

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA DE MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL**

**IDENTIFICAÇÃO DE HEMOPARASITOS E CARRAPATOS DE
CÃES PROCEDENTES DO CENTRO DE CONTROLE DE
ZONÓSES DE CAMPO GRANDE ESTADO DO MATO
GROSSO DO SUL, BRASIL**

FABIANA PESSOA SALGADO

CAMPO GRANDE
MATO GROSSO DO SUL - BRASIL
JANEIRO DE 2006

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA DE MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL**

**IDENTIFICAÇÃO DE HEMOPARASITOS E CARRAPATOS DE
CÃES PROCEDENTES DO CENTRO DE CONTROLE DE
ZOOSE DE CAMPO GRANDE ESTADO DO MATO
GROSSO DO SUL, BRASIL**

FABIANA PESSOA SALGADO

Orientador: **Prof. Dr. Michael Robin Honer**
Co-orientadora: **Dra. Márcia Mayumi Ishikawa**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como requisito à obtenção do título de Mestre em Ciência Animal. Área concentração: Saúde Animal.

CAMPO GRANDE
MATO GROSSO DO SUL - BRASIL
JANEIRO DE 2006

... sábio não é aquele que proclama palavras de sabedoria, mas sim aquele que demonstra sabedoria em seus atos.

São Gregório

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida e por ser a luz do meu caminho.

Ao meu querido esposo Wendell, por todo o seu amor, companheirismo, sua compreensão, cumplicidade, confiança e pelo apoio durante todos os dias e noites dedicados à pesquisa científica.

Aos meus pais João e Floripes, pelo amor incondicional de vocês e por estarem sempre ao meu lado nos momentos de alegria e angústia.

Aos meus sogros, Damasia e Marcio, pela força, pelo apoio e incentivo constante para a concretização deste trabalho.

Às minhas irmãs, Jislene e Silvia, minha cunhada Karla, meus cunhados Décio, José Roberto e Fernando, pelo companheirismo e apoio irrestrito.

À Marta e Otalina pelo carinho e pela atenção nas mais diferentes situações.

Ao Prof. Dr. Michael Robin Honer, que dividiu o seu profundo conhecimento e sua sabedoria, transmitindo orientações adequadas para a realização deste trabalho.

À Dra. Márcia Mayumi Ishikawa, pelo incentivo constante desde o ingresso no mestrado e pela confiança e amizade de todas as horas.

À Profa. M.Sc. Josephina Montanari Rosa Rangel, pelas horas dedicadas no laboratório.

Ao Dr. Cleber Oliveira Soares, por sua importante colaboração.

Ao Dr. Leonardo Rigo, pelo seu tempo e sua dedicação.

À M.Sc. Cristina Pires de Araújo, pela amizade sincera de todos os momentos e pelo apoio durante todo o mestrado.

À M.Sc. Renata Madureira, pelo apoio ao trabalho e pela forma amiga que me recebeu.

Aos médicos-veterinários do CCZ que gentilmente possibilitaram a coleta de amostras necessárias para a realização deste trabalho.

À Marilete Otaño Peixoto Ferescz, pela paciência e amizade.

À Lúcia Terezinha Restel Silva, pela ajuda no laboratório.

À acadêmica Fabiana Aguenta Sales Lapa, pelo auxílio na parte prática do trabalho.

À Profa. Dra. Maria da Graça Moraes, Coordenadora do Curso de Mestrado em Ciência Animal, pela dedicação oferecida a este curso.

À Fundação de Apoio ao Desenvolvimento de Ensino, Ciência e Tecnologia do MS (FUNDECT), pela concessão de apoio financeiro.

SUMÁRIO

	“Página”
1 INTRODUÇÃO.....	7
1.1 HEMOPARASITOS E CARRAPATOS.....	8
1.1.1 <i>Babesia canis</i>	8
1.1.2 <i>Ehrlichia canis</i>	9
1.1.3 <i>Hepatozoon canis</i>	12
1.1.4 <i>Borrelia burgdorferi lato sensu</i>	14
1.1.5 Carrapatos.....	16
PRIMEIRO ARTIGO.....	18
Hemoparasitos e carrapatos em cães procedentes do Centro de Controle de Zoonoses de Campo Grande, Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil.....	18
INTRODUÇÃO.....	19
MATERIAL E MÉTODOS.....	20
RESULTADOS.....	21
DISCUSSÃO.....	25
CONCLUSÃO.....	27
REFERÊNCIAS.....	28
SEGUNDO ARTIGO.....	30
Deteção de anticorpos contra <i>Borrelia burgdorferi</i> em cães procedentes do Centro de Controle de Zoonoses de Campo Grande, Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil.....	30
INTRODUÇÃO.....	31
MATERIAL E MÉTODOS.....	32
RESULTADOS.....	34
DISCUSSÃO.....	38
CONCLUSÃO.....	41

REFERÊNCIAS	41
2 CONSIDERAÇÕES FINAIS	44
REFERÊNCIAS	45
ANEXOS	52

1 INTRODUÇÃO

As hemoparasitoses caninas são moléstias transmitidas por vetores hematófagos (Hoskins 1991), encontradas com grande frequência no cotidiano médico-veterinário (Almosny 1998), e são responsáveis por manifestações clínicas variáveis, que pode determinar óbito (O'Dwyer 2000).

No Brasil, os principais hemoparasitos de cães são *Babesia canis*, *Ehrlichia canis* e *Hepatozoon canis*, e todos têm como vetor o carrapato da espécie *Rhipicephalus sanguineus*.

Outras espécies de carrapatos podem ser encontradas parasitando os cães, tais como do grupo ovale (*Amblyomma ovale*, *Amblyomma aureolatum* e *Amblyomma tigrinum*) e por *Amblyomma cajennense* (Rodrigues et al. 2001). No entanto, a ocorrência de diferentes espécies em diversas localidades é resultante das características epidemiológicas particulares de cada região (O'Dwyer et al. 2004).

Atualmente, algumas zoonoses emergentes têm sido diagnosticadas, e muitas destas possuem sua transmissão relacionada com carrapatos, como a febre maculosa causada por *Rickettsia rickettsii*, e a doença de Lyme causada pela espiroqueta *Borrelia burgdorferi*. Portanto, a participação do cão na transmissão desses patógenos ainda não está muito bem esclarecida e precisa ser mais bem estudada (Figueiredo et al. 1999, Labruna & Pereira 2001).

O cão doméstico é o principal animal de estimação, convivendo em íntimo contato com seres humanos, com isso a saúde desses animais deve ser avaliada para que não sirvam de reservatórios de patógenos e ectoparasitos aos homens.

A cidade de Campo Grande, Mato Grosso do Sul, apresenta alguns fatores que favorecem o aparecimento de hemoparasitoses e carrapatos nos cães, tais como: condições

climáticas favoráveis ao desenvolvimento de carrapatos, diversidade de espécies de vetores e a proximidade de animais silvestres e domésticos com o homem.

Este trabalho tem como objetivos identificar os principais hemoparasitos e carrapatos encontrados nos cães atendidos no Centro de Controle de Zoonoses (CCZ), relacionar a ocorrência de hemoparasitos com as espécies de carrapatos identificadas, obter dados epidemiológicos de cada enfermidade e pesquisar a ocorrência de anticorpos anti-*Borrelia burgdorferi* no soro desses cães, com a técnica do ensaio de imunoadsorção enzimático (ELISA) indireto.

1.1 HEMOPARASITOS E CARRAPATOS

1.1.1 *Babesia canis*

Babesia canis é um protozoário que parasita eritrócitos (Irwin 2002, Matjila et al. 2004) e foi descrita pela primeira vez por Piana & Galli-Valerio, em 1895, na Itália. A doença provocada nos cães era conhecida como *Malignant jaundice* e *Malignant malarial fever*. A partir da primeira descrição, *B. canis* foi observada na Europa, África, Ásia, Índia, América do Norte e América do Sul, sempre acometendo canídeos (O'Dwyer 1996).

Atualmente existem três subespécies reconhecidas desse hemoparasito, que variam com base na distribuição geográfica, especificidade do vetor e propriedades antigênicas (Uilenberg et al. 1989). *Babesia canis canis* é transmitido pelo carrapato *Dermacentor reticulatus*, *Babesia canis vogeli* por *Rhipicephalus sanguineus* e a *Babesia canis rossi* por *Haemaphysalis leachi* (Schetters et al. 1997, Matjila et al. 2004).

