros
Observações: Morfologia celular normal.				
Plaquetas		218.000 uL		200.000 a 500.000 uL
Observações: Presença de macroplaquetas.				

Fonte. Laudo emitido por laboratório de análises clínicas particular (2021).

3. Discussão

O Brasil é um país de clima tropical e esse clima favorece a presença de aracnídeos hematófagos, como o *Rhipicephalus sanguineus* e *Amblyomma* spp. Esses vetores podem transmitir graves doenças para seus hospedeiros (Soares et al, 2018 & Prado et al, 2019). As doenças causadas por hematozoários podem apresentar uma enormidade de manifestações clínicas, podendo inclusive ser assintomáticas, não despertando nos tutores a suspeita de que algo errado possa estar acontecendo com seu animal de estimação, e fazendo com que esses pacientes não sejam tratados, o que colabora com a disseminação da doença. A adoção de métodos preventivos contra infestação por ectoparasitas utilizados na dosagem e intervalo de doses em acordo com a orientação do fabricante e/ou do médico veterinário é fundamental para a redução do número de casos. A principal queixa do tutor do caso, objeto do presente relato foram apatia e aparente seletividade na hora de se alimentar. Esses sinais clínicos inespecíficos tornam impossível o diagnóstico definitivo do paciente, mas ambas as manifestações estão descritas como manifestações caninas em outros relatos de infecção por hemoparasitas disponíveis na literatura (Spolidorio, 2011; Prado et al, 2019 & Santos et al, 2020).

Devido ao fato de as manifestações clínicas serem inespecíficas é de extrema importância solicitar e esclarecer o tutor acerca da importância da realização de exames complementares à investigação clínica. Excluir doenças que possuem semelhança clínica, com diferentes protocolos terapêuticos, permite melhor conduta clínico-diagnóstica, com terapia assertiva para o paciente, o que resulta em maior eficiência do atendimento e economia de longo prazo para o tutor, que não será orientado a experimentar várias opções às cegas até que se tenha uma melhora clínica satisfatória do paciente. Além da erlichiose, uma hemoparasitose frequente em cães, sabe-se que dentre as piroplasmoses destacam-se a rangeliose e a babesiose (Figuera et al, 2010). A rangeliose foi por muitos anos confundida com a babesiose devido a semelhança clínica entre elas, o que levou a ser uma doença negligenciada e provavelmente subdiagnosticada no Brasil (Soares et al, 2018).

As manifestações clínicas podem variar de acordo com a fase da doença (aguda, crônica ou subclínica). Existem manifestações que são mais fortemente mencionadas na grande maioria dos casos: anemia, icterícia, febre, anorexia, apatia, desidratação, esplenomegalia, hepatomegalia, linfadenopatia, melena, epistaxe, hemorragia gastrointestinal, pontas de orelha e cavidade oral (Figuera et al, 2010, Jericó et al, 2015 & Soares et al, 2018). A perda de peso foi um sinal clínico observado no paciente antes do início da terapia para hemoparasitas e é uma manifestação que se apresenta com frequência nos casos de hemoparasitoses (Jericó et al, 2015 & Santos et al, 2020). A rangeliose, embora seja conhecida na linguagem Guarani como “Nambiuvu”, que significa “orelhas sangrentas”, nem sempre é manifestada por meio de episódios de sangramento ativo, por outro lado, a apatia e hiporexia, bem como, a linfadenomegalia são mais comumente mencionadas (Figuera et al, 2010), manifestações também identificadas no caso ora relatado.

Segundo Dias e Ferreira (2016) a bilirrubinúria é, geralmente, observada em casos de hemoparasitoses, nesse caso em questão chama a atenção, a coloração da urina do paciente (alaranjada), embora no teste bioquímico não se tenha detectado positividade para a presença de bilirrubina na urina, talvez pelo fato de o tutor levar o animal para avaliação no início do aparecimento dos sintomas e ainda não ter se iniciado a excreção de bilirrubina pela urina (Dias & Ferreira, 2016). Em outros exames realizados no paciente do presente relato, verificou-se a marcada trombocitopenia, que embora fosse um achado comum, ainda não elimina outras enfermidades. Já, a presença do protozoário no esfregaço sanguíneo caracteriza o exame positivo, mas devido à semelhança morfológica que existe entre as babesias e rangélias não é possível estabelecer com precisão a característica identitária do agente etiológico da piroplasmose (Lemos et al, 2017 & Santos et al, 2020). Comparativamente, a babesiose e a rangeliose, quanto aos seus achados clínicos e hematológicos costumam ser muito semelhantes. Contudo, alguns autores acreditam a hemólise intravascular seja mais frequente na babesiose que na rangeliose, estando a hemoglobinemia e a hemoglobinúria também ausentes na rangeliose (Figuera et al, 2010). Dessa forma, a presença de hemácias no exame de urina tipo 1 realizada no paciente, não consegue por si só explicar a origem dessas hemácias, se por cistite ou por hemólise.

