

Universidade Federal de Uberlândia  
Instituto de Ciências Biomédicas  
Programa de Pós-Graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas

**INFECÇÃO POR *HEPATOZOON* sp. EM CÃES DA ÁREA URBANA  
DO MUNICÍPIO DE UBERLÂNDIA, MINAS GERAIS, BRASIL**

Paula Virgínia Gomes

Uberlândia  
Março - 2010

Universidade Federal de Uberlândia  
Instituto de Ciências Biomédicas  
Programa de Pós-Graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas

Dissertação apresentada ao  
Colegiado do Programa de  
Pós – Graduação em  
Imunologia e Parasitologia  
Aplicadas como requisito  
parcial a obtenção do título  
de Mestre

Paula Virgínia Gomes

Aluna

Prof<sup>ª</sup>.Dr.<sup>ª</sup> Márcia Cristina Cury

Orientadora

Uberlândia

Março - 2010

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

---

G633i Gomes, Paula Virgínia, 19-

Infecção por *Hepatozoon* sp. em cães da área urbana do município de Uberlândia, Minas Gerais, Brasil [manuscrito] / Paula Virgínia Gomes. - 2010.

77 f. : il.

Orientadora: Márcia Cristina Cury.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas.

Inclui bibliografia.

1. Doenças transmissíveis em animais - Teses. 2. Cão - Doenças - Teses. 3. Carrapato - Teses. I. Cury, Márcia Cristina. II. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas. III. Título.

CDU:

619:616.9

---

## **Agradecimientos**

Primeiramente agradeço a Deus por esta conquista, pois sem Ele nada disso teria acontecido.

Aos meus pais que sempre me apoiaram e souberam o meu valor.

Ao meu esposo, pela compreensão, paciência e amor. Por estar ao meu lado durante esses anos me incentivando e apoiando em todos os momentos.

À minha orientadora Profa. Dra. Márcia Cristina Cury, que não só me orientou, mas também se tornou uma grande amiga, meu muito obrigado.

Aos colegas de curso com quem dividi vários momentos de descontração e aprendizado.

Ao prof. Dr. Antonio Vicente Mundim, que autorizou a realização de parte do meu estudo no Laboratório de Patologia Clínica onde é o responsável.

Ao médico veterinário Dr. Diego Fernando de Ávila, pela ajuda que foi imprescindível na realização da parte prática do estudo.

Aos técnicos do Laboratório de Patologia Clínica do Hospital Veterinário da UFU, Sebastião e Felipe, que muito me ajudaram tirando várias de minhas dúvidas na leitura das lâminas.

Aos funcionários da secretaria da Pós Graduação Lucélia e Lucileide por todo apoio dado.

Ao prof. Dr. Ednaldo Carvalho Guimarães que me orientou na análise estatística dos resultados do presente estudo.

À minha cunhada e amiga Nathalie que muito me ajudou na correção da dissertação.

Ao CNPQ pela bolsa concedida que foi imprescindível nos meus estudos.

À coordenação do Hospital Veterinário da UFU, veterinários e proprietários de clínicas veterinárias de Uberlândia pelo apoio ao trabalho, autorizando a pesquisa em seus estabelecimentos.

A associação Protetora dos Animais que autorizou a coleta de sangue de seus cães.

A todos aqueles que de alguma forma participaram direta ou indiretamente deste trabalho, meu muito obrigado.

## **Lista de Figuras**

**FIGURA 1.** Gametócito de *Hepatozoon* sp. observado em lâmina de extensão sanguínea corada pelo método de May-Grunwald-Giemsa de cão procedente da área urbana de Uberlândia - MG.

Pag. 38



## **Lista de Tabelas**

**TABELA 1.** Ocorrência do *Hepatozoon* sp. em cães naturalmente infectados de três diferentes procedências da área urbana de Uberlândia – MG, pesquisadas de agosto de 2008 a junho de 2009.

Pág. 38

**TABELA 2.** Ocorrência de *Hepatozoon* sp. em cães naturalmente infectados em associação com outros hematozoários, Uberlândia-MG, de agosto de 2008 a junho de 2009.

Pág. 38

**TABELA 3.** Ocorrência de *Hepatozoon* sp. em cães naturalmente infectados procedentes do Hospital Veterinário e clínica particular da área urbana de Uberlândia-MG, de acordo com a faixa etária, pesquisadas de agosto de 2008 a junho de 2009.

Pág. 39

**TABELA 4.** Ocorrência de *Hepatozoon* sp. em cães naturalmente infectados procedentes da APA localizada na área urbana de Uberlândia- MG, em relação ao estágio da vida, pesquisadas de agosto de 2008 a junho de 2009.

Pág 40

**TABELA 5.** Ocorrência de *Hepatozoon* sp. em cães naturalmente infectados na área urbana de Uberlândia- MG, em relação ao gênero, pesquisadas de agosto de 2008 a junho de 2009.

Pág. 40

**TABELA 6.** Ocorrência de *Hepatozoon* sp. em cães naturalmente infectados na área urbana de Uberlândia- MG, de acordo com a raça, pesquisadas de agosto de 2008 a junho de 2009.

Pág. 41

**TABELA 7.** Principais alterações clínicas observadas através do exame físico geral nos cães naturalmente infectados por *Hepatozoon* sp. procedentes do Hospital Veterinário na área urbana de Uberlândia-MG, de agosto de 2008 a junho de 2009.

Pág. 42

**TABELA 8.** Alterações clínicas observadas em animais naturalmente infectados por *Hepatozoon* sp. procedentes da APA na área urbana de Uberlândia-MG, de agosto de 2008 a junho de 2009.

Pág. 42

**TABELA 9.** Principais sintomas relatados pelos proprietários dos animais positivos para *Hepatozoon* sp. procedentes do Hospital Veterinário e clínica particular, da área urbana de Uberlândia-MG, de agosto de 2008 a junho de 2009.

Pág. 43

**TABELA 10.** Locais de acesso dos animais positivos para *Hepatozoon* sp. procedentes do Hospital Veterinário e clínica particular, da área urbana de Uberlândia-MG.

Pág. 44

**TABELA 11.** Comparação das extensões sanguíneas realizadas com sangue venoso e capilar para detecção de *Hepatozoon* sp. em cães naturalmente infectados de áreas urbanas de Uberlândia-MG, pesquisadas de agosto de 2008 a junho de 2009

Pág. 45

**TABELA 12.** Frequência de carrapatos encontrados em cães nas três diferentes procedências da área urbana de Uberlândia - MG, pesquisadas de agosto de 2008 a junho de 2009.

Pág. 48

**TABELA 13.** Comparação entre infestação por carrapatos *Rhipicephalus sanguineus* e animais positivos para *Hepatozoon* spp. de áreas urbanas de Uberlândia-MG, pesquisadas de agosto de 2008 a junho de 2009. Pág. 49

## **Lista de Gráficos**

**GRÁFICO 1** - Nível de parasitemia determinada em 200 neutrófilos/monócitos em extensão de sangue capilar e venoso dos animais positivos para *Hepatozoon* sp. procedentes do Hospital Veterinário (1-6) e clínica particular (7), da área urbana de Uberlândia- MG, de agosto de 2008 a junho de 2009. HV= Hospital Veterinário; CP= Clínica particular.

Pág. 46

**GRÁFICO 2** - Nível de parasitemia determinada em 200 neutrófilos/monócitos em extensão de sangue capilar e venoso dos animais positivos para *Hepatozoon* sp. procedentes da APA, na área urbana de Uberlândia- MG, de agosto de 2008 a junho de 2009.

Pág. 47

## **Lista de Abreviaturas**

**%** Por cento (porcentagem)

**°C** Graus Celsius

**Nº** Número

**mL** Mililitro

**$\chi^2$**  Qui quadrado

**EDTA K3** Ácido Etilenodiaminotetracético sal tripotássico

**MGG** May Grunwald – Giemsa

**RIFI** Reação de Imunofluorescência Indireta

**ELISA** Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

**PCR** Reação em Cadeia da Plimerase

**APA** Associação Protetora dos Animais

**FAMEV** Faculdade de Medicina Veterinária

**UFU** Universidade Federal de Uberlândia

**HV** Hospital Veterinário

**CP** Clínica Particular

**CEUA** Comitê de Ética para Utilização Animal

## **Sumário**



## Sumário:

<b>Resumo</b>	18
<b>Abstract</b>	20
<b>1 – Introdução</b>	22
<b>2 – Objetivos</b>	30
2.1 – Geral	31
2.2 – Específicos	31
<b>3 – Material e Métodos</b>	32
3.1 – Área onde foi realizado o estudo	33
3.2 – Animais do estudo	33
3.3 - Coleta de sangue e preparo das extensões sanguíneas	34
3.4 – Identificação e análise da hemolinfa em carrapatos	35
3.5 – Comitê de Ética para Utilização Animal	35
3.6 – Análise estatística	35
<b>4 – Resultados</b>	36
4.1 - Caracterização dos animais de estudo	37
4.2 - Ocorrência de <i>Hepatozoon</i> sp.	37
4.3 – Caracterização dos animais positivos	49
4.3.1- Análise do questionário aplicado aos proprietários	43
4.4 - Comparação entre metodologias de coleta sanguínea	44
4.5 - Avaliação do nível de parasitemia nas extensões sanguíneas positivas para <i>Hepatozoon</i> spp.	46
4.6 - Análise quanto à presença de carrapatos	48
<b>5 – Discussão</b>	50
<b>6 – Conclusão</b>	57
<b>7 – Referências Bibliográficas</b>	59
<b>8 – Anexos</b>	70
8.1 – Anexo I	71
8.2 – Anexo II	72
8.3 – Anexo III	77



A hepatozoonose é doença que acomete cães sendo transmitida pela ingestão de carrapatos infectados com oocisto de *Hepatozoon* sp. Esse estudo foi realizado para determinar a ocorrência da infecção na área urbana do município de Uberlândia, Minas Gerais, Brasil, pelo método da extensão sanguínea, bem como comparar a melhor metodologia de coleta para o diagnóstico, determinar o nível de parasitemia nas extensões e associar a infecção a características comportamentais e clínicas. Foram coletadas, de cada animal, amostras de sangue capilar e venoso sendo essas utilizadas para confecção de extensões sanguíneas coradas pelo método de May Grunwald–Giemsa para pesquisa de gametócitos de *Hepatozoon* sp. Questionários epidemiológicos foram aplicados aos responsáveis pelos animais com intuito de se obter dados sobre idade, sexo, raça, bem como aspectos comportamentais e clínicos. Foi realizado exame de inspeção em cada animal, a fim de se verificar presença de carrapatos sendo esses coletados e identificados em relação à espécie. Esfregaços da hemolinfa dos carrapatos foram preparados e corados pelo método de May Grunwald-Giemsa, para análise da possível presença de oocistos. Do total de animais que participaram do estudo, 120 eram procedentes do Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia, 80 de clínicas particulares e 100 da Associação Protetora dos Animais (APA). A ocorrência de *Hepatozoon* sp. foi de 7,66% e não se observou diferença estatisticamente significativa entre o diagnóstico feito pela extensão confeccionada com sangue capilar e venoso. O nível de parasitemia nas extensões variou de 0,5 a 10%. Entre os animais procedentes do Hospital Veterinário e clínicas particulares, a faixa etária com maior ocorrência da infecção foi de zero a um ano, porém, na APA, observou-se que 93,75% dos animais com a infecção eram adultos. Do total de animais, 10% de fêmeas e 4,16% de machos eram positivos ( $p>0,05$ ) e 12,57 % dos mestiços e 2,12 % dos animais de raças puras apresentavam a infecção ( $p<0,05$ ). Aumento da frequência cardíaca, mucosas oral e nasal hipocoradas, linfonodos aumentados, secreção ocular, sensibilidade renal, esplenomegalia, diarreia, obstipação, hiporexia e perda de peso foram os principais sinais e sintomas apresentados pelos animais. Todos os carrapatos coletados eram *Rhipicephalus sanguineus*, e nenhuma forma evolutiva do parasito foi encontrada na hemolinfa dos ixodídeos. Os achados deste estudo reforçam a presença do *Hepatozoon* sp. infectando cães de Uberlândia, MG, podendo estar a idade e raça relacionadas a infecção. Os sintomas apresentados pelos animais foram compatíveis aos relatados por outros pesquisadores.

## **Abstract**

Hepatozoonosis is a disease that affects dogs and it is transmitted by the ingestion of infected ticks with the oocyst of the *Hepatozoon* sp.. This study was held in order to determine the occurrence of this parasite in the urban area of the city of Uberlândia, Minas Gerais, Brazil, using the blood smear, to compare the best collecting methodology for the diagnosis, to determine the level of parasitaemia in the smears and also to associate the infection to behavioral and clinical features. Peripheral and circulating blood were collected from each animal and they were used to make blood smears using the May Grunwald-Giemsa method for gametocyte research of *Hepatozoon* sp.. Epidemiological questionnaires were applied to those responsible for the animals in order to obtain data about age, sex, breed, as well as behavioral and clinical aspects. An inspection exam was held to verify the presence of ticks and they were collected and identified according to their species. Hemolymph smears from the ticks were prepared using the May Grunwald-Giemsa method and analysed for the possible presence of oocysts. From all the animals that participated in the study, 120 were from the Hospital School of the Faculty of Veterinary Medicine of the Federal University of Uberlândia, 80 from private clinics and 100 from the Animal Protection Association (APA). The *Hepatozoon* sp. Occurrence was of 7,66% and there was not a significant statistic difference between the diagnosis made by smears collected from peripheral and circulating blood. The level of parasitaemia on the smears varied from 0,5 to 10%. Among the animals that were from the Veterinary Hospital and private clinics, the largest infection occurrence was between the ages of 0 and 1, however, at APA, 21,43% of the infected animals were adults. Of all the animals, 10% of the female ones and 4,16 % of the male ones were positives ( $p > 0,05$ ) and 12,57% from an undefined breed and 2,12 % purebred were infected ( $p < 0,05$ ). The main symptoms presented by the animals were the increase of heart frequency, pale mucosae, enlarged lymphnodes and spleen, ocular secretion, renal sensitivity, diarrhea, constipation, anorexia and weight loss. All collected ticks were from the species *Rhipicephalus sanguinus* and it was not found any evolutionary form of the parasite in the hemolymph of the ixodids. The findings of this study reinforce the presence of the *Hepatozoon* sp. infecting dogs from Uberlândia, Minas Gerais, while age and race may be related to the infection. The symptoms presented by the animals were compatible to those found by other researchers.