Apesar da ocorrência de diferentes subespécies, a espécie encontrada no Brasil continua sendo chamada apenas de *B. canis*, pois inexistem estudos que a tenham caracterizado geneticamente (Bicalho et al. 2002).

B. canis pertence à ordem Piropasmida, família Babesiidae e ao gênero *Babesia* (O'Dwyer & Massard 2002). Encontra-se no interior de eritrócitos na forma de trofozoítos, que na maioria das vezes são piriformes e podem apresentar um vacúolo no citoplasma da célula. Também é freqüente o encontro de formas livres no plasma (O'Dwyer 1996).

A transmissão da babesia dá-se pela inoculação de esporozoítos infectantes (O'Dwyer & Massard 2002), que são inoculados no vertebrado durante o repasto sanguíneo dos carrapatos (Mehlhorn et al. 1980). No hospedeiro vertebrado ocorre reprodução assexuada por divisão binária no interior dos eritrócitos (Kakoma & Mehlhorn 1994).

No carrapato, após reprodução sexuada no intestino do vetor, são formados os esporocinetos que se dirigem aos diversos órgãos do carrapato, inclusive ovário e glândula salivar (O'Dwyer 2000). A capacidade de transmissão transtadial e transovariana do agente permite a sua perpetuação que torna o carrapato infectante por várias gerações (Taboada 1998).

A patogenia da doença causada por esse protozoário está relacionada com a hemólise intravascular e extravascular (O'Dwyer 2000). A gravidade das manifestações clínicas está associada à patogenicidade da cepa de *Babesia*, à intensidade da parasitemia, à resposta imune e à idade do hospedeiro (Martinod et al. 1986).

Os sinais clínicos variam de doenças subclínicas até hiperagudas, e os cães jovens são mais sensíveis e freqüentemente apresentam as formas mais graves da doença (Breitschwerdt 1993).

O diagnóstico dessa hemoparasitose pode ser feito pelo encontro dos parasitos durante o exame de esfregaços sanguíneos (O'Dwyer & Massard 2002). A técnica do esfregaço sanguíneo, obtido da ponta da orelha de cães e corado por colorações do tipo Giemsa, aumenta a chance de evidenciar eritrócitos parasitados (Brandão & Hagiwara 2002). Nesse caso, a positividade ocorre nos casos agudos com parasitemia elevada. Já, nos casos crônicos da doença são necessárias técnicas mais sensíveis como as imunológicas para o seu diagnóstico (Yamane et al. 1993). Os testes sorológicos, empregados para diagnóstico de anticorpos anti-*Babesia canis*, são o teste de imunofluorescência indireta (IFI) e o ELISA (Ribeiro et al. 1990).

1.1.2 *Ehrlichia canis*

Ehrlichia canis é uma bactéria gram-negativa intracitoplasmática que infecta

leucócitos (Morais et al. 2004) e é responsável pela erlichiose monocítica canina (Rodriguez-Vivas et al. 2005). Tem distribuição mundial (Dagnone et al. 2003), porém os casos concentram-se mais nas áreas tropicais e subtropicais por causa da sua distribuição geográfica estar relacionada com a distribuição de seu vetor, o carrapato *Rhipicephalus sanguineus* (Andereg & Passos 1999).

A erlichiose canina foi descrita pela primeira vez na Algéria em 1935 por Donatien & Lestoquard (Oliveira et al. 2000), que observaram organismos nas células mononucleares circulantes de cães infestados por carrapatos e denominaram-na de *Rickettsia canis*.

Em 1945, Moshkovski renomeou o organismo como *Ehrlichia canis* em homenagem a Paul Ehrlich (McDade 1990). No final de 1968 e início de 1969, durante a guerra do Vietnã, teve importância significativa quando cães militares da Inglaterra e dos Estados Unidos foram acometidos de uma doença hemorrágica severa de princípio inesperado e de etiologia desconhecida. Essa doença recebeu vários nomes, como febre hemorrágica canina, síndrome hemorrágica idiopática, doença do cão rastejador e pancitopenia tropical canina (Huxsoll 1976).

O papel de *E. canis* como *Rickettsia* significativamente patogênica veio à luz no final da década de 1960, quando ficou estabelecido que ela era o agente etiológico da pancitopenia tropical canina (Huxsoll et al. 1969). O surto de erlichiose entre os cães militares estimulou novo interesse por *E. canis* e deu novo entusiasmo para mais profundas investigações sobre o agente e a doença (Huxsoll 1976).

No Brasil, a doença foi relatada por Costa et al. em 1973 na cidade de Belo Horizonte, Minas Gerais (Moreira et al. 2003) e posteriormente por Carrilo et al. em 1976 no Rio de Janeiro. Atualmente são diagnosticados casos por todo o território nacional (Almosny 1998) e tem sido um achado freqüente em animais doentes, examinados em clínicas e hospitais veterinários de vários estados (O'Dwyer 2000).

Por meio de um levantamento sorológico realizado em vários estados brasileiros, foram encontrados aproximadamente 20% (2.551) dos cães apresentando anticorpos contra *E. canis* (Labarthe et al. 2003).

E. canis pertence à ordem Rickettsiales, família Ehrlichiaaceae e ao gênero *Ehrlichia*

(Almosny & Massard 2002). Essa bactéria é encontrada no interior dos leucócitos circulantes, formando aglomerados de corpúsculos elementares chamados de mórulas (Andereg & Passos 1999).

Segundo Bulla et al. (2004), a bactéria poderá ser encontrada isolada, em colônias compactas, formando mórulas em leucócitos mononucleares.

R. sanguineus adquire *E. canis* quando se alimenta em cães infectados principalmente durante a fase aguda da doença (Swango et al. 1989). Entre os carrapatos ocorre a transmissão por via transestadial, mas não transovariana (Hoskins 1991), e são capazes de transmitir a bactéria principalmente nas fases de ninfa e adulto durante 155 dias (Andereg & Passos 1999). Estudos recentes demonstraram que os carrapatos machos de *R. sanguineus* podem adquirir e transmitir *E. canis* na ausência dos carrapatos fêmeas (Bremer et al. 2005).

A infecção nos cães ocorre durante o repasto sanguíneo dos carrapatos infectados (McDade 1990), onde os corpos elementares, que são formas individuais de *E. canis*, penetram nos monócitos por fagocitose e a replicação ocorre por divisão binária. No intervalo de três a cinco dias após a infecção, pequenos números de estruturas compactas formadas por corpos elementares são observados como inclusões pleomórficas, que são os corpúsculos iniciais. Durante os próximos sete a doze dias, esses corpúsculos se desenvolvem no interior da inclusão madura e apresentam a forma de mórula, que é característica desse gênero (Swango et al. 1989). Há relatos de transmissão da bactéria por meio de transfusão sanguínea (Andereg & Passos 1999).

As manifestações clínicas ocorrem após o período de incubação de oito a vinte dias e podem apresentar três distintas fases de infecção: aguda, subclínica e crônica (Moreira et al. 2003). Na fase aguda, títulos negativos podem ocorrer durante a fase inicial da doença e a gravidade dos sinais varia entre os animais (Almosny 1998). Atualmente, a maioria dos cães sobrevive à fase aguda e ingressa na crônica de longa duração (Almosny & Massard 2002).

Durante a fase subclínica, os sinais clínicos desaparecem e os cães apresentam-se assintomáticos. Cães imunocompetentes podem eliminar a bactéria e não entrar na fase crônica, enquanto aqueles sem resposta imune efetiva tornam-se doentes crônicos

(Andereg & Passos 1999). Já na fase crônica, ela apresenta características de doença imunomediada (Harrus et al. 1998), com exposição a freqüentes infecções secundárias (Moreira et al. 2003).

A erlichiose é uma doença de diagnóstico clínico difícil em virtude da inespecificidade e variabilidade dos sinais que apresenta (Morais et al. 2004, Oriá et al. 2004) e requer um diagnóstico rápido, para iniciar uma terapia apropriada que favorecerá o prognóstico (Skotarczak 2003).

A pesquisa de mórulas em esfregaços de sangue periférico ou em exame da capa leucocitária é um meio de diagnóstico de baixo custo, rápido e que pode dar uma resposta precoce no curso da doença (Bulla et al. 2004), a fim de se detectar a forma subclínica e tratar os animais positivos antes da manifestação clínica (Munhóz & Babo 1998).

Também são utilizados testes sorológicos e moleculares (Almosny 1998), como a imunofluorescência indireta (IFI), Dot-ELISA, ELISA, *imunoblot* e a reação de polimerase em cadeia (PCR) (Babo-Terra 2004).