Na microscopia é de grande auxílio poder diferenciar rangeliose de babesiose sabendo que as *Babesia* spp. são encontradas no interior de eritrócitos, enquanto a *R. vitalli* pode ser encontrada em diferentes tecidos, como no citoplasma de células endoteliais de capilares sanguíneos. Durante o curso clínico da doença encontrar *Babesia* spp. nos eritrócitos pode não ser tão fácil. *Rangelia vitalli* pode, inclusive, ser ocasionalmente observada no sangue, fora dos eritrócitos, fato esse que impossibilita o diagnóstico preciso na ausência de exames mais específicos, como os de biologia molecular. As babesias já descritas até o momento, não costumam aparecer como parasitas teciduais (Figuera et al, 2010). Em casos de óbito a literatura menciona o fato de que seja possível encontrar a *R. vitalli* em demais tecidos do organismo, análises de necropsia em cães demonstraram lesões de transtorno hemolítico como palidez, icterícia, esplenomegalia e linfadenopatia (Figuera et al, 2010). Infecções por mais de um hemoparasita simultaneamente são descritas na literatura e, por isso, é importante a realização de exames de sorodiagnóstico, para podermos optar pelo melhor protocolo terapêutico. O exame de ELISA para detecção de anticorpos IgG da *Babesia* sp tem grande aplicabilidade, dada a sua elevada sensibilidade (Furuta et al, 2009), mas conforme

foi possível observar no presente caso pode se apresentar negativo, pois o resultado detectivo depende da parasitemia do portador.

Dadas as dificuldades comentadas, com relativa frequência, o diagnóstico terapêutico é empregado pelo clínico veterinário como “ferramenta” de diagnóstico. A adoção de tal procedimento é adotada quando os recursos técnicos e/ou financeiros são muito limitados. Como já foi apresentado, vários métodos simples e baratos das análises clínicas contribuem com relevância variável para a conclusão do diagnóstico. Sendo assim, se deveria evitar a adoção do diagnóstico terapêutico para os casos de hemoparasitose, contribuindo de forma mais circunstancial e documental para a evolução dos conhecimentos acerca dessas enfermidades. Não obstante, em inúmeros casos, o clínico se atém unicamente à trombocitopenia como único achado hematológico. Isso talvez se manifeste devido ao fato de as manifestações clínicas gerais serem, muitas vezes, inespecíficas (Prado et al, 2019).

O tratamento é feito a base de antimicrobianos, sendo os mesmos fármacos utilizados para outras protozoonoses e riquetsioses, como babesiose e erliquiose (França, 2010). Os fármacos mais utilizados são a doxiciclina, dipropionato de imidocarb e aceturato de diminazeno (Jericó et al, 2015). A doxiciclina está presente em todos os protocolos terapêuticos. A doxiciclina é utilizada em hemoparasitoses com sucesso, embora não elimine completamente o agente do organismo, reduz a parasitemia, amenizando as manifestações clínicas e possivelmente mantendo níveis de anticorpos, a fim de prevenir nova infecção (Dias & Ferreira, 2016). O aceturato de diminazeno não é prescrito no Brasil devido a sua toxicidade. O dipropionato de imidocarb é a droga de escolha para o tratamento de babesiose, embora também possua potencial hepatotóxico e nefrotóxico, por acumular resíduo por longos períodos nesses órgãos (Alberti et al, 2018). Essa toxicidade ao ser informada ao tutor faz com que por muitas vezes, ocorra um receio na aplicação de tal protocolo terapêutico.

4. Considerações Finais

Baseado no caso atendido e na literatura consultada foi possível concluir que a etiologia e a epidemiologia das hemoparasitoses constituem dois elementos de complexidade, relativamente, subestimada por grande parte dos clínicos veterinários. Uma vez que a identificação correta da espécie de hematozoário envolvida na infecção do paciente é um dos elementos-chave para a obtenção de uma intervenção terapêutica bem sucedida, o desenvolvimento e a adoção de métodos diagnósticos mais sensíveis e específicos são necessários. Em adição, a adesão do tutor é fundamental, já que esses métodos diagnósticos demandam um maior investimento financeiro do tutor no processo clínico investigativo. A adequada instauração terapêutica, além de resultar em maiores índices de sucesso, também pode ser mais econômica e expõe o paciente a menores riscos decorrentes da toxicidade medicamentosa. Tanto o maior número de relatos de experiência, como mais trabalhos científicos de desenvolvimento tecnológico poderão contribuir de forma significativa para o melhor entendimento, bem como, prevenção e controle da enfermidade.

Referências

- Alberti, T. D. S., Stumm, G. K. F., Zamboni, R., da Rosa, C. S., & Bonel, J. (2018). Dissecting lobular hepatitis in a canine after administration of imidocarb dipropionate. *Ciência Animal*, 28(2), 113-119.
- Andrade, S. F. (2008). *Manual de Terapêutica Veterinária-Terceira Edição*. Editora Roca.
- Chauvin, A., Moreau, E., Bonnet, S., Plantard, O., & Malandrin, L. (2009). *Babesia* and its hosts: adaptation to long-lasting interactions as a way to achieve efficient transmission. *Veterinary research*, 40(2), 1-18.
- CORRÊA, A. A. R., Nascimento, M. V., Faria, L. S., Bissoli, D. A., & Pena, S. B. (2005). Babesiose Canina: relato de caso. *Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária, FAEF-Garça/SP, ano, 3*, 167-171.
- Dias, V. A. C. M., & Ferreira, F. L. A. (2016). Babesiose canina: Revisão. *Pubvet*, 10, 873-945.