## **1 - Introdução**

Hemoparasitos que acometem cães domésticos são transmitidos por carrapatos, possuindo, muitas vezes, significativa importância em saúde pública. Dentre essas parasitoses se destacam a erliquiose, babesiose, anaplasmose, bartonelose, rickettsioses e a hepatozoonose (YABSLEY et al., 2008).

O gênero *Hepatozoon* compreende protozoários pertencentes ao filo Apicomplexa; classe Sporozoa; sub classe Coccidia; ordem Eucoccidiida; sub ordem Adeleina e família Hepatozoidae (BARTA, 1989; SIDDALL, 1995; SMITH, 1996), sendo descrito em várias regiões de todo o mundo (ALMOSNY et al., 2002; KARAGENC et al., 2006; MUNDIM et al., 2008).

A primeira espécie desse gênero foi descrita na Índia em células polimorfonucleares de cães por Bentley em 1905, sendo posteriormente observada por James (1905) no sangue periférico de seis cães neste mesmo ano. O parasito localizava-se no citoplasma de leucócitos e, por acreditar que se tratava de uma nova espécie, denominou-o de *Leucocytozoon canis*. Miller (1908) denominou o gênero *Hepatozoon* para parasitos de neutrófilos de ratos, que se multiplicavam por merogonia no fígado do hospedeiro vertebrado e apresentavam ciclo esporogônico em ácaros. Wenyon (1910), revendo as observações de Bentley e James, sugeriu que o nome genérico *Leucocytozoon* fosse substituído por *Hepatozoon* e, a partir de então, o parasito passou a ser denominado *Hepatozoon canis*.

Mais de 300 espécies de *Hepatozoon* parasitam animais, sendo 46 infectando mamíferos, 120 infectando répteis e o restante em pássaros e anfíbios (SMITH et al., 1994). Para o *H. canis* ou espécies indeterminadas, porém, intimamente relacionadas, além de infectar cães, têm sido relatadas em coiotes e felídeos nos Estados Unidos (MERCER; CRAIG, 1988), leões africanos no sul da África (AVERBECK et al., 1990) e gatos domésticos na Índia, Nigéria, sul da África, Estados Unidos e Israel (BANETH et al., 1995).

Gametócitos de *Hepatozoon* isolados de cães de diferentes regiões geográficas são morfolologicamente similares e, até 1997, acreditava-se que a hepatozoonose canina era causada por uma única espécie, o *H. canis* (BANETH et al., 2003). A hepatozoonose encontrada nos EUA, por produzir características clínicas diferentes e mais graves, era considerada como uma cepa patogênica de *H. canis* (CRAIG et al., 1978). Entretanto, pela caracterização molecular, pesquisas posteriores revelaram que cães são infectados por duas espécies, *Hepatozoon canis* e *Hepatozoon americanum* (BANETH et al., 2000). Análises de sequências parciais do gene 18S rRNA revelaram uma diferença pareada, entre *H. canis* e *H. americanum*, de 50 em 368 pares de bases (13,59%). A distância genética observada entre as duas espécies foi consistente com a separação observada em estudos anteriores (VINCENT-

JOHNSON et al. 1997). Desta forma, ficou estabelecido que a espécie de *Hepatozoon* que infecta cães nos Estados Unidos é o *H. americanum* e, em outras regiões do mundo como Ásia, África, sul e leste europeu, Japão, Malásia, América do Sul e Filipinas é o *H. canis*. (BANETH et al., 2003; OYAMADA et al., 2005; EIRAS et al., 2007; LITTLE et al., 2009). Além das características genéticas dos isolados de *Hepatozoon*, a patologia, sinais clínicos, características antigênicas, espécies de carrapatos vetores e o ciclo de vida são diferentes em ambas as espécies (BANETH et al., 2000; MATHEW et al., 2000).

As espécies do gênero *Hepatozoon* são protozoários heteroxênicos que apresentam ciclo evolutivo típico dos coccídios, os quais a fase sexuada e de esporulação ocorre nos hospedeiros invertebrados, tais como mosquitos, ácaros e carrapatos; e a de esquizogonia e gametogonia, nos vertebrados (BANETH et al., 2007).

No início do século XX, a espécie *H. canis* foi estudada tanto no cão quanto no hospedeiro invertebrado, sendo caracterizados o ciclo biológico e o vetor (CHRISTOPHERS, 1906, 1907, 1912). Christophers (1907) identificou o carrapato *Rhipicephalus sanguineus* como hospedeiro invertebrado dessa espécie. Porém, a transmissão desse agente, também, foi conseguida a partir de *Amblyomma ovale* por Forlano et al. (2005) e Rubini et al. (2009).

Os carrapatos se infectam ao ingerirem sangue de cães contendo gamontes no interior de neutrófilos ou monócitos. No tubo digestivo do vetor ocorre a fusão dos gametas com a posterior formação do oocineto. Esse, como tem motilidade, atravessa a parede intestinal atingindo a hemocele, onde se desenvolve chegando a oocisto. O oocisto, quando maduro, passa a apresentar de 30 a 50 esporocistos, cada um contendo cerca de 16 esporozoítos que quando ingeridos darão continuidade ao ciclo. A formação dos oocistos se completa em dois estágios subseqüentes, isto é, se a ninfa se infecta, a transmissão ocorre no estágio adulto. O oocisto permanece na hemocele do carrapato e não há migração de esporozoítos para a glândula salivar (CHRISTOPHERS, 1906, 1907, 1912; BANETH et al., 1995; BANETH et al., 2007).

Os cães se infectam comumente pela ingestão de carrapatos contendo em sua hemocele oocistos esporulados. O modo de ingestão do carrapato pelos cães não foi documentado, mas acredita-se que esteja relacionado ao processo de lambadura do pêlo ou que o carrapato, em ambiente de cães altamente infestados, caia no alimento, sendo então ingerido com o mesmo (BANETH et al., 2003).

Nos cães, esse protozoário apresenta uma fase tecidual e uma fase sanguínea. Após a ingestão do carrapato vetor, os esporozoítos liberados dos oocistos penetram na parede intestinal e são transportados por via sanguínea até o baço, linfonodos, fígado, medula óssea,



pulmões e músculos. Nesses locais se multiplicam formando dois tipos distintos de esquizontes, um contendo macromerozoítos e outro micromerozoítos. Os micromerozoítos darão origem aos gamontes após penetrarem nos neutrófilos, enquanto os macromerozoítos continuam o ciclo esquizogônico. Em *H. canis*, esquizontes são observados, principalmente, nos órgãos parenquimatosos, sendo raramente encontrados na musculatura (ALMOSNY et al., 2002; BANETH et al., 2003).

Além da transmissão horizontal por carrapatos, foi comprovada também a transmissão congênita em cães. Murata et al. (1993a) relataram a ocorrência da transmissão vertical em seis ninhadas, com 23 dos 29 cães neonatos (79,3%) apresentando gamontes e merontes tissulares do 16º ao 60º dia após o nascimento. As cadelas eram positivas para *H. canis* e os filhotes nasceram e foram mantidos livres de carrapatos, confirmando assim a transmissão congênita.

Alguns hospedeiros intermediários mamíferos podem abrigar cistozoítos nos seus tecidos (DESSER, 1990). Desser (1990) encontrou formas císticas em esquilos infectados com *Hepatozoon griseisciuri*, sugerindo que cistozoítos poderiam ser importante modo de transmissão do *Hepatozoon* sp. para mamíferos. Johnson et al. (2008) demonstraram que roedores podem servir como hospedeiros paratênicos de *H. americanum*, sendo uma potencial fonte de infecção para canídeos. Cistos teciduais de *Hepatozoon* sp. que infectam répteis também foram associados com a transmissão do parasito para seus predadores (SMITH et al., 1994).

No Brasil, os relatos do parasito, em sua maioria, estão associados a diagnósticos ocasionais durante exames laboratoriais de rotina não fornecendo uma idéia sobre a real ocorrência da infecção, já que alguns animais infectados, aparentemente sadios no momento do exame, podem desenvolver sintomatologia clínica posteriormente (MUNDIM et al., 1994, 2002; O'DWYER et al., 1997; GONDIM et al., 1998).

Estudos existentes sobre a prevalência do parasito no Brasil e no mundo mencionam que essa pode variar em relação à região geográfica e condições de criação dos animais (MASSARD, 1979; O'DWYER et al., 2001; RUBINI et al., 2008; SPOLIDORIO et al., 2009). A maioria dos estudos relata a prevalência do parasito em cães de áreas rurais, sendo os de áreas urbanas em menor proporção. Contudo, em estudos epidemiológicos utilizando extensões sanguíneas como método de diagnóstico, foi observado por Massard (1979) e confirmado por Rubini et al. (2008), que a infecção ocorre com mais frequência em cães de áreas rurais do que em cães de áreas urbanas. Pesquisas realizadas por O'Dwyer et al. (2001) e Spolidorio et al. (2009), em áreas rurais, demonstraram prevalências superiores às relatadas nas áreas urbanas (O'DWYER et al., 2004).

Estudos retrospectivos reportados por Gondim et al. (1998) em Botucatu, entre os anos de 1993 a 1994 e por Mundim et al. (2008) em Uberlândia, entre os anos de 1995 a 2005,

baseados em fichas clínicas de animais atendidos em Hospital Veterinário, mostraram que apenas oito e 115 cães foram positivos, respectivamente, nas duas localidades.

No mundo, a prevalência dessa parasitose foi relatada na Turquia, Croácia e Israel, variando de um a 25,8% (BANETH et al., 1996; EZEOKOLI et al., 1983; KARAGENC et al., 2006; VOJTA et al., 2009).

No Brasil existem poucos estudos sobre a infecção em cães, sendo que ainda existem divergências quanto à patogenicidade desse parasita. Cães com hepatozoonose apresentam sintomas muito inespecíficos, ocorrendo desde casos assintomáticos a sintomáticos (MUNDIM et al., 2002). Entretanto, pode-se suspeitar da doença quando os animais apresentarem febre, anorexia, perda de peso, palidez de mucosas, corrimento ocular e fraqueza dos membros posteriores (BANETH et al., 1998). Outros sinais podem ser observados, como hiperestesia muscular, letargia, dificuldade de locomoção e diarreia, às vezes sanguinolenta (MUNDIM et al., 2002; ALLEN et al., 2008; LITTLE et al., 2009; SAKUMA et al., 2009).

A doença pode se manifestar de forma aguda, a qual pode evoluir para a morte em uma semana; forma crônica, com maior variedade de sinais clínicos; e a forma subclínica ou inaparente, a mais comum, ocorrendo em 70% a 80% dos animais infectados (MUNDIM et al., 2002).

Marchetti et al. (2009), na Itália, relataram um caso grave de hepatozoonose canina, causada pelo *H. canis*, em que o animal apresentava, além dos sintomas acima citados, reação periosteal localizada, possível osteomielite e anormalidades neurológicas.

A infecção de animais assintomáticos está comumente associada com nível baixo de parasitemia (1-5% de neutrófilos infectados). A doença grave é observada em cães com alta parasitemia, infectando aproximadamente 100% dos neutrófilos do sangue periférico. Altos níveis de parasitemia são frequentemente acompanhados por extrema neutrofilia. Esses cães com leucocitose e alta parasitemia podem ter grande número de parasitos circulante, chegando a 50.000 gamontes por  $\mu\text{L}$  de sangue (BANETH et al., 2003).

De acordo com Baneth et al. (2003) e Voyvoda et al. (2004) a maciça parasitemia reflete o elevado número de merontes teciduais, o que leva a maior demanda de nutrientes pelo hospedeiro, causando lesões teciduais diretas, perda de peso e caquexia. Além disso, imunossupressão induzida por outros agentes infecciosos como erliquiose, babesiose, dirofilariose, cinomose, leishmaniose, demodicose, haemobartonelose, toxoplasmose entre outras, ou quimioterápicos, interferem na capacidade de resistir à infecção por *H. canis*

(MUNDIM et al., 2002; ALLEN et al., 2009; SAKUMA et al., 2009; SPOLIDORIO et al., 2009).

Baneth et al. (2007) observaram sinais clínicos em cães infectados experimentalmente, e relataram que cães jovens tiveram rápida disseminação sistêmica da infecção. Os autores concluíram que a idade é fator predisponente, pois, o sistema imune ainda imaturo não é capaz de defender os cães da doença. Comentaram, também, que os sinais clínicos observados poderiam estar associados à alta dose de inóculo administrado, haja vista que em condições naturais os cães estariam, provavelmente, expostos a menor número de esporozoítos.

Dentre as alterações hematológicas na infecção por *H. canis* se destacam anemia arregenerativa, neutrofilia e trombocitopenia (EIRAS et al., 2007; SAKUMA et al., 2009), e nos exames bioquímicos, a hipoalbuminemia, hiperglobulinemia, aumento das enzimas fosfatase alcalina e creatina quinase séricas são as mais frequentemente encontradas (BANETH et al., 1995, BANETH; WEIGLER, 1997; SAKUMA et al., 2009).

Na América do norte, o *H. americanum* é agente etiológico da hepatozoonose canina e parasita leucócitos e tecidos musculares, induzindo a grave miosite (VICENT- JOHNSON et al, 1997). Essa espécie foi descrita pela primeira vez no Texas em 1978, porém, a distribuição geográfica dessa doença se expandiu e surgiram numerosos casos em Louisiana, Alabama, Geórgia, Oklahoma, Flórida e Tennessee. (CUMMINGS et al., 2005).

Em contraste com a doença branda causada por *H. canis*, as infecções por *H. americanum* são extremamente debilitantes e frequentemente fatais (PANCIERA et al., 1997; VINCENT-JOHNSON, et al., 1997; EWING; PANCIERA, 2003).

Gamontes de *H. americanum* são encontrados nos leucócitos circulantes de cães infectados. Evidências em microscopia eletrônica e imunohistoquímica indicam que as células hospedeiras para esse parasito são monócitos mais do que neutrófilos, sendo os últimos considerados as células hospedeiras principais para *H. canis*. Segundo Murata et al. (1993b), os leucócitos parasitados são monócitos ou neutrófilos que perderam suas características típicas. A merogonia do *H. americanum* ocorre primariamente entre as fibras dos músculos estriados (CUMMINGS, 2001; EWING; PANCIERA, 2003).

Trabalhos apontam ser o *Amblyomma maculatum* o principal hospedeiro definitivo para o parasito (EWING; PANCIERA, 2003; CUMMINGS et al., 2005; JOHNSON et al., 2008) enquanto os ixodídeos *R. sanguineos*, *Dermatocentor variabilis* e o *Amblyomma americanum*, inoculados experimentalmente, foram refratários à infecção (EWING; PACIERA, 2003).