Existem alguns relatos na literatura de que *E. canis* causa infecção em humanos (Rikihiya 2005), com casos de óbitos principalmente em crianças e idosos, e é considerada uma zoonose.

1.1.3 *Hepatozoon canis*

Hepatozoon canis é um protozoário que parasita leucócitos e tecidos parenquimatosos (Baneth et al. 1998) e foi observado pela primeira vez por Bentley, em 1904, na Índia e descrito por James em 1905 (O'Dwyer 2000). A partir das primeiras descrições, *H. canis* tem sido observado em várias regiões do mundo (Baneth et al. 1998) como África, Europa, Estados Unidos e Ásia (Kiral et al. 2005).

No Brasil, *H. canis* foi diagnosticado em diversos estados, incluindo Espírito Santo e Rio Grande do Sul (Massard 1979), Minas Gerais (Mundim et al. 1992), São Paulo (Gondim et al. 1998) e Rio de Janeiro (O'Dwyer et al. 2001).

H. canis pertence à ordem Eucoccidiida, família Hepatozoidae e ao gênero

Hepatozoon (O'Dwyer & Massard 2002) e acomete principalmente os carnívoros domésticos (Alencar et. al. 1997).

Os carrapatos *R. sanguineus* e *Amblyomma* spp. são os principais vetores da doença dos cães na América do Sul (O'Dwyer & Massard 2001). Esses carrapatos infectam-se ao ingerir sangue de cães contendo isogametas no interior de neutrófilos e monócitos. Ocorre a formação do oocineto no tubo digestivo e posteriormente atravessa a parede intestinal, caindo na hemocele do carrapato e se transformando em oocisto, onde não há migração para a glândula salivar (Forlano 2005).

A transmissão de *H. canis* para os cães ocorre após a ingestão de carrapatos contendo oocistos esporulados na sua hemocele (Aguiar et al. 2004). Nos cães esse protozoário apresenta uma fase sanguínea observada em neutrófilos e monócitos e uma fase tecidual principalmente no baço, linfonodos, fígado, medula óssea, pulmões e músculos (Baneth et al. 1998, Forlano 2002).

Os gamontes, que são as formas sexuadas mantenedoras do material genético masculino e feminino, não mostram nenhum dimorfismo sexual aparente nem sofrem mudança adicional até que estes sejam ingeridos pelos carrapatos; por isso são chamados de isogametas (Forlano 2005).

Além da transmissão horizontal por carrapatos, Murata et al. (1993) no Japão observaram a transmissão congênita desse protozoário em 79,3% (29) dos cães neonatos, em que as cadelas eram portadoras de *H. canis*, e os filhotes, mesmo em condições livres de carrapatos, apresentaram esse hemoparasito.

A patogenicidade de *H. canis* tem sido questionada por alguns autores que citam a presença de isogametas em neutrófilos de cães aparentemente saudáveis (Baneth et al. 2003). Contudo, infecções severas têm sido descritas em cães e o nível de parasitemia apresenta correlação com a severidade da doença (Baneth & Weigler 1997).

Fatores como a presença do agente causador, idade e imunossupressão induzem infecções simultâneas (erlichioses, leishmanioses e parvovírus), que são importantes para o desenvolvimento dos sintomas da doença (Baneth et al. 2003).

O diagnóstico de *H. canis* baseia-se no encontro de isogametas em esfregaços de sangue periférico (O'Dwyer & Massard 2001). A sorologia tem sido realizada por meio de testes como imunofluorescência indireta, Western blotting e ELISA, que são métodos sensíveis e apresentam alta especificidade para detectar anticorpos de *H. canis* (Forlano 2005).

1.1.4 *Borrelia burgdorferi lato sensu*

Borrelia burgdorferi lato sensu é uma espiroqueta responsável pela borreliose de Lyme que acomete animais e seres humanos (Levy & Dreesen 1992), e é considerada uma zoonose cosmopolita (Straubinger 2000, Costa et al. 2002, Alves et al. 2004).

A infecção no Brasil deve ser referida como borreliose de Lyme simile, pois existem diferenças etiológicas, clínicas e laboratoriais, quando comparada com a borreliose de Lyme norte-americana ou européia (Fonseca et al. 2005).

O agente etiológico no Brasil ainda não foi isolado, e os prováveis carrapatos responsáveis pelo ciclo silvestre pertencem ao gênero *Ixodes*, enquanto o gênero *Amblyomma* estaria implicado na transmissão para animais domésticos e seres humanos (Yoshinari et al. 2003).

B. burgdorferi pertence ao membro da ordem Spirochaetales, família Spirochaetaceae (Pfister et al. 1994) e tem como vetores os carrapatos ixodídeos (Alves et al. 2004). Essa bactéria se reproduz por divisão binária transversal (Soares et al. 2000).

A doença de Lyme foi inicialmente reconhecida em 1975 nos Estados Unidos em crianças na comunidade de Lyme. Burgdorfer et al. (1982, citado por Ishikawa 1996) isolaram espiroquetas de carrapatos ixodídeos e o agente passou a se chamar *Borrelia burgdorferi*. O primeiro caso de meningite de Lyme foi descrito em Mato Grosso do Sul em 1996, assim como a descrição de outros casos da doença nessa região (Costa et al. 2002).

A primeira descrição da doença em cães foi feita por Lissman et al. (1984) nos Estados Unidos em um cão da raça Dobermann que apresentava sinais de artrite severa e claudicação (Appel 1990). Posteriormente, Burgess (1986) isolou espiroquetas de cães

cl clinicamente sadios e sugeriu serem esses animais os potenciais reservat3rios para *B. burgdorferi*.

Nos carrapatos pode ocorrer transmiss3o transovariana e transestadial (Soares et al. 2000). A transmiss3o para os c3es ocorre pela picada de carrapatos infectados do g4nero *Ixodes*, principalmente as esp4cies *Ixodes scapularis*, *Ixodes persulcatus*, *Ixodes pacificus* e *Ixodes ricinus*, por4m *Dermacentor variabilis* e *A. americanum* tamb4m transmitem (Mather et al. 1994). Na literatura s3o citados outros meios de transmiss3o, como pela urina entre roedores, por transfus3o sangu4nea, transplante de tecido, por contato ou congenitamente em c3es (Burgess 1986).

Nos c3es, a infec3o 4 usualmente assintom3tica (Straubinger 2000), mas podem ser observados sinais envolvendo o sistema m4sculoesquel4tico, com quadro de artrite progressiva (Lissman et al. 1984, Kornblatt et al. 1985, Wiebe 1995). Ocorre raramente les3o de pele com eritema no local da picada (Appel 1990).

Em humanos, a principal manifesta3o cl4nica 4 o eritema migrat3rio recidivante. Essa les3o est3 relacionada com a picada do carrapato vetor (Fonseca et al. 2005). Costa et al. (2001) realizaram um estudo cl4nico e laboratorial em 16 pacientes sororreagentes para *B. burgdorferi* no Estado de Mato Grosso do Sul, e apenas 25% deles afirmaram ter sido picados por carrapatos, mas todos mantinham c3es em casa, que j3 estiveram ou estavam infestados por carrapatos.

Podem ocorrer tamb4m manifesta3es articulares, neurol3gicas e card4cias (Fonseca et al. 2005). Incluem as oligoartrites ou poliartrites de pequenas e grandes articula3es, queixas cardiol3gicas como bloqueio atrioventricular e as neurol3gicas como meningite, polineurite e dist4rbios cognitivos (Costa et al. 2001).

Estudos soroepidemiol3gicos t4m sido conduzidos mundialmente para determina3o da preval4ncia de anticorpos contra *B. burgdorferi lato sensu* em c3es e da import3ncia desses animais na epidemiologia dessa doen3a (O'Dwyer 2000).

Atualmente, c3es podem atuar como sentinela epidemiol3gica, albergando a espiroqueta, comportando-se como reservat3rio no ambiente domiciliar, favorecendo, assim, ao carrapato veicular o pat3geno at4 o homem e outros animais (Appel 1990, Mather et al. 1994).

A borreliose de Lyme pode ser diagnosticada por meio de alguns fatores como a sintomatologia clínica, epidemiologia e a sorologia (Madureira 2004).

O diagnóstico mais empregado e reconhecido para identificar anticorpos anti-*Borrelia* sp. com segurança é o ELISA indireto (Gordillo et al. 1999). No entanto, os ensaios devem ser estabelecidos para cada laboratório com os padrões de controle adequados, com título mínimo e linha de corte (*cut-off*) seguros.