- Duarte, S. C., Parente, J. A., Pereira, M., Soares, C. M. D. A., & Linhares, G. F. C. (2011). Phylogenetic characterization of *Babesia canis vogeli* in dogs in the state of Goiás, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 20, 274-280.
- Eiras, D. F., Craviotto, M. B., Baneth, G., & Moré, G. (2014). First report of *Rangelia vitalii* infection (canine rangelirosis) in Argentina. *Parasitology International*, 63(5), 729-734.
- Estrela, C. (2018). *Metodologia científica: ciência, ensino, pesquisa*. Artes Médicas.
- Furuta, P. I., Oliveira, T. M. F. D. S., Teixeira, M. C. A., Rocha, A. G., Machado, R. Z., & Tinucci-Costa, M. (2009). Comparison between a soluble antigen-based ELISA and IFAT in detecting antibodies against *Babesia canis* in dogs. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 18, 41-45.
- Jericó, M. M., Kogika, M. M., & de Andrade Neto, J. P. (2015). *Tratado de medicina interna de cães e gatos*. Grupo Gen-Guanabara Koogan.
- Lemos, T. D., Cerqueira, A. D. M. F., Toma, H. K., Silva, A. V. D., Corrêa, R. G. B., Paludo, G. R., Massard, C. L., & Almosny, N. R. P. (2012). Detection and molecular characterization of piroplasms species from naturally infected dogs in southeast Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 21, 137-142.
- Lemos, T. D., Toma, H. K., Assad, R. Q., Silva, A. V. D., Corrêa, R. G. B., & Almosny, N. R. P. (2017). Clinical and hematological evaluation of *Rangelia vitalii*-naturally infected dogs in southeastern Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 26, 307-313.
- Ludke, M., & André, M. (1986). Pesquisa em educação: abordagens qualitativas. *Em Aberto*, 5(31).
- Mongruel, A. C. B., Ikeda, P., Sousa, K. C. M. D., Benevenuto, J. L., Falbo, M. K., Machado, R. Z., Carrasco, A. O. T., André, M. R., & Seki, M. C. (2018). Molecular detection of vector borne pathogens in anemic and thrombocytopenic dogs in southern Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 27, 505-513.
- Pereira, A. S., Shitsuka, D. M., Parreira, F. J., & Shitsuka, R. (2018). *Metodologia da pesquisa científica*. (pp. 3-9). UFSM. https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/15824/Lic_Computacao_Metodologia-Pesquisa-Cientifica.pdf.
- Prado, L. G., Sene, R. V., de Medeiros, E. C., do Nascimento, L. M., & de Faria, A. B. F. (2019). Hemoparasitas e bactérias hemotrópicas observadas por microscopia direta em amostras de sangue periférico de cães em uma clínica particular no município de Lorena, São Paulo, Brasil. *Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP*, 17(3), 16-20.
- Santos, F. B. D., Gazeta, G. S., Correa, L. L., Lobão, L. F., Palmer, J. P., Dib, L. V., Damasceno, J. A. L., Moura-Martiniano, N. O., Bastos, O. M. P., Uchôa, C. M. A., & Barbosa, A. D. S. (2020). Molecular evaluation of piroplasms and hematological changes in canine blood stored in a clinical laboratory in Niterói, Rio de Janeiro. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 29.
- Silva, B. R. D., Ferreira, M. D. F. K., Maffezzoli, G., Koch, M. D. O., Beltrame, O. C., Taques, I. I. G. G., Campos, A. N. S., Aguiar, D.M., & Dittrich, R. L. (2018). Detection molecular of *Rangelia vitalii* in dogs from Parana State, Southern Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 28, 310-313.
- Soares, J. F., Carvalho, L., Maya, L., Dutra, F., Venzal, J. M., & Labruna, M. B. (2015). Molecular detection of *Rangelia vitalii* in domestic dogs from Uruguay. *Veterinary parasitology*, 210(1-2), 98-101.
- Soares, J. F., Costa, F. B., Giroto-Soares, A., Da Silva, A. S., França, R. T., Taniwaki, S. A., Dall'Agnob, B., Reck, J., Hagiwara, M. K., & Labruna, M. B. (2018). Evaluation of the vector competence of six ixodid tick species for *Rangelia vitalii* (Apicomplexa, Piroplasmorida), the agent of canine rangelirosis. *Ticks and tick-borne diseases*, 9(5), 1221-1234.
- Spolidorio, M. G., Torres, M. D. M., Campos, W. N. D. S., Melo, A. L. T., Igarashi, M., Amude, A. M., Labruna, M.B., & Aguiar, D. M. (2011). Molecular detection of *Hepatozoon canis* and *Babesia canis vogeli* in domestic dogs from Cuiabá, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 20(3), 253-255.
- Yin, R. K. (2015). *Estudo de caso: planejamento e métodos*. Porto Alegre.