Os principais sintomas apresentados por cães infectados com *H. americanum* são febre, dores generalizadas, mialgia, hipotrofia muscular, descarga ocular mucopurulenta depressão e relutância em deambular. (EWING; PANCIERA, 2003; LITTLE et al., 2009).

Em relação ao diagnóstico das hepatozoonoses, a observação de gametócitos no interior de leucócitos em extensões sanguíneas é método diagnóstico de rotina nos laboratórios para a detecção da infecção causada pelo *H. canis* (ALMOSNY et al., 2002; GONEN et al., 2004; EIRAS et al., 2007). Gametócitos são encontrados no citoplasma de neutrófilos e raramente em monócitos, sendo de formato elipsóide e medindo aproximadamente  $11\mu\text{m} \times 4\mu\text{m}$ . Merontes são detectados pela citologia e histopatologia de órgãos hemolinfáticos infectados (GONEN et al., 2004). Entretanto, a análise morfológica dos mesmos não possibilita a diferenciação das diferentes espécies de *Hepatozoon* existentes, pois a morfologia dos gametócitos encontrados pode variar em função da espécie hospedeira e também da espécie de *Hepatozoon* encontrada (WANER et al., 1994).

Na hepatozoonose causada pelo *H. americanum*, o animal apresenta profunda neutrofilia, porém não se observam parasitos nos leucócitos. Devido a isso, o diagnóstico deve ser complementado com exame histológico (CRAIG; JONES; NORDGREN, 1984), sendo baseado na detecção de patógenos pela biópsia da musculatura esquelética (CRAIG, JONES, NORDGREN, 1984).

O uso de testes sorológicos para a detecção de anticorpos anti-*Hepatozoon* em cães crônicos com aparasitemia ou com baixa parasitemia, pode ser benéfico, uma vez que a detecção de parasitos pelo esfregaço se torna difícil nesses casos. A sorologia é também eficiente nos casos em que o estágio de infecção é recente, quando os sinais clínicos são suspeitos, mas não se observa parasitemia (SHKAP et al., 1994; BANETH et al., 1998; MATHEW et al., 2001).

A reação de imunofluorescência indireta (RIFI) tem sido usada em estudos epidemiológicos em Israel (BANETH et al., 1997) e Turquia (KARANGENC et al., 2006). O ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) utilizando antígenos de esporozoítos derivados de carrapatos *A. maculatum*, tem sido utilizado para detecção de anticorpos contra *H. americanum* e *H. canis* (GONEN et al., 2004).

A RIFI detecta anticorpos reativos com antígenos do parasito fora da membrana, enquanto o ELISA detecta anticorpos de antígenos solúveis totais do parasito (GONEN et al., 2004).

Recentemente, a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) e análise de sequências têm sido utilizadas para diagnóstico da infecção e especificação dos isolados, respectivamente

(INOKUMA et al., 2002; RUBINI et al., 2005; SAKUMA et al., 2009). A principal vantagem do uso de técnicas moleculares é a alta sensibilidade e especificidade para a detecção dos alvos patogênicos, tanto em sangue periférico, quanto em vetores artrópodes (INOKUMA et al., 2002; CRIADO-FORNELIO et al., 2003; RUBINI et al., 2005).

Baseado no que foi exposto, a hepatozoonose canina, doença transmitida por carrapatos, possui caráter cosmopolita. Atualmente, vem adquirindo grande importância na Medicina Veterinária como infecção emergente, já que se observa aumento de casos no cotidiano das clínicas.

Apesar dos avanços nos estudos sobre o parasito e a doença, existem dúvidas sobre o comportamento em relação à biologia, patogenia, epidemiologia, sintomatologia e diagnóstico.

Em Minas Gerais, especificamente em Uberlândia, apesar da presença de cães parasitados e com manifestações clínicas da doença, os trabalhos envolvendo o *Hepatozoon* sp. são escassos devido ao caráter ocasional dos diagnósticos no momento do exame clínico e /ou laboratorial. Deve-se ressaltar que a doença muitas vezes não é diagnosticada, passando despercebida por estar associada a outras doenças mais estudadas e, portanto, de maior conhecimento clínico.

Baseado nisso, faz-se necessário estudos que procurem elucidar alguns questionamentos existentes em torno do *Hepatozoon* sp., visando dar ao clínico veterinário, na sua rotina diária, maior conhecimento sobre as características comportamentais do parasito, melhorando a confiabilidade do diagnóstico e auxiliando na profilaxia e possível tratamento.

## **2 - Objetivos**

## 2.1 - GERAL

- Determinar a ocorrência do *Hepatozoon* sp. utilizando o método de extensão sanguínea em cães naturalmente infectados procedentes da área urbana de Uberlândia, Minas Gerais.

## 2.2 – ESPECÍFICOS

- Comparar os animais positivos com as diferentes procedências dos mesmos (Hospital Veterinário, Associação Protetora dos Animais (APA) e clínicas particulares);
- Associar a positividade com outras hemoparasitoses concomitantes;
- Associar a positividade com idade, sexo, raça e hábitos dos cães;
- Avaliar clinicamente o animal, fazendo paralelo entre a positividade e os sinais clínicos encontrados;
- Comparar a melhor metodologia de coleta (sangue capilar e sangue venoso) para o diagnóstico da doença;
- Determinar o nível de parasitemia nas extensões sanguíneas;
- Verificar a presença de carrapatos, correlacionando a espécie do carrapato à infecção nos cães;
- Identificar os oocistos do *Hepatozoon* presentes na hemocele dos carrapatos.

## **3 - Material e Métodos**



### **3.1 – Área onde foi realizado o estudo**

O estudo foi realizado na cidade de Uberlândia, Estado de Minas Gerais, localizada na macrorregião do Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba, situada em latitude 18° 56' 38" e longitude 48° 18' 39". A cidade apresenta unidade territorial total de 4.115,09 Km<sup>2</sup>, clima semitropical com invernos secos e verões chuvosos apresentando temperatura média de 23°C e índice pluviométrico de 1576,80 mm.

### **3.2 – Animais do estudo**

No período compreendido entre agosto de 2008 a junho de 2009, foram avaliados 300 cães procedentes da área urbana do município de Uberlândia, sendo 120 (40%) procedentes do atendimento no Hospital Veterinário, 80 (26,7%) de clínicas particulares e 100 (33,3%) da APA, por esta estar localizada no perímetro urbano e abrigar cães errantes capturados em via pública. O número de animais foi estabelecido a partir de dados de outras pesquisas realizadas em regiões do Brasil. Após realizado o presente estudo e verificada a ocorrência da infecção, calculou-se o erro da estimativa da proporção (Vieira, 2008) chegando-se ao resultado de 0,09% demonstrando que o erro era baixo e a amostra suficiente.

No Hospital Veterinário e clínicas particulares os animais foram divididos em quatro faixas etárias sendo essas entre zero e um ano, de um a dois anos, entre dois e oito anos e acima de oito anos de idade. Devido à dificuldade de se estimar a idade exata dos cães procedentes da APA, esses foram divididos em filhotes e adultos baseado no padrão de dentição descrito por Dyce et al. (1996).

Independente do motivo, todos os animais atendidos no Hospital Veterinário e clínicas particulares foram submetidos a exame clínico completo, realizado pelo médico veterinário responsável pelo plantão. Foi aferida temperatura corporal, frequência cardíaca e respiratória, observada a coloração das mucosas oral e nasal, realizada palpação de linfonodos, baço, fígado e rins, seguindo critérios semiológicos de exame e de contenção. Nos cães da APA, o exame clínico foi realizado pela pesquisadora, médica veterinária, e, devido às dificuldades existentes na estrutura do local, somente observação da coloração das mucosas e palpação de linfonodos, baço, fígado e rins, foram realizadas.

Durante o contato e atendimento dos animais, os proprietários foram informados sobre o objetivo e a execução da pesquisa, fornecendo o consentimento (Anexo I) para a coleta das amostras de sangue.

As informações sobre idade, gênero, raça e sinais clínicos apresentados pelos animais, foram registrados em protocolo individual.

Visando relacionar a infecção com alguns dados, foi elaborado questionário investigativo direcionado aos proprietários dos animais atendidos no Hospital Veterinário e clínicas particulares, contendo perguntas relacionadas a hábitos e padrão de moradia dos cães, sintomas apresentados relatados pelos proprietários, contato com outros animais e se os mesmos conviviam e dividiam o mesmo ambiente (Anexo II).

### **3.3- Coleta de sangue e preparo de extensões sanguíneas**

De cada cão foram coletadas amostras sanguíneas dos vasos marginais da orelha utilizando-se agulhas descartáveis, sendo as extensões sanguíneas confeccionadas imediatamente após a coleta. Também foram obtidos dois mililitros (mL) de sangue pela venipunção da cefálica ou radial, usando tubos a vácuo estéreis (Vacutainer), previamente identificados e contendo como anticoagulante 0,1 mL de ácido etilenodiaminotetracético sal tripotássico (EDTA K<sub>3</sub>) em solução a 10%. O sangue foi homogeneizado e uma gota da amostra foi depositada em lâmina para a confecção das extensões sanguíneas. Foram confeccionadas uma extensão de sangue capilar e uma extensão de sangue venoso de cada animal.

As extensões foram fixadas e coradas pelo método de May Grunwald–Giemsa (MGG) como descrito por Ferreira Neto et al. (1982) no qual foi depositado sobre a lâmina o fixador May Gruenwald deixando-o agir por três minutos para a sua fixação. Logo em seguida, foi colocada igual quantidade de água destilada deixando-a agir por dois minutos. O líquido foi então derramado e, com o auxílio de uma pipeta, foi colocado o corante Giemsa na seguinte diluição: uma gota de corante para 1mL de água destilada, deixando-o agir por 15 a 30 minutos. Após esses procedimentos, as lâminas foram lavadas em água e secadas em temperatura ambiente e observadas em microscopia de luz com objetiva de 100x para determinação da positividade para o *Hepatozoon* sp. e outros hemoparasitos, quando encontrados.

O nível de parasitemia foi determinado diretamente nas extensões, onde foram contados neutrófilos e monócitos parasitados por gametócitos de *Hepatozoon* sp. em um total de 200 leucócitos. As extensões foram analisadas por duas pessoas treinadas, na tentativa de dar maior fidedignidade aos resultados.

Todo procedimento foi realizado no Laboratório de Patologia Clínica do Hospital Veterinário da FAMEV-UFU.

### **3.4 - Identificação e análise da hemolinfa em carrapatos**

No momento da consulta e/ou da coleta das amostras sanguíneas, foi realizado exame de inspeção, a fim de se verificar presença de carrapatos. Nos cães que apresentavam infestação, os ectoparasitos foram coletados, procurando-se obter as formas evolutivas adultas. Os carrapatos foram colocados em frascos identificados com o número do animal e levados para o laboratório de Parasitologia da UFU. A identificação em relação ao gênero e/ou espécie, foi realizada com base na chave dicotômica, desenvolvida por Aragão e Fonseca (1961).

Após a identificação, o Capitulo de cada carrapato foi removido e o Idiossoma foi levemente comprimido para forçar a saída da hemolinfa. Para a análise da possível presença de oocistos, esfregaços dessa hemolinfa foram preparados e corados pelo método de May Grunwald-Giemsa como descrito anteriormente e examinados em microscopia de luz em objetiva de 100x (Baneth et al., 2001). Para cada carrapato foram confeccionadas duas lâminas, sendo essas analisadas por duas pessoas treinadas, na tentativa de dar maior fidedignidade aos resultados.

### **3.5 - Comitê de Ética para Utilização Animal**

O projeto foi enviado ao Comitê de Ética para Utilização Animal (CEUA) e aprovado, estando registrado sob protocolo nº 038/08 (Anexo III).

### **3.6 - Análise estatística**

Para análise da ocorrência da infecção e de dados como idade, gênero e raça bem como características comportamentais relacionadas à parasitose, foi utilizado o teste não paramétrico Binomial considerando nível de significância de 5%. Na associação de duas proporções foi utilizado o teste Qui-quadrado com nível de significância de 5%. Para as variáveis correspondentes aos sinais clínicos e sintomas foi utilizada a estatística descritiva. As análises foram realizadas pelo programa BIO ESTAT 4.0 (AYRES et al., 2005).

## **4 – Resultados**

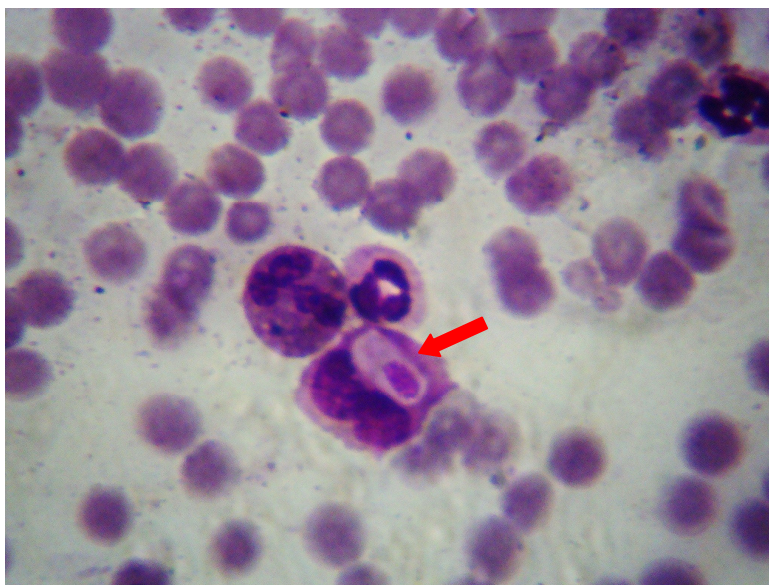
#### 4.1- Caracterização dos animais de estudo

Dentre os animais procedentes do Hospital Veterinário e clínicas particulares que participaram do estudo, 47 (23,5%) tinham entre zero e um ano, 18 (9%) entre um e dois anos, 83 (41,5%) entre dois e oito anos e 52 (26%) acima de oito anos de idade. Em relação aos animais da APA, 30 (30%) eram filhotes e 70 (70%) adultos.