Reações cruzadas entre *Borrelia* sp. e *Leptospira* sp. têm sido relatadas embora não significativas. Joppert et al. (2001) sugerem ausência de reatividade sorológica cruzada entre essas duas enfermidades.

A técnica de reação em cadeia de polimerase (PCR) tem sido muito utilizada para identificação de *Borrelia* sp. nos animais e fragmentos de carrapatos (Madureira 2004), entretanto é uma prova bastante onerosa.

1.1.5 Carrapatos

Muitas enfermidades transmitidas por carrapatos podem acometer animais silvestres, domésticos e seres humanos (Massard & Fonseca 2004). Apresentam uma diversidade de vírus, bactérias, protozoários, fungos e nematódeos que produzem uma ação irritante e espoliativa sobre o hospedeiro (Torres et al. 2004).

A distribuição geográfica dos carrapatos é bastante ampla e pode estar presente nos animais domésticos, nos gramados das residências, bem como em regiões de florestas ou matas, nos animais silvestres ou domesticados, como bovinos e eqüinos (Costa et al. 2001).

A intensa atividade agropecuária no Brasil, o convívio do homem com animais domésticos e a valorização de atividades ao ar livre favorecem a disseminação de agentes infecciosos transmitidos por carrapatos, propicia o surgimento e o ressurgimento de diferentes agentes etiológicos (Massard & Fonseca 2004).

No Brasil, há relatos de várias espécies de carrapatos que parasitam os cães (Labruna & Pereira 2001). Esse parasitismo tem grande importância médica e veterinária, pois pode transmitir uma variedade de agentes patogênicos tanto para o homem como para os animais (Ribeiro et al. 1997).

A espécie mais associada ao cão principalmente em áreas urbanas e periurbanas é o carrapato *R. sanguineus* (Flechtmann 1990). Em áreas rurais, os cães são parasitados principalmente por carrapatos do grupo *ovale* (*A. ovale*, *A. aureolatum* e *A. tigrinum*.) e por *A. cajennense* (Ribeiro et al. 1997).

O *A. cajennense* pode desempenhar um papel importante na transmissão do agente causador da doença de Lyme para cães e também para seres humanos (Massard et al. 1981).

Harrison et al. (1997) demonstraram que *R. sanguineus*, principalmente as suas formas imaturas, alimentam-se em humanos mais freqüentemente do que previamente se supunha. Assim, por se desenvolver em ambientes sinantrópicos, de várias cidades do Brasil, onde ocorrem altas densidades e prevalências, esse carrapato poderá vir a causar um aumento na incidência de erlichiose, babesiose e febre maculosa, como antropozoonoses emergentes (Fernandes 2000).

PRIMEIRO ARTIGO

Hemoparasitos e carrapatos em cães procedentes do Centro de Controle de Zoonoses de Campo Grande, Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil

Fabiana Pessoa Salgado¹, Michael Robin Honer², Márcia Mayumi Ishikawa³, Cleber Oliveira Soares⁴, Josephina Montanari Rosa Rangel⁵, Leonardo Rigo⁶ e Fabiana Aguenta Sales Lapa⁷

ABSTRACT.-Salgado F.P., Honer M.R., Ishikawa M.M., Soares C.O., Rangel J.M.R., Rigo L., Lapa F.A.S. 2005. [**Hemoparasites and ticks of dogs originate from the Center for Zoonosis Control of Campo Grande in Mato Grosso do Sul State, Brazil.**] Presença de hemoparasitos e carrapatos de cães procedentes do Centro de Controle de Zoonoses de Campo Grande Estado do Mato Grosso do Sul, Brasil. Pesquisa Veterinária Brasileira XX (X): XXX-XXX. Curso de Mestrado em Ciência Animal. Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, 79070-900 Campo Grande, MS, Brasil. *E-mail*: biavet@nin.ufms.br.

The objective of the present study was to identify hemoparasites and ticks of dogs attended to at the Center for Zoonosis Control of from Campo Grande in Mato Grosso do Sul State. Smears of peripheral and venous blood of one hundred and sixty seven dogs originating from many regions of the municipality of Campo Grande were realized. Of the total examined, 62,28% presented a positive result for hemoparasites, *Babesia canis* was found in 10,78% of samples, *Ehrlichia canis* in 60,48%, the *Hepatozoon canis* in 2,40%. Among the animals evaluated, 23,95% was infested only by ticks of species *Rhipicephalus sanguineus*, where there was no correlation between the presence of hemoparasites and tick parasitism. The results indicated that the dogs of the CCZ were attacked by *B. canis*, *E. canis* and *H. canis*, where coinfections among these hemoparasites were found, that may hinder clinical and laboratorial diagnosis and also worsen the clinical manifestations of these canine hemoparasitoses.

INDEX TERMS: dogs, *Babesia canis*, *Ehrlichia canis*, *Hepatozoon canis*, *Rhipicephalus sanguineus*.

¹ Mestranda do Programa de Pós-Graduação, Mestrado em Ciência Animal da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS) FUNDECT.

² Docente do CCBS da UFMS, Campo Grande, MS.

³ Pesquisadora da Embrapa CPAO, Dourados, MS.

⁴ Pesquisador da Embrapa Gado de Corte, Campo Grande, MS.

⁵ Docente de Patologia Clínica da UFMS, Campo Grande, MS.

⁶ Médico-Veterinário da Secretaria Municipal de Saúde, Campo Grande, MS.

⁷ Discente do Curso de Medicina Veterinária da UFMS, Campo Grande, MS.

RESUMO.-O presente trabalho teve como objetivo identificar hemoparasitos e carrapatos de cães atendidos no Centro de Controle de Zoonoses de Campo Grande, Estado de Mato Grosso do Sul. Foram realizados esfregaços de sangue periférico e venoso de 167 cães procedentes de várias regiões desse município. Do total de animais examinados, 62,28% apresentaram resultados positivos para hemoparasitos, e *Babesia canis* foi encontrada em 10,78% das amostras, *Ehrlichia canis* em 60,48% e *Hepatozoon canis* em 2,40%. Dentre os animais avaliados, 23,95% estavam infestados apenas por carrapatos da espécie *Rhipicephalus sanguineus*, onde não houve correlação entre a presença dos hemoparasitos e o parasitismo por carrapatos. Os resultados indicaram que os cães do Centro de Controle de Zoonoses foram acometidos por *B. canis*, *E. canis* e *H. canis*, onde foram encontradas coinfeções entre esses hemoparasitos, que podem dificultar o diagnóstico clínico e laboratorial e também agravar as manifestações clínicas dessas hemoparasitoses caninas.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: cães, *Babesia canis*, *Ehrlichia canis*, *Hepatozoon canis*, *Rhipicephalus sanguineus*.

INTRODUÇÃO

Os carrapatos que parasitam os cães têm grande importância na Medicina Veterinária e na Saúde Pública, pois são responsáveis pela transmissão de hemoparasitoses aos animais domésticos e podem atuar como vetores de doenças que apresentam potencial zoonótico e são pouco conhecidas (Ribeiro et al. 1997).

No Brasil, os cães são altamente acometidos pelos hemoparasitos *Babesia canis*, *Ehrlichia canis* e *Hepatozoon canis*, que são parasitos intracitoplasmáticos de leucócitos e eritrócitos presentes no sangue circulante desses animais (Almosny & Massard 2002), e que são transmitidos biologicamente pelo carrapato *Rhipicephalus sanguineus* (O'Dwyer 2000).

Tais agentes podem acometer os cães e não causar sintomatologia clínica ou desenvolver sintomas com quadros clínicos graves e pode levar esses animais a óbito (Labarthe et al. 2003).

O diagnóstico mais utilizado para a pesquisa dos hemoparasitos é o parasitológico,

que é realizado por meio da observação de formas parasitárias em esfregaços de sangue periférico. Podem ser utilizadas outras técnicas, como a imunofluorescência indireta (IFI), ELISA e a reação em cadeia de polimerase (PCR) (Almosny 1998).

O objetivo deste trabalho foi identificar os hemoparasitos e carrapatos dos cães procedentes do Centro de Controle de Zoonoses de Campo Grande, MS.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta do material

Foram examinados 167 cães no Centro de Controle de Zoonoses de Campo Grande no Estado de Mato Grosso do Sul.