Do total de animais que participaram do estudo, 180 (60%) eram fêmeas e 120 (40%) machos. Em relação à raça, 159 animais (53%) eram mestiços e 141 (47%) de raças, tais como Beagle, Border Collie, Boxer, Buldog Inglês, Bull Terrier, Chihuahua, Chow Chow, Coker Spaniel, Dachshund, Doberman, Fila, Labrador, Lhasa Apso, Maltês, Pastor Alemão, Pinscher, Pitt Bull, Poodle, Pug, Rottweiler, Shinauzer, Shitzu e York Shire.

#### 4.2 - Ocorrência de *Hepatozoon* sp.

Do total de animais que participaram do estudo (n = 300), 23 (7,66%) foram positivos para *Hepatozoon* sp. pela observação de gametócitos no interior de monócitos e neutrófilos, utilizando-se a técnica de extensão sanguínea. (Figura 1).



**FIGURA 1.** Gametócito de *Hepatozoon* sp. observado em lâmina de extensão sanguínea corada pelo método de May-Grunwald-Giemsa de cão procedente da área urbana de Uberlândia - MG.

Dentre os animais avaliados procedentes do Hospital Veterinário (n = 120), Clínicas particulares (n = 80) e APA (n = 100), seis animais (5,00%), um (1,25%) e 16 (16,00%) foram positivos para *Hepatozoon* sp. respectivamente. A análise estatística apontou diferença significativa entre os animais positivos da APA em relação aos animais do Hospital Veterinário e clínica particular ( $p < 0,05$ ), como mostrado na tabela 1.

**TABELA 1.** Ocorrência do *Hepatozoon* sp. em cães naturalmente infectados de três diferentes procedências da área urbana de Uberlândia – MG, pesquisadas de agosto de 2008 a junho de 2009.

<b>Procedência</b>	<b>Nº de animais pesquisados</b>	<b>Positivos para <i>Hepatozoon</i> sp.</b>	<b>%</b>
Hospital Veterinário	120	6 <sup>(a)</sup>	5,00
Clínica particular	80	1 <sup>(a)</sup>	1,25
APA	100	16 <sup>(b)</sup>	16,00
Total	300	23	7,66

Letras minúsculas diferentes na coluna indicam diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ). Teste da Binomial

Na análise das extensões sanguíneas dos 23 animais positivos para *Hepatozoon* sp., em oito (34,79%) foram encontrados outros hemoparasitos, tais como *Ehrlichia* sp. e *Babesia* sp.. (Tabela 2).

**TABELA 2.** Ocorrência de *Hepatozoon* sp. em cães naturalmente infectados em associação com outros hematozoários, Uberlândia-MG, de agosto de 2008 a junho de 2009.

<b>Hemoparasitos</b>	<b>Nº de animais positivos</b>	<b>%</b>
<i>Hepatozoon</i> sp.	15 <sup>(a)</sup>	65,21
<i>Hepatozoon</i> sp. + outros hemoparasitos	8 <sup>(b)</sup>	34,79
Total	23	100

Letras minúsculas diferentes na coluna indicam diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ). Teste da Binomial.

### 4.3 – Caracterização dos animais positivos

Dentre os animais positivos procedentes do Hospital Veterinário e Clínicas particulares (n=7), a faixa etária com maior prevalência foi de zero a um ano, totalizando quatro animais (8,51%). Observou-se diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) entre os cães na faixa etária de zero a um ano quando comparados a faixa etária de um a dois anos e dois a oito anos. Não se observou diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre os animais de zero a um ano em relação aos cães acima de oito anos como mostra a tabela 3.

**TABELA 3.** Ocorrência de *Hepatozoon* sp. em cães naturalmente infectados procedentes do Hospital Veterinário e clínica particular da área urbana de Uberlândia- MG, de acordo com a faixa etária, pesquisadas de agosto de 2008 a junho de 2009.

<b>Faixa etária</b>	<b>Nº de animais avaliados</b>	<b>Nº de animais infectados</b>	<b>%</b>
0 – 1	47	4 <sup>(a)</sup>	8,51
1 – 2	18	0 <sup>(b)</sup>	0
2 – 8	83	1 <sup>(c)</sup>	1,20
> 8	52	2 <sup>(ac)</sup>	3,84
Total	200	7	3,50

Letras minúsculas diferentes na coluna indicam diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ). Teste da Binomial.

Dos 16 cães infectados procedentes da APA, um (3,33%) era filhote e 15 (21,43%) eram adultos. Os resultados mostraram diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) entre os dois grupos avaliados. (Tabela 4).

**TABELA 4.** Ocorrência de *Hepatozoon* sp. em cães naturalmente infectados procedentes da APA localizada na área urbana de Uberlândia- MG, em relação ao estágio da vida, pesquisadas de agosto de 2008 a junho de 2009.

<b>Estágio da vida</b>	<b>Nº de animais avaliados</b>	<b>Nº de animais Infectados</b>	<b>%</b>
Filhote	30	1 <sup>(a)</sup>	3,33
Adulto	70	15 <sup>(b)</sup>	21,43
Total	100	16	16

Letras minúsculas diferentes na coluna indicam diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ). Teste binomial  $p = 0,0237$

Em relação ao gênero dos animais positivos para *Hepatozoon* sp., 18 (10%) eram fêmeas e 5 (4,16%) machos, não havendo diferença estatisticamente significativa na comparação ( $p > 0,05$ ). (Tabela 5).

**TABELA 5.** Ocorrência de *Hepatozoon* sp. em cães naturalmente infectados na área urbana de Uberlândia- MG, em relação ao gênero, pesquisadas de agosto de 2008 a junho de 2009.

<b>Gênero</b>	<b>Nº de animais avaliados</b>	<b>Nº de infectados</b>	<b>%</b>
Fêmea	180	18 <sup>(a)</sup>	10,00
Macho	120	5 <sup>(a)</sup>	4,16
Total	300	23	7,66

Teste da binomial  $p=0,0628$



Como mostra a tabela 6, dentre os animais mestiços (n = 159) e de raças (n = 141) avaliados, 20 (12,57%) e três (2,12%) foram positivos para *Hepatozoon* sp. respectivamente, sendo observada diferença estatisticamente significante na comparação dos dois grupos (p < 0,05).

**TABELA 6.** Ocorrência de *Hepatozoon* sp. em cães naturalmente infectados na área urbana de Uberlândia- MG, de acordo com a raça, pesquisadas de agosto de 2008 a junho de 2009.

<b>Raça</b>	<b>Nº de animais avaliados</b>	<b>Número de animais infectados por <i>Hepatozoon</i> sp.</b>	<b>(%)</b>
SRD	159	20 <sup>(a)</sup>	12,57
Raças (Pinscher, Pit Bull e Border Collie)	141	3 <sup>(b)</sup>	2,12
Total	300	23	7,66

Letras minúsculas diferentes na coluna indicam diferença estatística significativa (p< 0,05).  
Teste da Binomial

Todos os animais procedentes do Hospital Veterinário e clínicas particulares foram avaliados pelo exame físico geral.

As principais alterações observadas foram aumento da frequência cardíaca, mucosas oral e nasal hipocoradas, linfonodos submandibulares, pré escapulares e poplíteos aumentados, secreção ocular serosa, sensibilidade renal e esplenomegalia (Tabela 7).

**TABELA 7-** Principais alterações clínicas observadas pelo exame físico geral nos cães naturalmente infectados por *Hepatozoon* sp. procedentes do Hospital Veterinário e clínicas particulares na área urbana de Uberlândia-MG, de agosto de 2008 a junho de 2009.

<b>Alterações observadas na avaliação clínica</b>	<b>Número de animais</b>	<b>(%)</b>
Aumento da frequência cardíaca	1	14,28
Mucosas hipocoradas	3	42,85
Linfonodos aumentados	2	28,57
Secreção ocular	1	14,28
Sensibilidade renal	3	42,85
Esplenomegalia	1	14,28

Em relação aos animais procedentes da APA, as principais alterações clínicas observadas foram mucosas orais e oculares hipocoradas, linfonodos submandibulares e poplíteos aumentados, secreção ocular serosa, secreções nasais e esplenomegalia (Tabela 8).

**TABELA 8.** Principais alterações clínicas observadas em animais naturalmente infectados por *Hepatozoon* sp. procedentes da APA na área urbana de Uberlândia-MG, de agosto de 2008 a junho de 2009.

<b>Alterações observadas na avaliação clínica</b>	<b>Número de animais</b>	<b>(%)</b>
Mucosas hipocoradas	7	43,75
Aumento dos linfonodos	9	56,25
Secreção ocular	5	31,25
Secreção nasal	2	12,5
Esplenomegalia	3	18,75

#### 4.3.1- Análise do questionário aplicado aos proprietários

Os proprietários dos sete animais infectados atendidos no Hospital Veterinário e clínica particular relataram alguns sintomas que os animais apresentavam, mas que não foram observados no momento da consulta realizada pelo médico veterinário.

Dentre os sintomas mencionados, um animal (14,28%) apresentou diarreia dois dias anteriores à consulta, um (14,28%) não defecava há três dias, dois (28,57%) apresentavam apetite diminuído, um (14,28%) vômitos e um animal (14,28%) emagrecimento (Tabela 9).

**TABELA 9-** Principais sintomas relatados pelos proprietários dos animais positivos para *Hepatozoon* sp. procedentes do Hospital Veterinário e clínica particular, da área urbana de Uberlândia-MG, de agosto de 2008 a junho de 2009.

<b>Sintomas relatados</b>	<b>Número de animais com os sintomas</b>	<b>(%)</b>
Diarreia	1	14,28
Obstipação intestinal	1	14,28
Apetite diminuído	2	28,57
Vômitos	1	14,28
Emagrecimento	1	14,28

Na tabela 10 estão listados os locais de acesso dos cães infectados por *Hepatozoon* sp. procedentes do Hospital Veterinário e clínica particular.

Como pode ser observado, dentre todos os animais infectados (n = 7), três (42,85%) passeavam frequentemente nas proximidades dos locais onde moravam, entretanto sem acesso

a praças, lotes, fazendas ou chácaras. Três cães (42,85%) tinham passeios freqüentes à rua sem acesso a praças ou lotes, porém, frequentemente eram levados à fazenda. Um animal (14,3%) permanecia somente no domicílio não tendo acesso a nenhum outro local. A análise dos dados não revelou diferença estatisticamente significativa ( $p > 0,05$ ) entre os locais de acesso desses animais.

Todos os animais acima citados moravam em casas e apenas quatro deles tinham contato com outros cães.

**TABELA 10-** Locais de acesso dos animais positivos para *Hepatozoon* sp. procedentes do Hospital Veterinário e clínica particular, da área urbana de Uberlândia-MG.

<b>Acesso dos animais</b>	<b>Número de animais</b>	<b>%</b>
Rua	3 <sup>(a)</sup>	42,85
Rua e fazenda	3 <sup>(a)</sup>	42,85
Nenhum	1 <sup>(a)</sup>	14,3
<b>Total</b>	7 <sup>(a)</sup>	100

Letras minúsculas diferentes nas colunas indicam diferença estatística significativa ( $p < 0,05$ ). Teste da Binomial.

#### **4.4 - Comparação entre metodologias de coleta sanguínea**

Para cada animal, foram realizadas extensões sanguíneas com sangue obtido pela punção venosa e de capilares sanguíneos com intuito de se comparar as metodologias de coleta sanguínea.

Dos 23 cães diagnosticados com *Hepatozoon* sp., nove (3,00%) demonstraram positividade somente pela extensão sanguínea utilizando sangue capilar, dois (0,66%) apenas pelo sangue venoso e 12 (4,00%) foram positivos pelos dois métodos realizados. Não houve diferença estatisticamente significativa entre as duas técnicas empregadas. (Tabela 11)

**TABELA 11.** Comparação das extensões sanguíneas realizadas com sangue venoso e capilar para detecção de *Hepatozoon* sp. em cães naturalmente infectados de áreas urbanas de Uberlândia-MG, pesquisadas de agosto de 2008 a junho de 2009

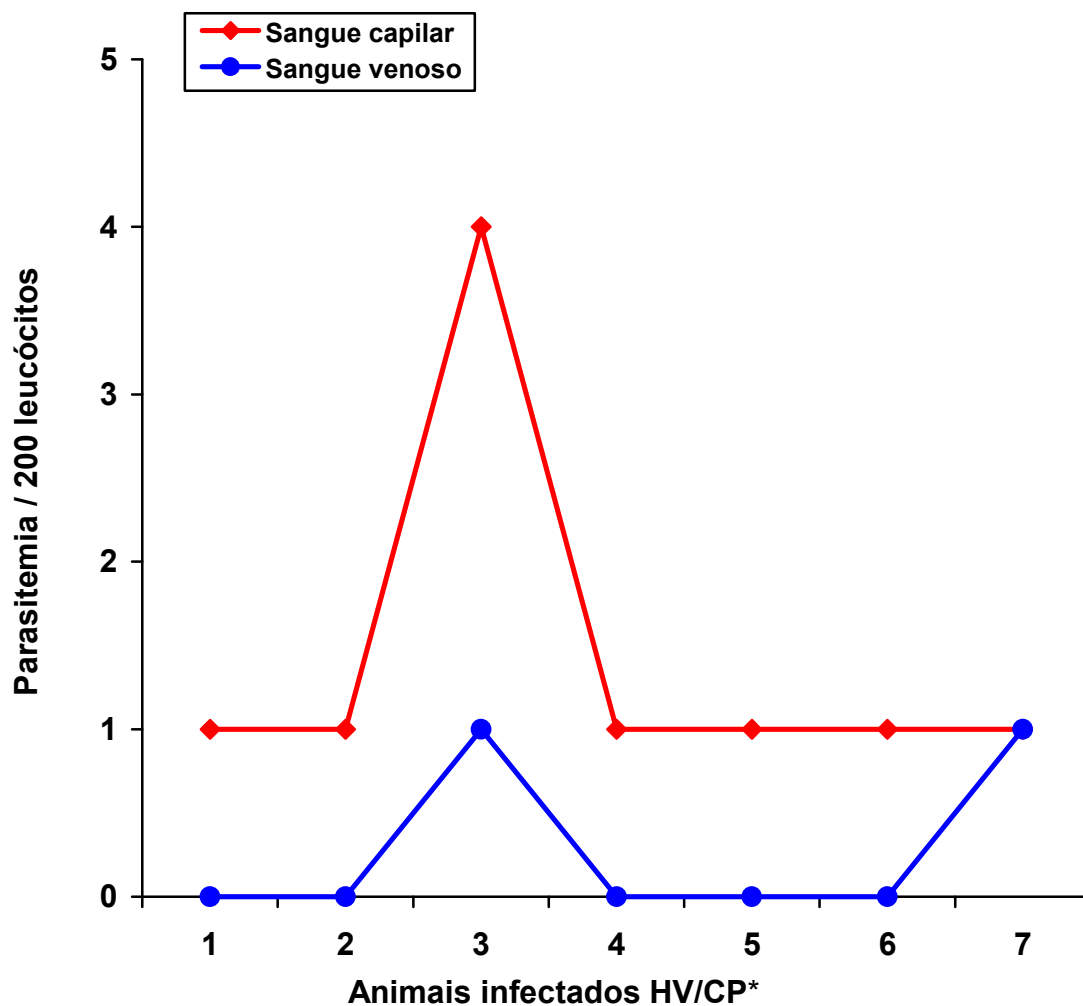
Sangue capilar	Sangue Venoso				Total
	Positivo	(%)	Negativo	(%)	
Positivo	12	4,00	9	3,00	21
Negativo	2	0,66	277	92,33	279
Total	14	4,67	286	95,33	300