O município de Campo Grande possui 8.096 km², está localizado geograficamente na posição central do Estado de Mato Grosso do Sul, e ocupa 2,26% da área total do Estado. A sede do município localiza-se nas imediações do divisor de águas das bacias dos rios Paraná e Paraguai, definida pelas coordenadas geográficas de 20°26'34" latitude Sul e 54°38'47" longitude Oeste, e sua altitude é de 532 metros.

Foi realizada a punção de vasos de pequeno calibre, bem como da veia cefálica desses animais e foram confeccionados esfregaços sanguíneos no Laboratório de Bacteriologia da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.

Exame parasitológico

Os esfregaços sanguíneos fixados em metanol por 3 minutos e corados com Giemsa a 10% durante 30 minutos. Em seguida, encaminhados para o Laboratório de Patologia Clínica e Anatomia Patológica, onde foram examinados principalmente na região da franja do esfregaço.

Identificação dos carrapatos

Os animais foram inspecionados, principalmente nas orelhas e coxins palmares e plantares, para detecção da presença de carrapatos. Os exemplares encontrados foram

removidos manualmente do corpo do hospedeiro, acondicionados em frascos individuais contendo álcool etílico a 70 GL. Foram encaminhados para o Laboratório de Parasitologia da Embrapa Gado de Corte e identificados, segundo a chave de Aragão & Fonseca (1961), com o auxílio de microscópio estereoscópio. Os carrapatos não foram identificados quanto aos seus instares.

Avaliação epidemiológica

Os proprietários dos cães responderam a um questionário previamente elaborado, contendo aspectos epidemiológicos como sexo, raça, idade, hábitos alimentares e restrição domiciliar (Anexo 1).

Os animais foram separados em cinco faixas etárias: cães com menos de 1 ano de idade, cães variando de 1,1 a 3 anos de idade, cães com 3,1 a 6 anos de idade, cães com 6,1 a 9 anos e cães com idade superior a 9,1 anos.

Análise estatística

O estudo das associações entre as variáveis de interesse foi realizado por meio do teste Quiquadrado χ^2 , usando o nível de significância de 5%.

RESULTADOS

O índice de positividade geral para hemoparasitos foi de 62,28%.

Babesia canis (Fig. 1) foi encontrado em 10,78% dos cães examinados, no diagnóstico parasitológico por esfregaço sanguíneo. Em 7,78% dos animais, encontrou-se associação de *B.canis* e *E.canis*.

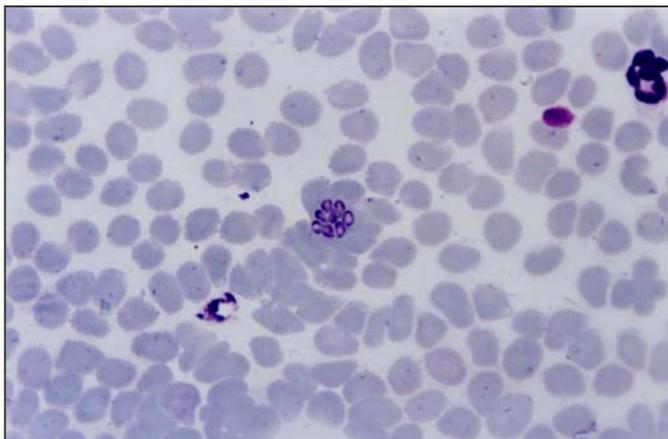


Fig. 1. Trofozoítos de *Babesia canis* identificados, pelo método de esfregaço sanguíneo, em eritrócito de cão procedente do Centro de Controle de Zoonoses de Campo Grande, MS. (Aumento de 1000X).

Ehrlichia canis (Fig. 2) foi identificado em 60,48% dos cães examinados.

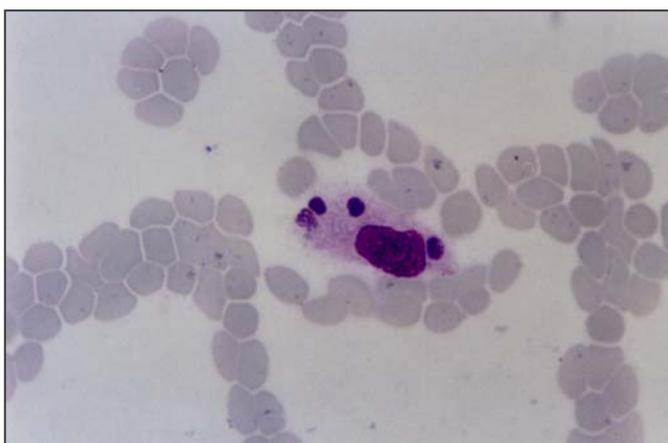


Fig. 2. Mórulas de *Ehrlichia canis*, identificadas pelo método de esfregaço sanguíneo, em monócito de cão procedente do Centro de Controle de Zoonoses de Campo Grande, MS. (Aumento de 1000X).

Hepatozoon canis (Fig. 3) foi diagnosticado em apenas 2,40% dos cães avaliados e foi encontrada associação com *E. canis* em todos os casos.

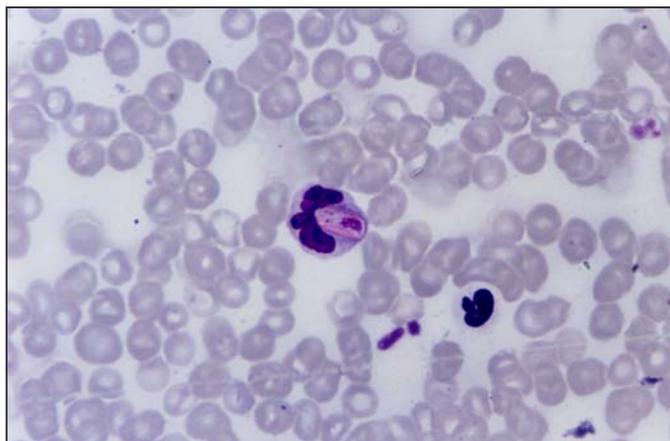


Fig. 3. Isogameta de *Hepatozoon canis*, identificado pelo método de esfregaço sanguíneo, em monócito de cão procedente do Centro de Controle de Zoonoses de Campo Grande, MS. (Aumento de 1000X).

Os carrapatos foram retirados de 23,95% (40) dos cães examinados, e estes estavam infestados apenas pela espécie *Rhipicephalus sanguineus*.

O índice de correlação de Pearson entre as faixas etárias e a presença de carrapatos ($r = 0,0844$), *B. canis* ($r = 0,0298$), *E. canis* ($0,0346$), *H. canis* ($0,0989$) foi muito fraco, mas foi encontrada diferença significativa ($p < 0,05$) entre a presença de *E. canis* em animais das faixas etárias de 1,1 a 3 anos e 6,1 a 9 anos de idade (Tabela 1).

Tabela 1. Frequência de hemoparasitos e carrapatos em cães do Centro de Controle de Zoonoses de Campo Grande, MS, 2004

Variáveis	Carrapatos	<i>Babesia canis</i>	<i>Ehrlichia canis</i>	<i>Hepatozoon canis</i>
Raça				
SRD (108)	24,07% (26)	9,25% (10)	59,26 % (64)	0,93% (1)
CRD (59)	23,73% (14)	13,56% (8)	62,71 % (37)	5,08% (3)
Sexo				
Fêmea (82)	24,39% (20)	8,54% (7)	62,20% (51)	3,67% (3)
Macho (85)	23,53% (20)	12,94% (11)	58,82% (50)	1,18% (1)
Faixa etária (anos)				
0 – 1 (31)	25,81% (8)	9,68% (3)	38,71% (12)	3,23% (1)
1,1 – 3 (69)	17,39% (12)	13,04% (9)	63,77% (44) ^a	1,45% (1)
3,1 – 6 (35)	25,71% (9)	11,43% (4)	68,57% (24)	2,86% (1)
6,1 – 9 (20)	40,00% (8)	5,00% (1)	8,00% (16) ^a	5,00% (1)
9,1 e mais (12)	25,00% (3)	8,33% (1)	41,67% (5)	-
Restrição domiciliar				
Com (84)	25,00% (21)	11,90% (10)	57,14% (48)	3,57% (3)
Sem (83)	22,89% (19)	9,64% (8)	63,86% (53)	1,20% (1)

SRD – sem raça definida; CRD – com raça definida; () valores absolutos.

^adiferença estatística $p < 0,05$.

Não foi encontrada diferença significativa ($p < 0,05$) entre a presença de carrapatos e dos hemoparasitos estudados (Tabela 2).