Teste da Binomial  $p = 0,2227$

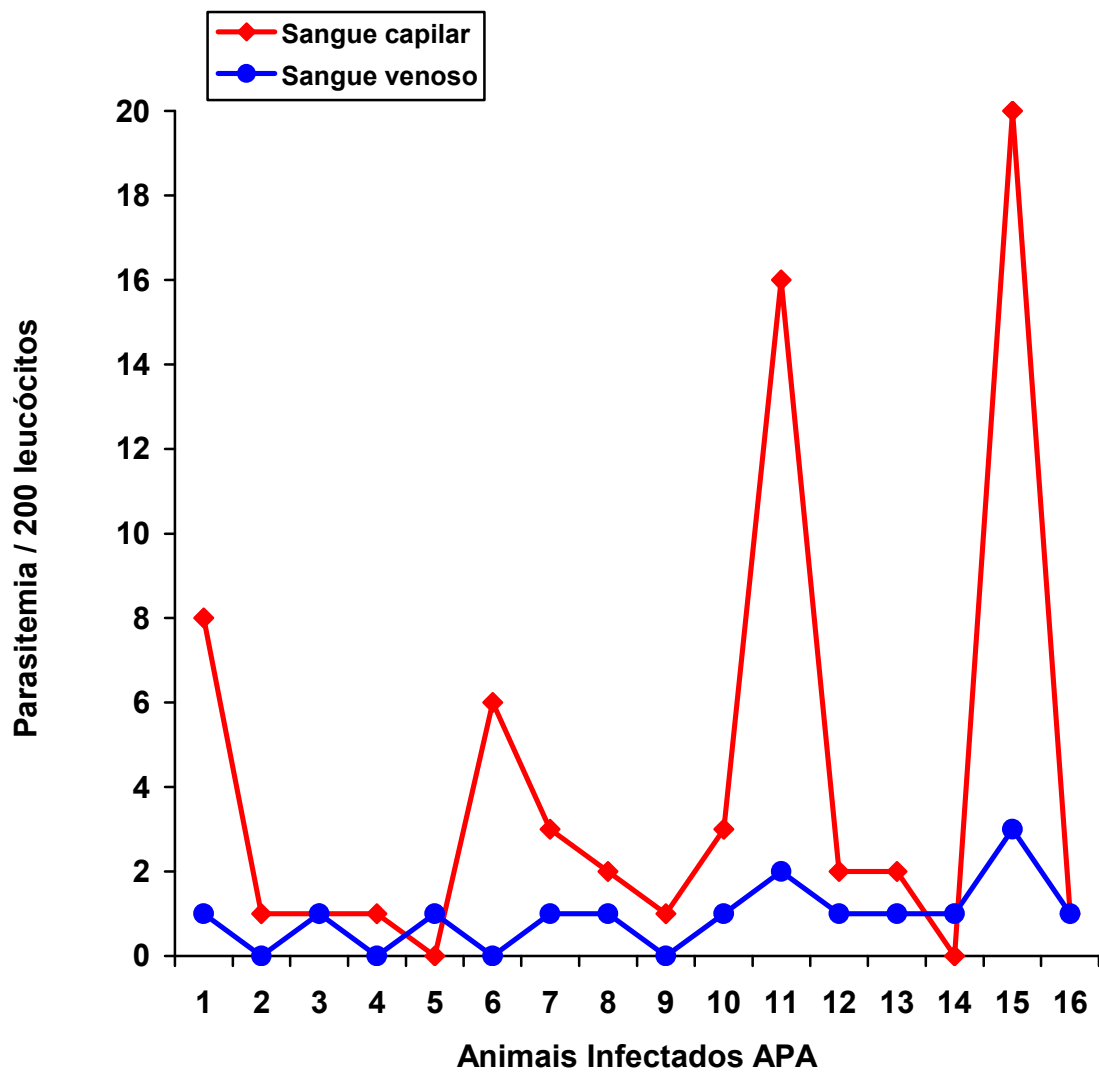
#### 4.5 - Avaliação do nível de parasitemia nas extensões sanguíneas positivas para *Hepatozoon* sp.

Na avaliação do nível de parasitemia das extensões sanguíneas, observou-se que essa variou de um a 20 gametócitos em 200 leucócitos analisados, sendo os maiores níveis encontrados em cães procedentes da APA (Gráficos 1 e 2).

Em 18 animais (78,26%) o nível de parasitemia observado nas extensões confeccionadas com sangue de capilares, foi significativamente maior quando comparado às extensões confeccionadas com sangue venoso ( $p < 0,05$ ). Em dois animais (8,7%), o nível de parasitemia foi maior nas extensões sanguíneas de sangue venoso em relação àquelas de sangue capilar e em três (13,04%), o nível de parasitemia foi igual nos dois tipos de extensões (Gráficos 1 e 2)



**GRÁFICO 1** –Níveis de parasitemia determinadas em 200 neutrófilos/monócitos em extensões de sangue capilar e venoso dos sete animais positivos para *Hepatozoon* sp. procedentes do Hospital Veterinário (cães 1-6) e clínica particular (cão = 7), da área urbana de Uberlândia- MG, de agosto de 2008 a junho de 2009. \*HV= Hospital Veterinário; CP= Clínica particular.



**GRÁFICO 2** – Níveis de parasitemia determinadas em 200 neutrófilos/monócitos em extensões de sangue capilar e venoso, dos 16 animais positivos para *Hepatozoon* sp. procedentes da APA na área urbana de Uberlândia- MG, de agosto de 2008 a junho de 2009.

#### 4.6 - Análise quanto à presença de carrapatos

Os cães que participaram do estudo (n=300) foram avaliados quanto à presença de carrapatos, sendo esses coletados, identificados e analisados para a verificação de formas evolutivas do *Hepatozoon* sp. e de outros hemoparasitos em suas hemocetes.

Em 78 cães (26%) foram encontrados carrapatos, sendo todos da espécie *Rhipicephalus sanguineus*, de acordo com critérios baseados na chave dicotômica desenvolvida por Aragão e Fonseca (1961).

Dentre os animais infestados com carrapato, 19 (15,83%) foram atendidos no Hospital Veterinário, quatro (5,00%) em clínicas particulares e 55 (55,00%) na APA, com diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) (Tabela 12).

**TABELA 12.** Frequência de carrapatos encontrados em cães nas três diferentes procedências da área urbana de Uberlândia - MG, pesquisadas de agosto de 2008 a junho de 2009.

Procedência	Nº animais avaliados	Nº animais infestados (%) por <i>R. sanguineus</i>	
Hospital Veterinário	120	19 <sup>(a)</sup>	15,83
Clínicas Particulares	80	4 <sup>(b)</sup>	5,00
APA	100	55 <sup>(c)</sup>	55,00
Total	300	78	26,00

Letras minúsculas diferentes na linha indicam diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ). Teste da Binomial

Em relação aos animais infectados com *Hepatozoon* sp., 10 (43,5%) tinham carrapatos no momento da coleta das amostras sanguíneas, não evidenciando associação estatisticamente significativa entre os animais positivos para infecção e infestados por *R. sanguineus* (Tabela 13).



**TABELA 13.** Comparação entre infestação por carrapatos *Rhipicephalus sanguineus* e animais positivos para *Hepatozoon* sp. procedentes de áreas urbanas de Uberlândia-MG, pesquisadas de agosto de 2008 a junho de 2009.

<i>R. sanguineus</i>	<i>Hepatozoon</i> sp.				<b>Total</b>
	Animais positivos	(%)	Animais negativos	(%)	
Animais infestados	10	3,30	68	22,70	78
Animais não infestados	13	4,30	209	69,70	222
<b>Total</b>	23	7,60	277	92,40	300

$$\chi^2 = 0,0816$$

Não foram encontradas formas evolutivas do *Hepatozoon* sp. na análise da hemolinfa dos carrapatos coletados.

## **5 - Discussão**

Os aspectos epidemiológicos da hepatozoonose canina dependem de fatores inerentes a cada região geográfica onde o protozoário é observado parasitando os cães. No Brasil, a prevalência da infecção varia em diferentes regiões e estudos mostram que em áreas urbanas essa se encontra em menor proporção quando comparadas a áreas rurais. O parasito, muitas vezes, é diagnosticado ocasionalmente durante exames laboratoriais (MUNDIM et al., 1994; GONDIM et al., 1998).

A presença do *Hepatozoon* sp. nos cães avaliados nesse estudo corrobora com a pesquisa de Mundim et al. (2008), que relataram o parasito na região de Uberlândia em estudo retrospectivo dos anos de 1995 a 2005, em 115 cães que foram diagnosticados laboratorialmente por exames de rotina.

No presente estudo, o número de animais parasitados, foi semelhante ao resultado encontrado por O'Dwyer et al. (2004) em cães da área urbana de outra região brasileira, que encontraram em levantamento de prevalência, 5,9% de cães parasitados, quando utilizado o método de extensão sanguínea.

Apesar de o presente estudo relatar dados de cães de áreas urbanas, a maioria dos trabalhos relata a infecção em animais procedentes de áreas rurais, observando índices de prevalência elevados nessas áreas. O'Dwyer et al. (2001), Rubini et al. (2008) e Spolidorio et al. (2009) demonstraram prevalências de 39,2, 53,3%, e 58,7% respectivamente, nessas áreas.

No mundo, essa parasitose foi detectada, independente da área (urbana ou rural), na Turquia com prevalência de 25,8% (KARAGENC et al., 2006) e Croácia com 11,8% dos cães infectados (VOJTA et al., 2009). Em Israel, a prevalência desse agente variou de 1% (Baneth et al., 1996) a 22% (EZEOKOLI et al., 1983). Em outros países a infecção de cães por *Hepatozoon* sp. também foi relatada no Japão (INOKUMA et al., 2002), Buenos Aires (EIRAS et al., 2007) e Itália (MARCHETTI et al., 2009).

Nas áreas urbanas o parasitismo é menos prevalente, possivelmente, devido ao menor contato dos cães com o vetor e com outros animais de diferentes espécies.

Os achados observados em diferentes pesquisas apresentam resultados variáveis devido à diferença na metodologia de diagnóstico, número amostral, localização geográfica e procedência dos animais (zona rural ou urbana). De acordo com Vincent-Johnson et al. (1997) e Karagenc et al. (2006) o método direto por extensão sanguínea é bom, por ser de fácil execução e baixo custo. Porém, pode levar a resultados falsos negativos pela inexperiência técnica do examinador ou devido ao fato de alguns gametócitos se perderem durante o processamento laboratorial. Paludo et al. (2003) comentaram que a ausência de gametócitos nas extensões sanguíneas pode também ocorrer pelo fato do parasito estar na forma tecidual

no momento da coleta da amostra sanguínea. Nesse estudo foram confeccionadas duas lâminas de cada animal, sendo essas analisadas por duas pessoas diferentes e treinadas, na tentativa de minimizar falsos resultados.

No presente estudo, a ocorrência de cães positivos observada na APA foi maior quando comparada com o Hospital Veterinário e clínicas particulares, possivelmente, pelo grande número de animais no mesmo ambiente e, pela falta de controle das infestações de carrapatos, fatores estes que facilitam a transmissão do ectoparasita de um cão a outro, possibilitando o aumento da infecção pelo *Hepatozoon* sp. (ALMOSNY et al., 2002; BANETH et al., 2003). Resultado semelhante foi encontrado por Paludo et al. (2003), que avaliaram 30 cães de um abrigo localizado na região urbana de Brasília, e observaram que 22 (73,3%) estavam infectados pelo protozoário sugerindo que em Brasília a doença pode ser considerada endêmica. Gal et al. (2007) destacam que fatores ambientais, tais como abrigos de cães, canis e “pet shops” onde se encontram vários animais no mesmo ambiente, podem aumentar a exposição desses animais aos patógenos causando diversas doenças nos mesmos. Deve-se salientar que os animais deste estudo provenientes da APA são cães errantes, que têm, facilmente, acesso à bairros da periferia da cidade onde o contato com animais ou vetores da área rural pode acontecer.

Dentre outras condições que predisõem o desenvolvimento da hepatozoonose, encontra-se a infecção concomitante com outros agentes infecciosos (BANETH; WEIGLER, 1997). *Hepatozoon* sp. é frequentemente encontrado em associação a outras parasitoses, especialmente hematozoários como *Ehrlichia* sp. e *Babesia* sp. (MUNDIM et al., 2002; O'DWYER et al., 2001; YABSLEY et al., 2008). No presente estudo esses hemoparasitos foram encontrados em associação ao *Hepatozoon* sp. De acordo com Mundim et al. (2008), a infecção por *Hepatozoon* sp. associado à *Ehrlichia* e *Babesia* está relacionada à presença do vetor, o carrapato *R. sanguineus*, que também é o transmissor desses hemoparasitos. Mylonakis et al. (2005) afirmaram que *E. canis* e *H. canis* são patógenos do sistema hemolinfático e, apesar da *E. canis* ser usualmente considerada indutora de doença mais grave, torna-se difícil separar as manifestações clínicas entre as parasitoses. Outras parasitoses como dirofilariose, cinomose, leishmaniose, demodicose, haemobartonelose, toxoplasmose, parvovirose e verminoses têm sido detectadas associadas ao *Hepatozoon* sp. ocasionando doença mais grave e às vezes fatal (MUNDIM et al., 2002). Gal et al. (2007) ressaltam que, infecções concomitantes com hemoparasitos ou com *Giardia* spp., *Isospora* spp., e *Diphylidium caninum*, podem agravar a doença, principalmente em animais jovens que não

possuem reserva nutricional para adaptar-se a uma grande carga parasitária, levando a sérias complicações gastrointestinais e hematológicas.

A hepatozoonose pode acometer cães de todas as idades, embora, seja mais prevalente em animais jovens (MUNDIM et al., 1994; MUNDIM et al., 2008). Nesse estudo, em quase todas as faixas etárias foram encontrados animais positivos, com a maior ocorrência nos cães com menos de um ano, sendo esses achados semelhantes aos de Ezeokoli et al. (1983), Mundim et al. (1994), Baneth; Weigler (1997) e O'Dwyer et al. (2001). De acordo com Gal et al. (2007), filhotes possuem um sistema imunológico imaturo, sendo predispostos a infecções pela exposição ambiental e contato com cães adultos parasitados. O'Dwyer et al. (2001) afirmaram que a hepatozoonose é doença de parasitemia intermitente, podendo infectar cães de todas as idades, entretanto, algumas pesquisas encontraram maior ocorrência em animais jovens, possivelmente, porque esses estavam na fase aguda da doença quando maior número de gametócitos podem ser detectados no sangue periférico. Nos cães procedentes da APA, a maior ocorrência da infecção foi observada nos animais adultos (93,75%), sendo, provavelmente, devido ao maior contato entre esses cães que ficam aglomerados, facilitando a transmissão dos ectoparasitos entre eles.

Nessa pesquisa, o sexo não influenciou na infecção, corroborando com Beaufils e Martin-Granel (1988) os quais relataram que a infecção pode ocorrer independente do sexo dos animais. Entretanto, esses resultados não corroboram com Gavazza et al. (2003) e Mundim et al. (2008) os quais encontraram infecção significativamente maior em cães machos. Mundim et al. (2008) comentaram que esse resultado poderia estar relacionado a maior exposição dos machos aos carrapatos, vetores da doença, devido a hábitos comportamentais desses animais.

A raça parece não influenciar para maior predisposição à infecção, embora alguns autores afirmam que a frequência é maior em cães de caça ou guarda, provavelmente devido ao modo de vida, às características comportamentais e maior probabilidade do contato desses animais com o carrapato (MURATA et al., 1993; HERVÁS et al., 1995; MUNDIM et al., 2008). No presente estudo, o maior número de animais com a infecção era mestiço. Esse resultado se deve, provavelmente, pelo fato de que na APA, os cães eram sem raça definida.

Os sinais clínicos observados nos animais infectados neste estudo foram semelhantes aos achados observados por outros autores (BANETH; WEIGLER, 1997; GONDIM et al., 1998; PALUDO et al., 2003; MYLONAKIS et al., 2005, MUNDIM et al., 2008), ocorrendo manifestações clínicas de forma branda, sendo as mais prevalentes, mucosas hipocoradas e aumento dos linfonodos.

De acordo com Baneth et al. (2003), Paludo et al. (2003) e Mundim et al. (2008) os sinais clínicos na doença causada pelo *H. canis* são variáveis, apresentando desde casos assintomáticos, que é a forma mais comum, ocorrendo em 70 a 80% dos animais infectados, até a forma de doença grave. A gravidade da doença está relacionada ao nível de parasitemia e a presença de infecções concomitantes (O'DWYER et al., 2001). Determinadas doenças como a cinomose e ehrlichiose, em associação ao *Hepatozoon* sp., levam à exacerbação dos sinais clínicos devido à imunossupressão (VOYODA et al., 2004). Karagenc et al. (2006) em estudo realizado na Turquia, observaram animais positivos para *H. canis* com parasitemia variando de baixa a alta e relataram que a maioria desses, tiveram a forma assintomática da doença e um pequeno número, com parasitemia em torno de 39%, apresentaram sintomas graves. Os autores afirmaram que os animais com sintomas apresentavam-se infectados com outros patógenos como *Anaplasma platys*, *A. phagocytophilia*, *Ehrlichia canis*, *Babesia canis* e *Leishmania* spp. Baneth et al. (2003) e Voyvoda et al. (2004) relataram que, a alta parasitemia na hepatozoonose, pode estar relacionado ao maior número de merontes teciduais, ocasionando a maior demanda e consumo de nutrientes pelos tecidos do hospedeiro, consequentemente causando lesões musculares, extrema perda de peso e caquexia. De acordo com esses autores, a febre e a dor nesses casos de hepatozoonose, pode ser consequência de uma infiltração de células inflamatórias nos músculos que ocorre quando os merozoítos são liberados dos esquizontes. Em outro estudo, na Itália, Marchetti et al. (2009) relataram a doença em um cão, infectado por *H. canis*, com sintomas típicos da hepatozoonose americana. O animal apresentava além dos sintomas já descritos, atrofia muscular difusa, dor, edema e equimose em membro posterior direito, reação periosteal e fêmur irregular a palpação. De acordo com os autores, lesões no esqueleto e sinais neurológicos não foram descritos anteriormente com a infecção causada pelo *H. canis*, estando esses sintomas relacionados às infecções pelo *H. americanum*, que acomete cães nos Estados Unidos. Deve-se ressaltar que no presente estudo, os achados clínicos observados e o nível de parasitemia condizem com a infecção causada pelo *H. canis*, que é a espécie descrita no Brasil (RUBINI et al., 2008; SPOLIDORIO et al., 2009).

Outros fatores como locais de acesso dos animais e tipo de moradia podem exercer papel fundamental na transmissão do *Hepatozoon* sp. Assim, a transmissão do parasito pode estar relacionada às áreas geográficas e às condições de criação dos cães (O'DWYER et al., 2001). No presente estudo, dentre os animais positivos procedentes do Hospital Veterinário e clínicas particulares, três (42,85%) iam frequentemente à fazenda e todos viviam em casas com quintais. Cães que vão a áreas rurais vivem soltos e têm livre acesso às matas e outros

ambientes, onde diferentes espécies de animais silvestres e domésticos estão presentes. Nestas condições, podem ser infestados por diferentes espécies de carrapatos, podendo ser infectados por diferentes agentes (RUBINI et al., 2008). Deve-se ressaltar que animais que vivem em casas com quintais, quando comparados aos que vivem em apartamentos, correm maior risco de serem parasitados por carrapatos e assim, adquirir doenças transmitidas por eles (SOARES et al., 2006).

A observação de gametócitos no interior de leucócitos em extensões sanguíneas é método diagnóstico de rotina nos laboratórios para a detecção da infecção por *Hepatozoon* sp. (EIRAS et al., 2007). Nesta pesquisa, ambas as extensões utilizando sangue capilar e venoso, foram adequadas para o diagnóstico, porém, nas extensões confeccionadas com sangue de capilares, o nível de parasitemia observado foi maior quando comparado às de sangue venoso, aumentando a probabilidade de encontro do parasito, entretanto, a metodologia realizada com sangue venoso não deve ser descartada. Esses resultados corroboram com os relatados por Paludo et al. (2003) e Rubini et al. (2008). A parasitemia na extensão sanguínea periférica é maior, porém, Rubini et al. (2008) relataram que há maior probabilidade de detecção dos gametócitos pela combinação dos dois tipos de extensões.

O nível de parasitemia nas extensões encontrada neste estudo é consistente com achados de outros autores no Brasil, que relataram parasitemia variando entre 0,5 a 30% (GONDIM et al., 1998; O'DWYER et al., 2001; PALUDO et al., 2003; MUNDIM et al., 2008). O animal com maior nível de parasitemia apresentava 10% de leucócitos parasitados. Mundim et al. (2008), em estudo realizado no município de Uberlândia, observaram um animal com 10% dos leucócitos parasitados caracterizando-o como de média parasitemia. De acordo com Baneth; Weigler (1997), uma alta parasitemia pode ser considerada quando se observa 800 gametócitos de *H. canis*/µl de sangue. Por outro lado, a ausência de parasitemia em extensões sanguíneas não indica ausência de infecção, podendo esses animais serem considerados falsos negativos (EIRAS et al., 2007). Baneth; Weigler (1997) enfatizam o estado temporário de ausência de parasitemia, em que o parasito se alberga nos órgãos viscerais no estágio de meronte.

Vários estudos têm demonstrado as espécies transmissoras da doença (BANETH et al., 2001; FORLANO et al., 2005; RUBINI et al., 2008; RUBINI et al., 2009; SPOLIDORIO et al., 2009). De acordo com Christopher, (1907), Christopher (1912) e Baneth et al., (2007), o carrapato *R. sanguineus* é considerado o vetor biológico responsável pela transmissão do *H. canis*, principalmente em cães de áreas urbanas e periurbanas. Este artrópode é freqüentemente encontrado parasitando os hospedeiros ou sob formas de vida livre, escondido

em frestras e buracos no ambiente onde o cão vive, já que possui hábitos nidícolas (LABRUNA; CAMPOS PEREIRA, 2001). Entretanto, trabalhos experimentais realizados por Forlano et al. (2005) e Rubini et al., (2009) demonstraram que a transmissão da parasitose pode ocorrer também pelo *Amblyomma ovale* em cães procedentes de áreas rurais. No presente estudo, todos os ixodídeos coletados eram da espécie *R. sanguineus*, que é a mais prevalente em áreas urbanas do Brasil. Não foi possível observar associação entre animais infectados com *Hepatozoon* sp. e infestados por carrapatos. O'Dwyer et al. (2001) em um estudo realizado com cães de áreas rurais, no Estado do Rio de Janeiro, constataram que 37,6% dos cães estavam infestados por carrapatos das espécies: *R. sanguineus*, *A. cajennense*, *A. ovale* e *A. aureolatum*. Estes autores relataram associação positiva entre a infestação por *A. cajennense* e as infecções por *H. canis*, levando os autores a sugerirem que carrapatos dessa espécie podem ser vetores potenciais da infecção no Brasil.

Szabó et al. (2001) investigaram a taxa de infestação de carrapatos em cães de áreas urbanas e rurais, na região de Franca, Estado de São Paulo. Os dados mostraram que 27,5% dos cães de áreas urbanas estavam infestados exclusivamente por *R. sanguineus*, e 36,8% dos cães de áreas rurais estavam infestados por carrapatos de diferentes espécies, sendo que em 50% dos casos, a infestação ocorria também por *R. sanguineus*. De acordo com Labruna; Campos Pereira (2001), casos como esses podem ocorrer quando cães de áreas rurais vivem presos ou confinados em áreas cercadas, similares às condições de um ambiente urbano, o que possibilita o estabelecimento de populações de *R. sanguineus*. Baseado nesses estudos pode-se observar que diferentes vetores podem ser transmissores do *Hepatozoon* sp. para cães.

Atualmente, técnicas para pesquisa de oocistos de *Hepatozoon* sp. nos vetores são realizadas a partir da análise da hemolinfa. Nessa pesquisa, não se encontrou oocistos na hemolinfa dos carrapatos, possivelmente em função dos ixodídeos não estarem infectados devido à baixa taxa de infecção nos cães, haja vista que Baneth et al. (2001), utilizando a mesma metodologia empregada no presente estudo, encontrou oocistos em 85% dos carrapatos infectados pelo repasto sanguíneo em um cão com a hepatozoonose, e em 61% dos carrapatos que foram infectados pela injeção percutânea com sangue do mesmo cão, demonstrando ser essa uma boa metodologia para esse fim. Porém, deve-se ressaltar que cães naturalmente infectados apresentam parasitemia diferente de cães experimentalmente inoculados.



## **6 – Conclusão**

Apartir da metodologia utilizada no presente estudo podemos concluir que:

- O *Hepatozoon* sp. está presente infectando cães da área urbana do município de Uberlândia, apesar da ocorrência encontrada ser baixa.
- Outros hemoparasitos como *Ehrlichia* sp. e *Babesia* sp. foram encontrados parasitando os cães em associação ao *Hepatozoon* sp., porém, em menor proporção.
- A idade e a raça dos animais positivos para a parasitose foram associadas à infecção, entretanto, o sexo não apresentou influência.
- As alterações clínicas e sintomas apresentados pelos animais positivos foram compatíveis aos relatados por outros pesquisadores.
- As extensões sanguíneas realizadas com sangue periférico detectaram maiores níveis de parasitemia quando comparadas as extensões de sangue venoso.
- Todos os carrapatos coletados eram da espécie *Rhipicephalus sanguineus*, entretanto, não foram encontradas formas evolutivas do *Hepatozoon* sp. na hemolinfa desses carrapatos.

## **7- Referências Bibliográficas**

ALLEN, K. E.; LI, Y.; KALTEMBOEC, B.; JOHNSON, E. M.; REICHARD, M. V. ; PANCIERA, R. J.; LITTLE, S. E. Diversity of *Hepatozoon* species in naturally infected dogs in the southern United States. **Veterinary Parasitology**. v.154, n. 3/4, p. 220-225, 2008.

ALMOSNY, N. R. P.; MASARD, C. L.; LABARTHE, N. V.; O'DWYER, L. H.; SOUZA A. M.; ALVES, L. C.; SERRÃO, M. L. **Hemoparasitoses em pequenos animais domésticos e como zoonoses**. O gênero *Hepatozoon* (Miller, 1908). 1 ed. Rio de Janeiro: L. F. LIROS, 2002, 135p.

ARAGÃO, H.B.; FONSECA. Notas de Ixodologia. VIII. Lista e chave para os representantes da fauna ixodológica brasileira. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**., v. 59, n. 2, p. 115-130, 1961.

AVERBECK, G. A.; BJORK, K. E.; PACKER, C.; HERBST, L. Prevalence of haematozoans in lions (*Panthera leo*) and chetaah (*Acinonyx jubatus*) on Serenji Natinal Park and Ngorongoro Crater, Tanzânia. **Journal of Wildlife Diseases**. v. 26, n. 3, p. 392-394, 1990.

AYRES, M., AYRES JNIOR, M.; AYRES, D. L.; SANTOS, A. S. Bioestat 4.0: **Aplicações estatísticas nas áreas da ciências biológicas e médicas**. Belém: Sociedade civil Mamirauá, Brasília: CNPq, 2005, 324 p.

BANETH, G.; LAVY, E., PRESENTEY, B. Z.; SHKAP, V. *Hepatozoon* sp. Parasitemia in a domestic cat. **Feline Practice**. v. 23, n. 2, p. 10-12, 1995.

BANETH, G.; SHKAP, V., PRESENTEY, B. Z.; PIPANO, E. *Hepatozoon canis*: the prevalence of antibodies and gametocytes in dogs in Israel. **Veterinary Research Communications**. v. 20, n. 1, p. 41-46, 1996.