Tabela 2. Relação entre a ocorrência de hemoparasitos, diagnosticados pelo método do esfregaço sanguíneo, e a presença de carrapatos coletados em cães do Centro de Controle de Zoonoses de Campo Grande, MS, 2004

Hemoparasitos	<i>B.canis</i>		<i>E.canis</i>		<i>H.canis</i>	
	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo
Com carrapato	5	35	27	13	0	40
Sem carrapato	13	114	74	53	4	123

Na frequência encontrada de hemoparasitos no sangue periférico (Tabela 3) e circulante dos cães (Tabela 4), não houve diferença estatística significativa ($p < 0,05$) entre eles.

Tabela 3. Positividade para hemoparasitos em sangue de vasos periféricos de pequeno calibre de cães do Centro de Controle de Zoonoses de Campo Grande, MS, 2004

Hemoparasitos	Positivo	Negativo
<i>Babesia canis</i>	16	151
<i>Ehrlichia canis</i>	85	82
<i>Hepatozoon canis</i>	2	165

Tabela 4. Positividade para hemoparasitos em sangue da veia cefálica de cães do Centro de Controle de Zoonoses de Campo Grande, MS, 2004

Hemoparasitos	Positivo	Negativo
<i>Babesia canis</i>	11	156
<i>Ehrlichia canis</i>	69	98
<i>Hepatozoon canis</i>	2	165

DISCUSSÃO

O Centro de Controle de Zoonoses (CCZ), de Campo Grande realiza um programa de controle da população urbana de animais de pequeno, médio e grande porte, onde capturam os animais soltos em vias públicas, com o intuito de prevenir agressões e diminuir o risco de disseminação de zoonoses. Os cães são alojados em suas dependências, recolhidos nas ruas ou levados pelo proprietário, onde são mantidos em canis coletivos.

O método de diagnóstico por esfregaço sanguíneo é específico, embora pouco sensível (Almosny & Massard 2002). Mesmo assim, o índice de positividade geral para hemoparasitos foi alto (62,28%). Tal frequência alta pode ser justificada pelo fato de os cães avaliados serem procedentes do CCZ, onde existe uma elevada aglomeração de animais, dos quais uma grande parte apresenta-se com um grau de debilidade acentuado. Com isso, esse local torna-se propício para uma maior infestação de carrapatos e também aumenta a chance de adquirir e manifestar as hemoparasitoses.

Com o mesmo método de diagnóstico, O'Dwyer (2000) encontrou valores de 45,2% a 71,8% de cães infectados com os mesmos hemoparasitos no município de Pirai no Estado do Rio de Janeiro.

Babesia canis foi encontrada em apenas 10,78% dos cães examinados de Campo Grande. Essa frequência baixa, provavelmente, foi em função de se ter trabalhado com cães sem sintomatologia clínica, e isso pode explicar a baixa prevalência, já que a parasitemia em cães assintomáticos é muito baixa para ser detectada nos esfregaços sanguíneos.

Da mesma forma, Dell'Porto et al. (1993) encontraram em esfregaços sanguíneos de cães errantes da cidade de São Paulo, 10,3% de animais infectados com esse protozoário, e Paraense & Vianna (1949) obtiveram frequência de 14% de positividade em cães de rua da cidade do Rio de Janeiro. Entretanto, O'Dwyer (2000) encontrou apenas 5,2% de positividade, provavelmente porque os animais eram provenientes de áreas rurais, onde a infestação dos cães por *Rhipicephalus sanguineus* é pequena.

A alta positividade observada para *Ehrlichia canis* (60,48%) neste estudo difere dos achados de outros autores. O'Dwyer (2000) observou apenas 4,8% e Moreira et al. (2003) encontraram 16% de presença desse hemoparasito em áreas rurais do Rio de Janeiro e Belo Horizonte, respectivamente. Essa diferença de frequência ocorreu provavelmente por causa da procedência dos animais, ou seja, eram todos de áreas urbanas e também pela presença exclusiva do carrapato *Rhipicephalus sanguineus*, que é o principal transmissor dessa bactéria.

A frequência alta encontrada neste trabalho pode ser justificada, pois esse hemoparasito manifesta-se com mais facilidade, já que sua presença nos leucócitos está relacionada com a baixa imunidade do animal, independente das manifestações clínicas. Cães imunocompetentes são capazes de eliminar a infecção por *E. canis*, caso contrário pode ocorrer a fase crônica da infecção que pode persistir por um período de cinco anos.

Rodriguez-Vivas et al. (2005) encontraram também uma frequência muito baixa da bactéria, apenas 5% em cães de áreas urbanas em Yucatan no México. Uma possível explicação, para esse resultado, é que os cães estavam na fase crônica da doença, já que 44,1% deles foram soropositivos no teste de ELISA.

Houve associação de *B. canis* e *E. canis* em 7,78% dos cães avaliados, que muitas vezes dificulta o diagnóstico e favorece agravamento do quadro clínico. Tal associação foi relatada em proporções superiores por Price et al. (1987) em 20,1% (373) dos cães da

Universidade de Nairobi no Kenya e por Sales et al. (2005) em 61,1% (18) dos casos confirmados no hospital veterinário de Cuiabá no Mato Grosso.

Hepatozoon canis foi identificado em apenas 2,40% dos cães, concordando com os dados de Mylonaskis et al. (2005) que encontraram 2,90 % de isogametas no interior de neutrófilos.

Esse hemoparasito foi menos freqüente provavelmente por causa de sua via de transmissão que é a ingestão do carrapato e também por apresentar uma baixa parasitemia, ou seja, poucas formas de isogametas circulantes.

Massard (1979) demonstrou segundo a mesma técnica, que o parasitismo por *H. canis* foi mais freqüente em cães de áreas rurais (31,58%) do que em cães de áreas urbanas (4,48%), o que confirma a freqüência de 39,2 % encontrada em cães de áreas rurais do Rio de Janeiro, relatada nos trabalhos de O'Dwyer (2000) e Forlano (2002).

A coinfeção encontrada entre *H. canis* e *B. canis* e também *E. canis* foi confirmada por outros pesquisadores, como O'Dwyer et al. (1997) e Gavazza et al. (2003). Essas coinfeções dificultam sobremaneira a caracterização clínico-laboratorial da hepatozoonose canina (O'Dwyer & Massard 2001, Aguiar et al. 2004).

A única espécie de carrapato identificada nos cães do CCZ foi *Rhipicephalus sanguineus*, onde foi encontrada em 23,95% (40) dos animais examinados, e isto ocorreu pelo fato de essa espécie estar mais adaptada nas áreas urbanas e periurbanas, principalmente por apresentar hábitos nidícolas.

CONCLUSÃO

Existe coinfeção entre os hemoparasitos identificados, principalmente de *B. canis* com *E. canis* e *H. canis* com *E. canis*, o que pode dificultar o diagnóstico clínico e laboratorial. Além disso, os cães provenientes do CCZ podem adquirir e manifestar as hemoparasitoses com mais facilidade, já que estes animais estão expostos a uma maior infestação de carrapatos e também a condições de estresse ocasionadas principalmente pela grande aglomeração de animais no local, que contribuem para a disseminação dos hemoparasitos.

REFERÊNCIAS

- Aguiar D.M., Ribeiro M.G., Silva W.B., Dias Jr J.G., Megid J., & Paes A.C. 2004. Hepatozoonose canina: achados clínico-epidemiológicos em três casos. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 56(3):411-413.
- Almosny N.R.P. 1998. *Ehrlichia canis* (Donatien & Lestoquard, 1935): Avaliação Parasitológica, Hematológica e Bioquímica Sérica da Fase Aguda de Cães e Gatos Experimentalmente Infectados. Tese (Doutorado em Parasitologia Veterinária), Curso de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. 224p.
- Almosny N.R.P., & Massard C.L. 2002. Erliquiose em pequenos animais domésticos e como zoonoses, p.14-56. In: Almosny N.R.P. (Org.). Hemoparasitoses em pequenos animais domésticos e como zoonoses. L.F. Livros de Veterinária, Rio de Janeiro. 135p.
- Aragão H., & Fonseca F. 1961. Notas de Ixodologia. VIII. Lista e chave para os representantes da fauna ixodológica brasileira. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 59:115-130.
- Dell'Porto A., Oliveira M.R., Miguel O. 1993. *Babesia canis* in stray dogs of the city of São Paulo. Comparative studies between the clinical and hematological aspects and the indirect fluorescent antibody test. Rev. Bras. Parasitol. Vet. 2(1):37-40.
- Forlano M.D. 2002. Estudos da infecção natural por *Hepatozoon canis* (James, 1905) em cães (*Canis familiares*) de áreas rurais e sua relação com quatro espécies de carrapatos no município de Barra de Piraí Estado do Rio de Janeiro. Dissertação (Mestrado em Parasitologia Veterinária), Curso de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. 51p.
- Gavazza A., Bizzeti M., & Papini R. 2003. Observations on dogs found naturally infected with *Hepatozoon canis* in Italy. Revue Med. Vet. 154(8-9):565-571.
- Labarthe N., Pereira M.C., Barbarini O., Mckee W., Coimbra C.A., & Hoskins J. 2003. Serologic prevalence of *Dirofilaria immitis*, *Ehrlichia canis*, and *Borrelia burgdorferi* infections in Brazil. Vet. Ther. 4(1):67-75.
- Massard C.A. 1979. *Hepatozoon canis* (James, 1905) (Adeleida: Hepatozoidae) cães do Brasil, com uma revisão do gênero em membros da ordem carnívora. Tese (Mestrado em Parasitologia Veterinária), Curso de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. 121p.
- Moreira S.M., Bastos C.V., Araújo R.B., Santos M., & Passos L.M.F. 2003. Retrospective study (1998-2001) on canine ehrlichiosis in Belo Horizonte, MG, Brazil. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 55(2):141-147.
- Mylonaskis M.E., Leontides L., Gonen L., Billinis C., Koutinas A.F., & Baneth G. 2005. Anti-*Hepatozoon canis* serum antibodies and gamonts in naturally-occurring canine moccytic ehrlichiosis. Vet. Parasitol. 129:229-233.

- O'Dwyer L.H., Guimarães L., & Massard C.L. 1997. Ocorrência de infecção múltipla por *Babesia canis*, *Hepatozoon canis* e *Haemobartonella canis* em um cão esplenectomizado. *Rev. Bras. Cienc. Vet.* 4:83-84.
- O'Dwyer L.H.O de. 2000. Diagnóstico de hemoparasitoses e carrapatos de cães procedentes de áreas rurais em três mesorregiões do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. Tese (Doutorado em Parasitologia Veterinária), Curso de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. 114p.
- O'Dwyer L.H.O., & Massard C.L. 2001. Aspectos gerais da hepatozoonose canina. *Clínica Veterinária.* 31:34-40.
- Paraense W.L., & Vianna Y.L. 1949. Algumas observações sobre a babesiose dos cães no Rio de Janeiro. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 44:595-603.
- Price J.E., Sayer P.D., & Dolan T.T. 1987. Improved clinical approach to the diagnosis of canine ehrlichiosis. *Trop. Anim. Hlth. Prod.* 19:1-8.
- Ribeiro V.L.S., Weber M.A., Fetzer L.O., & Vargas C.R.B. 1997. Espécies e prevalência das infestações por carrapatos em cães de rua da cidade de Porto Alegre, RS, Brasil. *Ciênc. Rural.* 27(2):285-289.
- Rodriguez-Vivaz R.I., Albornoz R.E.F., & Bolio G.M.E. 2005. *Ehrlichia canis* in dogs in Yucatan, México: seroprevalence, prevalence of infection and associated factors. *Vet. Parasitol.* 127:75-79.
- Sales K.G., Dahroug M.A.A., & Barros M.M. 2005. Estudo retrospectivo de 18 casos de babesiose canina no Hospital Veterinário da Universidade Federal do Mato Grosso. Anais do I Congresso de Medicina Veterinária do Mato Grosso do Sul e II Congresso de Clínicos Veterinários de Pequenos Animais. CD-ROM.

SEGUNDO ARTIGO

Detecção de anticorpos contra *Borrelia burgdorferi* em cães procedentes do Centro de Controle de Zoonoses de Campo Grande, Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil

Fabiana Pessoa Salgado¹, Michael Robin Honer², Márcia Mayumi Ishikawa³,
Renata Cunha Madureira⁴, Cleber Oliveira Soares⁵, Leonardo Rigo⁶

ABSTRACT.-Salgado F.P., Honer M.R., Ishikawa M.M., Madureira R.C; Soares C.O., Rigo L., 2005. [**Detection of antibodies against *Borrelia burgdorferi* in dogs originate from the Center of Zoonosis Control of Campo Grande in Mato Grosso do Sul State, Brazil.**] Detecção de anticorpos contra *Borrelia burgdorferi* em cães procedentes do Centro de Controle de Zoonoses de Campo Grande, Estado do Mato Grosso do Sul, Brasil. Pesquisa Veterinária Brasileira XX (X): XXX-XXX. Curso de Mestrado em Ciência Animal, Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, 79070-900 Campo Grande, MS, Brasil. E-mail: biavet@nin.ufms.br.

Canine borreliosis has as the etiologic agent *Borrelia burgdorferi lato sensu*, which is transmitted by ixodídeos ticks and can attack human and animals. Was collected 180 blood samples of dogs originate from Center of Zoonosis Control of Campo Grande in Mato Grosso do Sul State. The serums analysed through the indirect enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) revealed 73,3% (132) of animals seropositives, with titres that varied from 1:400 (46,1%) to 1:3200 (0,5%). All dogs were examined with relationship to the presence of ticks and only the species *Rhipicephalus sanguineus* was found in 15,6% (28) of the dogs. The large number of dogs detected seropositive demonstrates the hypothesis of *Borrelia sp* event as the possible agent of *borreliose de Lyme simile* and in this way the relevance of this as emerging zoonosis.

INDEX TERMS: dogs, *Borrelia burgdorferi*, *Rhipicephalus sanguineus*, zoonosis.

¹ Mestranda do Programa de Pós-Graduação, Mestrado em Ciência Animal da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS) FUNDECT.

² Docente do CCBS da UFMS, Campo Grande, MS.

³ Pesquisadora da Embrapa CPAO, Dourados, MS.

⁴ Discente de Doutorado em Ciências Veterinárias da UFRRJ, RJ.

⁵ Pesquisador da Embrapa Gado de Corte, Campo Grande, MS.

⁶ Médico-Veterinário da Secretaria Municipal de Saúde, Campo Grande, MS.

RESUMO.-Borreliose canina tem como agente etiológico *Borrelia burgdorferi lato sensu*, que é transmitida por carrapatos ixodídeos e pode acometer seres humanos e animais. Foram coletadas 180 amostras sanguíneas de cães procedentes do Centro de Controle de Zoonoses de Campo Grande, Estado de Mato Grosso do Sul. Os soros analisados por meio do ensaio imunoadsorção enzimático (ELISA) indireto revelaram 73,3% (132) de animais soropositivos, com títulos que variaram de 1:400 (46,1%) a 1:3200 (0,5%). Todos os cães foram examinados quanto à presença de carrapatos e foi encontrada apenas a espécie *Rhipicephalus sanguineus* em 15,6% (28) dos cães avaliados. O grande número de cães soropositivos detectados demonstra a hipótese da ocorrência de *Borrelia* sp. como possível agente da borreliose de Lyme simile e desta forma a sua relevância como zoonose emergente.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: cães, *Borrelia burgdorferi*, *Rhipicephalus sanguineus*, zoonoses.

INTRODUÇÃO

Borreliose de Lyme é uma zoonose cosmopolita, causada por *Borrelia burgdorferi lato sensu* e transmitida por carrapatos ixodídeos (Johnson et al. 1984, Alves et al. 2004). Cães servem como hospedeiros para ninfas e adultos de carrapatos do gênero *Ixodes* sp., bem como outras espécies de carrapatos (Bushmich 1994).

A infecção no Brasil deve ser referida como borreliose de Lyme simile, e a sua principal manifestação clínica em humanos é o eritema migratório recidivante (Fonseca et al. 2005).

Nos cães é determinada por uma síndrome musculoesquelética caracterizada pelo comprometimento das articulações, principalmente carpiana e tarsiana, com quadro de artrite severa (Lissman et al. 1984). Raramente ocorre lesão de pele e eritema no sítio do local da picada (Appel 1990). Outros sintomas, como meningite, uveíte, glomerulonefrite e cardiopatias, têm sido relatados (Bushmich 1994, McKenna et al. 1995).

O primeiro caso de meningite de Lyme no Brasil e a ocorrência de três casos clínicos da doença de Lyme no Estado de Mato Grosso do Sul, identificados por critérios clínicos e laboratoriais, foram relatados por Costa et al. (1996).