BANETH, G; SHAKAP, V; MICHAEL, S; PIPANO, E; SAVITSKY, I. Antibody response to *Hepatozoon canis* in experimentally infected dogs. **Veterinary parasitology**. v. 74, p.300-305, 1997.

- BANETH, G.; WEIGLER, B. Retrospective case-control study of hepatozoonosis in dogs in Israel. **Journal of Veterinary Internal Medicine**. v. 11, n. 3, p. 365-370, 1997.
- BANETH, G.; SHKAP, V.; SAMISH, M.; PIPANO, E.; SAVITSKY J. Antibody response to *Hepatozoon canis* in experimentally infected dogs. **Veterinary Parasitology**. v.74, n. 2/4, p.299-305, 1998.
- BANETH, G.; SHKAP, V.; SAMISH, M.; JAFFE, C. L. Antigenic analysis of gamonts of *Hepatozoon canis* purified from leucocytes. **Journal of Parasitology**. v.86, n. 2, p. 289-294, 2000.
- BANETH, G.; SAMISH, M.; ALEKSEEV, E.; AROCK, I.; SHKAP, V. Transmission of *Hepatozoon canis* to dogs by naturally-fed or percutaneously-injected *Rhipicephalus sanguineus* ticks. **Journal of Parasitology**. v. 87, n.3, p. 606-611, 2001.
- BANETH, G.; MATHEW, J. S.; SHKAP, V.; MACINTIRE, D. K.; BARTA, R. R.; EWING, S. A. Canine hepatozoonosis: two disease syndromes caused by separate *Hepatozoon spp.* **Trends in Parasitology**. v. 19, n. 1, p. 27-31, 2003.
- BANETH, G.; SHKAP, V.; SAMISH, M.; Life cycle of *Hepatozoon canis* (Apicomplexa: Adeleorina: Hepatozoidae) in the tick *Rhipicephalus sanguineus* and domestic dog (*Canis familiaris*). **Journal of Parasitology**. v. 93, n. 2 , p. 283-299, 2007.
- BARTA, J. R. Phylogenetic analysis of the class Sporozoa (Phylum Apicomplexa Levine, 1970): Evidence for the independent evolution of heteroxenous life cycles. **Journal of Parasitology**. v. 75, p.195–206, 1989.
- BEAUFILS, J.P.; MARTIN-GRANEL, J. L'he'patozoonose canine premie`re partie: etude bibliographique. **Prat. Me'd. Chir. l'Anim.Comp.** v. 23, n. 2, p.127–137, 1988.
- BENTLEY, C.A. Preliminary note upon a leucocytozoon of the dog. **British Medical Journal**., v.1, p.1018, 1905.
- CHRISTOPHERS, S.R. *Leucocytozoon canis*. **Scientific Officers of the Medical and Sanitary Departments of the Government of India**, v.26, p.1-18, 1906.

CHRISTOPHERS, S.R. The sexual life of *Leucocytozoon canis* in the tick. **Scientific Officers of the Medical and Sanitary Departments of the Government of India**, v.28, p.1-14, 1907.

CHRISTOPHERS, S.R. The development of *Leucocytozoon canis* in the tick with a reference to the development of *Piroplasma*. **Parasitology**, v.5, p.37-48, 1912.

CRAIG, T. M., SMALLWOOD, J. E., KNAUER, K. W., McGRATH, J. P. *Hepatozoon canis* infection in dogs. Clinical radiographic and hematologic findings. **Journal of the American Veterinary Medical Association**. v.173, p. 967–972, 1978.

CRAIG, T. M.; JONES, L. P.; NORDGREN, R. M. Diagnosis of *Hepatozoon canis* by muscle biopsy. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 20, n. 2, p. 301-303, 1984.

CRÍADO-FORNÉLIO, A.; MARTINEZ-MARCOS, A.; BULING-SARAÑA, A.; BARBACARRETERO, J. C. Molecular studies on *Babesia*, *Theileria* and *Hepatozoon* in Southern Europe- part I: epizootiological aspects. **Vet. Parasitol.** v,113, p. 189-201, 2003.

CUMMINGS, C. A. **A morphologic and immunologic study of American canine Hepatozoonosis**. Oklahoma State University, 2001.

CUMMINGS, C. A.; PANCIERA, R. J.; KOKAN, K. M.; MATHEW, J. S.; EWING, S. A. Characterization of stages of *Hepatozoon americanum* and of parasitized canine host cells. **Veterinary Pathology**, v. 42, n.6, p. 788-796, 2005.

DESSER, S. S. Tissue cysts of *Hepatozoon griseisciuri* in the grey squirrel, *Sciurus carolinensis*: the significance of this cyts in species of *Hepatozoon*. **Journal of Parasitology**, v. 76, n. 2, p. 257-259, 1990.

DYCE, K. M.; SACK, W. O.; WENSING, C. J. G. **Tratado de Anatomia Veterinária**. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, cap. 3, p. 86-89, 1996.

EIRAS, D. F.; BASABE, J.; SCODELLARO, C.F.; BANACH, D. B.; MATOS, M. L.; KRIMER, A.; BANETH, G. First Molecular characterization of canine *Hepatozoon canis* infection in dogs from Buenos Aires. **Veterinary Parasitology**, v. 149, n. 3/4, p. 275-279, 2007.

EWING, S. A.; PANCIERA, R. J. American canine hepatozoonosis. **Clinical Microbiology Reviews**. v.16, n. 4, p. 688-697, 2003.

EZEOKOLI, C. D.; OGUNKOYA, A. B.; ABDULLAHI, R.; TEKDEK, L. B.; SANNUSI, A.; ILEMOBADE, A.A. Clinical and epidemiological studies on canine hepatozoonosis in Zaria, Nigeria. **Journal of Small Animal Practice**, v.24, n. 7, p. 445-460, 1983.

FERREIRA NETO, I. M.; VIANA, E. S.; MAGALHÃES, L. M. **Patologia Clínica Veterinária**. Belo Horizonte: Rabelo, 1981, 293p.

FORLANO, M. D.; SCOFIELD, A.; ELISEI, C.; FERNANDES, K. R.; EWING, S. A.; MASSARD, C. L. Diagnosis of *Hepatozoon* sp. in *Amblyomma ovale* and its experimental transmission in domestic dogs Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 134, n.1/2, p. 1-7, 2005.

GAL, A.; HARRUS, S.; ARCOH, I.; LAVY, E.; AIZENBERG, I.;MEKUZAS-YISASCHAR, Y.; BANETH, G. Coinfection with multiple tick-borne and intestinal parasites in a 6-week-old dog. **Canadian Veterinary Journal**, v.48, p. 619-622, 2007.

GAVAZZA, A.; BIZZETI, M., PAPINI, R. Observations on dogs found naturally infected with *Hepatozoon canis* in Italy. **Revue de Médecine Vétérinaire**. v.154, n. 8/9, p. 565–571, 2003.

GONDIM, L. F. P.; KONAYAGAWA, A.; ALENCAR, N. X.; BIONDO, A. W.; TAKAHIRA, R. F.; FRANCO, S. R. V. Canine hepatozoonosis in Brazil: description of eight naturally occurring cases. **Veterinary Parasitology**, v.74, n. 2-4, p. 319-323, 1998.

GONEN, L.; STRAUS-AYALI, D.; SHKAP, V.; VINCENT-JOHNSON, N.; MANCITIRE, D. K.; BANETH, G. An enzyme-linked immunosorbent assay for antibodies to *Hepatozoon canis*. **Veterinary Parasitology**, v.122, n. 2, p. 131-139, 2004.

HÉRVAS, J.; GÓMEZ-VILLAMONDES, J. C.; MÉNDEZ, A.; SIERRA, M. A.; LARA, F. C. M.; BAUTISTA, M.J.; PÉREZ, J.; CARRASCO, L. Hepatozoonosis canina. **Vet Práxis**, v.10, n. 2, p. 14-18, 1995.

INOKUMA, H.; OKUDA, M.; OHNO, K.; SHIMODA, K.; ONISH, T. Analysis of the 18S nRNA gene sequence of a *Hepatozoon* detected in two Japanese dogs. **Veterinary Parasitology**, v.106, n. 3, p. 265-271, 2002.

JAMES, S. P. On a parasite found in the white corpuscles of the blood of dogs. **Memory by the Officers Medical and Sanitary Departments of the Government of India.**, v. 14, p. 1-12, 1905.

JOHNSON, E. M.; ALLEN, K. E.; BRESHEARS, M. A.; PANCIERA, R. J.; LITTLE, S. E.; EWING, S. A. Experimental transmission of *Hepatozoon americanum* to rodents. **Veterinary Parasitology**, v. 151, n. 2/4, p.164-169, 2008.

KARAGENC, T. I.; PASA, S.; KIRLI, G. HOSGOR, M.; BILGIC, H. B.; OZON, Y. H.; ATASOY, A.; EREN, H. A parasitological, molecular and serological survey of *Hepatozoon canis* in dogs around the Aegean coast of Turkey. **Veterinary Parasitology**, v. 135, n. 2, p. 113-119, 2006.

LABRUNA, M. B.; CAMPOS PEREIRA, M. Carrapato em cães no Brasil. **Clinica Veterinaria**, v.30, p.24-32, 2001.

LITTLE, S. E.; ALLEN, K. E.; JOHNSON, E. M.; PANCIERA, R. J.; REICHARD, M. V.; EWING, S. A. New developments in canine hepatozoonosis in North America: a review. **Parasites and Vectors**. v. 2, p. 1-4. 2009.

MARCHETTI, V.; LUBAS, G.; BANETH, G.; MODENATO, M.; MANCIANTI, F. Hepatozoonosis in a dog with skeletal involvement and meningoencephalomyelitis. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 38, n. 1, p. 121-125, 2009.

MATHEW, J. S.; VAN DEN BUSSCH, R. A.; EWING, S. A.; MALAYER, J. R.; LATHA, B. R.; PANCIERA, R. J. Phylogenetic relationships of *Hepatozoon* (Apicomplexa):



Adeleorina), based on molecular, morphologic and life-cycle characters. **Journal of Parasitology**, v. 86, n. 2, p. 366-372, 2000.

MASSARD, C. A. *Hepatozoon canis* (James, 1905) (Adeleida: Hepatozoidae) em cães do Brasil, com uma revisão do gênero em membros da ordem carnívora. Rio de Janeiro: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 1979. 121p. Dissertação (Mestrado em Parasitologia Veterinária).

MCCULLY, R.M.; BASSOON, P.A.; BIGALKE, R.D.; DE VOS, V.; YOUNG, E. Observations on naturally acquired hepatozoonosis of wild carnivores and dogs in the Republic of South Africa. **Onderstepoort Journal of Veterinary Research**, v.42, n. 4, p.117-134, 1975.

MERCER, S. H.; CRAIG, T. M. Comparison of various staining procedures in the identification of *Hepatozoon canis* gamonts. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 17, n. 3, p. 63-65, 1988.

MILLER, W. W. *Hepatozoon perniciosum* (n.g., sp.): a haemogregarine pathogenic for white rats with description of the sexual cycle in the intermediate host a mite (*Laelapes echidninus*). **Bull. Hyg. Lab. Washington.**, v. 46, p. 7-51, 1908.

MUNDIM, A. V.; MUNDIM, M. J. S.; JENSEN, N. M. P.; ARAUJO, S. F. *Hepatozoon canis*: estudo retrospectivo de 22 casos de infecção natural em Uberlândia, M.G. **R. Cent. Ci. Bioméd. Universidade Federal de Uberlândia**, v. 10, n. 1, p. 89-95, 1994.

MUNDIM, A. V.; MUNDIM, M. J. S.; BARBOSA, F. C. Hepatozoonosis canina. **Veterinária Notícias**, v. 8, n. 2, p. 141-151, 2002.

MUNDIM, A. V.; MORAIS, I. A.; TAVARES, M.; CURY, M. C.; MUNDIM, M. J. S. Clinical and hematological signs associated with dogs naturally infected by *Hepatozoon* sp. and with other hematozoa: A retrospective study in Uberlândia, Minas Gerais, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 153, n. 1/2, p. 3-8, 2008.

MURATA, T.; INOUE, M.; TATEYAMA, S.; TAURA, Y.; NAKAMA, S. Vertical transmission of *Hepatozoon canis* in dogs. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 55 n. 5, p. 867-868, 1993a.

MURATA, T.; INOUE, M.; KANOE, M.; KONO, Y.; ISHIDA, M.; HORIO, M.; SHIMADA, M.; YOKOYAMA, M.; TAURA, Y.; NAKAMA, S. Ultrastructure and cytochemical characteristics of the leukocyte infected with *Hepatozoon canis*. **Journal of Veterinary Medical Science**. v.55, n.6, p.1043-5, 1993.

MYLONAKIS, M. E.; LEONTIDES, L.; GONEN, L.; BILLINIS, C.; KOUTINAS, A. F.; BANETH, G. Anti-*Hepatozoon canis* serum antibodies and gamonts in naturally- occurring canine monocytic ehrlichiosis. **Veterinary Parasitology**, v. 129, n. 4, p. 229-233, 2005.

O'DWYER, L. H.; GUIMARÃES, L.; MASSARD, C. L. Ocorrência de infecção múltipla por *Babesia canis*, *Hepatozoon canis* e *Haemobartonella canis* em um cão esplenectomizado **Revista Brasileira de Ciencia Veterinaria**, v. 4, n. 2, p. 83-84, 1997

O'DWYER, L. H.; MASSARD, C. L.; SOUZA, J. C. P. *Hepatozoon canis* infection associated with dog ticks of rural areas of Rio de Janeiro State, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.94, n.3, p.143-150, 2001.

O'DWYER, L. H.; SAITO, M. E.; HASEGAWA, M. Y.; KOHAYAGAWA, A. Tissue stages of *Hepatozoon canis* in naturally infest dogs from São Paulo state, Brazil. **Parasitology Research**, v. 94, n. 3, p.240-242, 2004.

OYAMADA, M.; DAVOUST, B.; BONI, M.; DEREURE, J.; BUCHETON, B.; HAMMAD, A.; ITAMOTO, K.; OKUDA, M.; INOKUMA, H. Detection of *Babesia canis rossi*, *B. canis vogeli*, and *Hepatozoon canis* in dogs in a village of Eastern Sudam by using a screening PCR and sequencing methodologies. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**. v.12, n. 11, p.1343-1346, 2005.

PALUDO, G. R.; DELL'PORTO, A.; CASTRO e TRINDADE, A.R.; McMANUS, C.; FRIEDMAN, H. *Hepatozoon* sp.: report f some cases in dogs in Brasília, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 118, n. 3/4, p. 243-248, 2003.

PALUDO, G.R., FIEDMAN, H., DELL'PORTO, A.; MACINTIRE, D. K.; WITHLEY, E. M.; BOUDREAUX, M. K.; BANETH, G.; BLAGBURN, B. L.; DYKSTRA, C. C. *Hepatozoon sp.*: pathological and partial 18S rRNA sequence analysis from three Brazilian dogs. **Parasitology Research**, v. 97, n. 2, p. 167-170, 2005.

PANCIERA, R. J.; GATTO, N. T.; CRYSTAL, M. A.; HELMAN, R. G.; ELY, R. W. Canine hepatozoonosis in Oklahoma. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 33, n. 3, p. 221-225, 1997.

RUBINI, A. S.; PADUAN, K. S.; CAVALCANTE, G. G.; RIBOLLA, P. E. M.; O'DWYER, L. H. Molecular identification and characterization of canine *Hepatozoon* species from Brazil. **Parasitology Research**, v. 97, n. 2, p. 91-93, 2005.

RUBINI, A. S.; PADUAN, K. S.; LOPES, V. V. A.; O'DWYER, L. H. Molecular and parasitological survey of *Hepatozoon canis* (Apicomplexa : Hepatozoidae) in dogs from rural área of São Paulo state, Brazil. **Parasitology Research**, v. 102, n. 2, p. 895-899, 2008.

RUBINI A. S., PADUAN, K. S., MARTINS, T. F., LABRUNA, M. B., O'DWYER, L. H. Acquisition and transmission of *Hepatozoon canis* (Apicomplexa: Hepatozoidae) by the tick *Amblyomma ovale* (Acari: ixodidae). **Veterinary Parasitology**. v. 164, n. 2/4, p. 324-327, 2009.

SAKUMA, M.; NAKAHARA, Y.; SUZUKI, H.; UCHIMURA, M.; SEKIYA, Z.; SETOGUCHI, A.; ENDO, Y. A case report: a dog with acute onset of *Hepatozoon canis* infection. **Journal of Veterinary Medical Science**. v.71, n. 6, 835-838, 2009.

SMITH, T. G. The Genus *Hepatozoon* (Apicomplexa: Adeleina). **The Journal of Parasitology**, v. 82, n. 4, p. 565-585, 1996.

SMITH, T. G.; DESSER, S.S.; MARTIN, D.S. The development of *Hepatozoon sipedon* sp. Nov. (Apicomplexa: Adeleina: Hepatozoidae) in its natural host, the northern water snake (*Nerodia sipedon sipedon*), in the culicine vectors *Culex pipiens* and *C. irritans*, and in an

intermediate host, the northern leopard frog (*Rana pipiens*). **Parasitology Research**, v. 80, n. 7, p. 559-568, 1994.

SIDDALL, M. E. Phylogeny of adeleid blood parasites with a partial systematic revision of the haemogregarine complex. **J Euk Microbiol.** v. 42, p. 116-125, 1995.

SOARES, A.L.; SOUZA, A.D.; FELICIANO, E.A.; RODRIGUES, A.F.S.F.,  
DÁGOSTO, M.; DAEMON, E. Avaliação ectoparasitológica em cães criados em apartamentos e casas com quintal na cidade de Juiz de Fora, MG. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinaria**, v.15, n. 1, p.13-16, 2006.

SPOLIDORIO, M. G.; LABRUNA, M. B.; ZAGO, A. M.; DONATELE, D. M.; CALIARI, K. M.; YOSHINARI, N. H. Hepatozoon canis infecting dogs in the State of Espírito Santo, southeastern Brazil. **Veterinary Parasitology** v. 163, n. 4, p. 357-361, 2009.

SZABÓ, M.P.; CUNHA, T. M.; PINTER, A.; VICENTINI, F. Ticks (Acari: Ixodidae) associated with domestic dogs in Franca, São Paulo, Brazil. **Experimental and Applied Acarology**. v. 25, n. 10-11, p. 909-916, 2001.

VIEIRA, S. **Introdução à bioestatística**. 4ª ed, Elsevier, 2008, 360p.

VINCENT-JOHNSON, N.; MACINTIRE, D. K.; BANETH, G. Canine hepatozoonosis: pathophysiology, diagnosis, and treatment. **Small Animal**, v. 19, n. 1, p. 51-62, 1997.

VOJTA, L.; MRLIAK, V.; CURKOVIC, S.; ZIVICNJAK, T.; MARINCULIC, A.; BECK, R. Molecular epizootiology of canine hepatozoonosis in Croatia. **International Journal for Parasitology**. v. 39, n. 10, p. 1129-1136, 2009.

VOYVODA, H.; PASA, S.; UNER, A. Clinical Hepatozoon canis infection in a dog in a Turkey. **Journal of Small Animal Practise**. v. 45, n. 12, p. 613-617, 2004.

WANER, T.; BANETH, G.; ZUCKERMAN, A.; NYSKA, A. *Hepatozoon canis*: Size measurement of gametocyte using image analysis technology. **Comparative Haematology International**, v.4, n. 13, p.177-179, 1994.

WENYON, C. M. Some remarks on the genus *Leucocytozoon*. **Parasitology**, v.5, p.63-72, 1910.

YABSLEY, M. J.; McKIBBEN, J.; MACPHERSON, C. N.; CATTAN, P. F.; CHERRY, N. A.; HEGARTY, B. C.; BREITSCHWERDT, E. B.; O'CONNOR, T.; CHANDRASHEKAR, R.; PATERSON, T.; PEREA, M. L.; BALL, C.; FRIESEN, S.; GOEDDE, J.; HENDERSON, B.; SYLVESTER, W. Prevalence of *Ehrlichia canis*, *Anaplasma platys*, *Babesia canis vogeli*, *Hepatozoon canis*, *Bartonella vinsoni berkhoffii*, and *Rickettsia* spp. in dogs from Grenada. **Veterinary Parasitology**, v. 151, n. 2/4, p. 279-285, 2008.

## **8 – Anexos**

## 8.1 - ANEXO I

Universidade Federal de Uberlândia  
Instituto de Ciências Biomédicas  
Programa de Pós-graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas

### Termo de consentimento

Eu, \_\_\_\_\_ proprietário(a) do animal \_\_\_\_\_ autorizo a coleta de amostra de sangue do mesmo, para fins de pesquisa, sendo essa intitulada “*Hepatozoon sp*: Identificação e avaliação dos parâmetros epidemiológicos e clínicos em cães de área urbana do município de Uberlândia – MG”.

**Responsável:** Profa. Dra. Márcia Cristina Cury  
Laboratório de Parasitologia – UFU  
Telefone: 3218-2198  
**Mestranda:** Paula Virgínia Gomes

Uberlândia, 2008

## 8.2 - ANEXO II

**I) Identificação do animal:** Data da coleta \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

1) N° de identificação: \_\_\_\_\_

2) Origem:

1- Hospital Veterinário ( )

2- Clínica Particular ( )

3- Associação ( )

8- NS ( )

9-NR ( )

3) Procedência do Animal:

3.1) Cidade de origem

1) Uberlândia( )

2) Outra ( ) Qual: \_\_\_\_\_

0) NS ( )

8) NA ( )

9) NR ( )

3.2) Bairro de origem \_\_\_\_\_

0- NS ( )

4)Raça:

1-( ) SRD

2-( ) Poodle

3-( ) Cocker Spaniel

4-( ) Dachshund

5-( ) Pinscher

6-( ) Rottweiler

7-( ) Pitt Bull

8-( ) Pastor Alemão

9-( ) Outra \_\_\_\_\_

88- ( ) Não Aplicável

99- ( ) Não Respondeu

5) Idade (meses): \_\_\_\_\_

0- NS ( )

5.1) Caso a idade seja desconhecida, o animal é:

1- Filhote ( )

2- Adulto ( )

0- NS ( )

9- NR ( )

6) Sexo: 1-M ( ) 2- F ( )

7) Pelagem:

7.1) Cor:

1- ( ) Clara

2- ( ) Escura

3- ( ) Característica

8- ( ) Não aplicável

9- ( ) Não Respondeu



7.2) Comprimento do pelo:

1- ( ) Longo

2- ( ) Curto

8- ( ) Não Aplicável

9- ( ) Não Respondeu

**8) Hábitos:**

8.1) Moradia:

1- ( ) Casa

2- ( ) Apartamento

3- ( ) Fazenda, chácara ou sítio

4- ( ) Imóveis Comerciais

5- ( ) Não domiciliado

6- ( ) Outro \_\_\_\_\_

8- ( ) Não Aplicável

9- ( ) Não Respondeu

8.2) Locais de acesso do animal:

	<b>1- Sim</b>	<b>2- Não</b>	<b>0- NS</b>	<b>9- NR</b>
8.2a- Rua	( )	( )	( )	( )
8.2b- Chácara, sítio ou fazenda	( )	( )	( )	( )
8.2c- Praças públicas	( )	( )	( )	( )
8.2d- Lotes	( )	( )	( )	( )
8.2e- Outros _____	( )	( )	( )	( )

8.3) Tem contato com outros animais (domésticos ou não):

1- ( ) Sim

2- ( ) Não

8- ( ) Não Aplicável

9- ( ) Não Respondeu

8.4) Se tem contato com outros animais, quais:

	<b>1- Sim</b>	<b>2- Não</b>	<b>8- NA</b>	<b>9- NR</b>
8.4a- Gatos	( )	( )	( )	( )
8.4b- Aves	( )	( )	( )	( )
8.4c- Bovinos	( )	( )	( )	( )
8.4d- Equinos	( )	( )	( )	( )
8.4e- Cães	( )	( )	( )	( )
8.4f- Outros	( )	( )	( )	( )

**9) Presença de ectoparasitas:**

	<b>1- Sim</b>	<b>2- Não</b>	<b>0- NS</b>	<b>9- NR</b>
1a- Pulgas	( )	( )	( )	( )
1b-Sarna	( )	( )	( )	( )
1c-carrapatos	( )	( )	( )	( )

**10)Alimentação do animal:**

- 1- ( ) Somente ração
- 2- ( ) Comida caseira apenas
- 3- ( ) Mista
- 0- ( ) Não Sabe
- 9- ( ) Não Respondeu

**II)- Dados clínicos**

**1) Exame clínico :**

1.1) Temperatura: \_\_\_\_\_

- 1-( ) <37.5
- 2-( ) 37.5-39.5
- 3-( ) >39.5

1.2) Frequência cardíaca: \_\_\_\_\_

- 1- ( ) <60
- 2- ( ) 60-160
- 3- ( ) >160

1.3) Mucosa ocular:

- 1- ( ) hipocorada
- 2- ( ) normocorada
- 3- ( ) hiperemica

1.4) Mucosa oral:

- 1- ( ) hipocorada
- 2- ( ) normocorada
- 3- ( ) hiperemica

1.5) Linfonodos:

- 1- ( ) aumentados
- 2- ( ) normais

1.5.1) Se a resposta foi aumentados, qual:

- 1- ( ) mandibulares
- 2- ( ) pré escapulares
- 3- ( ) poplíteos
- 4- ( ) inguinais
- 5- ( ) mamários

1.6) Fezes

- 1- ( ) Ressecadas
- 2- ( ) Pastosas
- 3- ( ) Líquidas
- 4- ( ) Normais
- 0- ( ) NS
- 9- ( ) NR

1.7) Perda de peso

- 1- ( ) SIM
- 2- ( ) NÃO
- 0- ( ) NS
- 9- ( ) NR

1.8) Appetite

- 1- ( ) normal
- 2- ( ) reduzido
- 0- ( ) NS
- 9- ( ) NR

1.9) Vômito

- 1- ( ) Sim
- 2- ( ) Não
- 0- ( ) NS
- 9- ( ) NR

2.0) Presença de secreção      SIM      NÃO

- 1a- ocular                      ( )      ( )
- 1b- nasal                        ( )      ( )

2.1) Fraqueza de membros      SIM      NÃO

- 1a- Anteriores                ( )      ( )
- 1b- Posteriores              ( )      ( )

2) Resultado hemograma (anemia): \_\_\_\_\_

**Outras observações:**

---

---

---

---

---

---

3) Esfregaço Sanguíneo (sangue circulante):

- 1- ( ) Positivo
- 2- ( ) Negativo
- 3- ( ) Não Realizado

13.1) Se a resposta anterior for positiva, quais?

- |                          | 1- Sim | 2-Não | 8-NA |
|--------------------------|--------|-------|------|
| 1- <i>Babesia sp.</i>    | ( )    | ( )   | ( )  |
| 2- <i>Ehrlichia sp.</i>  | ( )    | ( )   | ( )  |
| 3- <i>Hepatozoon sp.</i> | ( )    | ( )   | ( )  |
| 4- Outro                 | ( )    | ( )   | ( )  |

Qual: \_\_\_\_\_

4) Esfregaço Sanguíneo (sangue periférico):

- 1- ( ) Positivo  
2- ( ) Negativo  
3- ( ) Não Realizado

14.1) Se a resposta anterior for positiva, quais?

	<b>1- Sim</b>	<b>2-Não</b>	<b>8-NA</b>
1- <i>Babesia sp.</i>	( )	( )	( )
2- <i>Ehrlichia sp.</i>	( )	( )	( )
3- <i>Hepatozoon sp.</i>	( )	( )	( )
4- Outro	( )	( )	( )
Qual: _____			

**III) Dados da coleta dos carrapatos**

1) N° de identificação do animal: \_\_\_\_\_

2) Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

3) N° de carrapatos coletados: \_\_\_\_\_

4) Espécies de Carrapatos Encontrados:

1- ( ) *Rhipicephalus sanguineus*

2- ( ) *Amblyomma sp.*

3- ( ) Outros Qual: \_\_\_\_\_

5) Resultado da Hemocele:

5.1) Para *Hepatozoon sp.*:

- 1- ( ) Positivo  
2- ( ) Negativo  
3- ( ) Não Realizado

5.2) Para Outros Hematozoários:

- 1- ( ) Positivo  
2- ( ) Negativo  
3- ( ) Não Realizado

5.3) Se a resposta anterior for positiva, quais?

	<b>1- Sim</b>	<b>2-Não</b>	<b>8-NA</b>
1- <i>Babesia sp.</i>	( )	( )	( )
2- <i>Ehrlichia sp.</i>	( )	( )	( )
3- Outro	( )	( )	( )

Qual: \_\_\_\_\_