No Brasil, estudos soroepidemiológicos para borrelioses, por meio da técnica de ELISA indireto, foram realizados em humanos (Yoshinari et al. 1997); em cães (Joppert 1995) e em bovinos (Fonseca et al. 1996, Ishikawa 1996), e a soroprevalência nesses estudos apresentou valores próximos reportados em áreas endêmicas da América do Norte (Soares et al. 1999a).

O ensaio de imunoadsorção enzimático (ELISA) indireto tem sido o método de diagnóstico mais empregado para verificar a presença de anticorpos contra *Borrelia burgdorferi lato sensu* em animais e no homem (Magnarelli et al. 1984, Gordillo et al. 1999).

O presente trabalho teve por objetivo verificar a presença de anticorpos contra *Borrelia burgdorferi* em cães provenientes do Centro de Controle de Zoonoses de Campo Grande, Estado de Mato Grosso do Sul.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostras de soros sanguíneos

Foi efetuada a coleta de sangue de 180 cães provenientes do Centro de Controle de Zoonoses, de Campo Grande, Estado de Mato Grosso do Sul.

O município de Campo Grande possui 8.096 km², está localizado geograficamente na posição central do Estado de Mato Grosso do Sul, e ocupa 2,26% da área total do Estado. A sede do município está localizado nas imediações do divisor de águas das bacias dos rios Paraná e Paraguai, e definida pelas coordenadas geográficas de 20°26'34" latitude Sul e 54°38'47" longitude Oeste, e sua altitude é de 532 metros.

Foram levantados dados referentes a sexo, idade, raça, presença de carrapatos e restrição domiciliar (Anexo 1). As amostras foram obtidas por punção da veia cefálica em seringas de 5 ML e transferidas para frascos sem anticoagulante. O sangue foi centrifugado

e os soros obtidos foram acondicionados em frascos tipo eppendorf e mantidos até o momento da análise sorológica.

Antígeno e os controles positivo e negativo

O antígeno de *Borrelia burgdorferi* cepa G39/40 e também os soros controles positivo (1) e negativos (8) foram cedidos pelo Laboratório de Doenças Parasitárias da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

Ensaio de imunoadsorção enzimático (ELISA) indireto

As 180 amostras de soros foram coletadas e analisadas por meio do ELISA indireto padronizado por Soares et al. (1999b).

Realizou-se o ensaio para detectar anticorpos da classe IgG homólogos contra *B. burgdorferi lato sensu*, com o antígeno de *B. burgdorferi stricto sensu* cepa G39/40 diluído a 15 µg/mL em tampão carbonato pH 9,6, com sensibilização de microplacas de poliestireno com 96 orifícios (M-4043, Sigma Chemical), incubadas em câmara úmida a 4°C *overnight*.

Após a sensibilização, as placas foram lavadas três vezes com PBS *tween* 20 0,05% pH 7,4 (PBS T 20) e bloqueadas com soro de coelho diluído a 1% no PBS T20, por uma hora em câmara úmida à temperatura ambiente. Posteriormente, as placas foram lavadas como já descrito.

Os oito soros controles negativos bem como os soros testes foram diluídos a 1:400 e o soro controle positivo foi diluído em série, a partir de 1:400 até 1:51200, todos no PBS T 20; essa etapa do ensaio foi incubada e lavada como a anterior. Adicionou-se às placas conjugado IgG de coelho anti IgG canina ligado à fosfatase alcalina (Sigma Chemical) na diluição de 1:1000 no PBS T 20. A incubação e lavagem seguiram a fase anterior.

As placas foram forradas com a solução reveladora composta por substrato para-nitro-fenil-fosfato de sódio (PNPP) (Sigma Chemical) diluído em tampão glicina pH 10,5 na concentração de 1mg/mL. Estas permaneceram à temperatura ambiente até a revelação e momento de leitura em espectrofotômetro para microplacas de 96 orifícios (Microplate Reader model 550, Bio-Rad Laboratories), e utilizou filtro para comprimento de onda de

405nm. Em todas as fases do ensaio utilizaram-se 200µL de solução por orifício. A linha de corte do ensaio foi estabelecida pela média aritmética dos valores de densidade óptica dos soros controles negativos mais três vezes o desvio-padrão destes (Anexo 2).

Avaliação epidemiológica

Foi realizado um estudo espacial por meio de mapas temáticos da cidade de Campo Grande, Mato Grosso do Sul, a partir do endereço completo dos proprietários dos cães. Também foram coletados os seguintes dados dos cães: sexo, idade, raça e restrição domiciliar.

Análise estatística

Foi utilizado o teste não paramétrico Quiquadrado χ^2 , por meio do programa Microstat, para observação de possíveis diferenças significativas entre as frequências encontradas nos grupos de animais de acordo com raça, sexo e idade. Foi adotado o nível de significância de 95%.

RESULTADOS

Dos 180 animais estudados, 73,3% foram reagentes ao ELISA indireto (Figura 1), com títulos de 1: 400 (62,9%), 1:800 (28%), 1:1600 (8,3%) e 1:3200 (0,8%), enquanto 26,7% foram negativos (Tabela 1).



Fig. 1. Microplaca do ELISA indireto com reações de coloração resultante da interação do anticorpo dos cães testados com antígeno de *Borrelia burgdorferi*.

Tabela 1. Frequência sorológica de anticorpos anti-*Borrelia burgdorferi* em cães (n=180) provenientes do Centro de Controle de Zoonoses de Campo Grande, Estado de Mato Grosso do Sul, determinada pelo ELISA indireto

Título	Positivos (n)	Frequência		Negativos (n)
		Relativa	Absoluta	
1:400	83	62,9%	46,1%	-
1:800	37	28,0%	20,6%	-
1:1600	11	8,3%	6,1%	-
1:3200	1	0,8%	0,5%	-
Total positivos	132	100% (132/132)	73,3% (132/180)	-
Total negativos	-	-	26,7% (48/180)	48

Os dados obtidos a partir do questionário epidemiológico revelaram a presença de 116 animais sem raça definida e 64 animais com raça definida, e quanto ao sexo, 90 machos e 90 fêmeas (Tabela 2).

Tabela 2. Frequência de *Borrelia burgdorferi* em cães do Centro de Controle de Zoonoses de Campo Grande, MS, 2004

Variáveis	Positivo	Negativo
Raça		
SRD (116)	75,00% (87)	25,00% (29)
CRD (64)	68,75% (44)	31,25% (20)
Sexo		
Fêmea (90)	70,00% (63)	30,00% (27)
Macho (90)	75,56% (68)	24,44% (22)
Faixa etária (anos)		
0 – 1 (34) ^a	44,12% (15)	55,88% (19)
1,1 – 3 (75) ^a	72,00% (54)	28,00% (21)
3,1 – 6 (35) ^{a,b}	91,43% (32)	8,57% (3)
6,1 – 9 (22) ^{a,b}	86,36% (19)	13,64% (3)
9,1 e mais (14) ^{a,b}	78,57% (11)	21,43% (3)
Restrição domiciliar		
Com (87)	67,82% (59)	32,18% (28)
Sem (93)	77,42% (72)	22,58% (21)

SRD – sem raça definida; CRD – com raça definida; () valores absolutos.

^{a,b} diferença significativa $p < 0,05$

A análise quanto à restrição domiciliar revelou que 67,82% dos cães que eram restritos ao ambiente domiciliar foram positivos, já para os cães que tinham acesso à rua, a positividade foi de 77,42%. Não houve diferença significativa entre a soropositividade observada nos cães com e sem restrição domiciliar.

Cães sem raça definida (SRD) apresentaram a frequência de 75% de soropositividade para anticorpos IgG contra *B. burgdorferi*, enquanto aqueles que tinham raça definida (CRD) apresentaram 68,75%. Não houve diferença significativa entre os cães com e sem raça definida ($p < 0,05$).

Em relação ao sexo foram detectados 70% das fêmeas e 75,57% dos machos positivos e não apresentou diferença significativa ($p < 0,05$).

Já a presença de *B. burgdorferi* nas faixas etárias estudadas nos cinco grupos revelou a frequência de soropositividade de: 44,12% dos cães de 0 até 1 ano; 72,00% dos cães entre 1,1 a 3 anos; 91,43% entre 3,1 a 6 anos; 86,36% entre 6,1 a 9 anos e 78,57% dos animais acima de 9 anos. A análise estatística constatou diferença significativa ($p < 0,05$) entre as faixas de 3,1 a 6 anos e os animais com idade superior a essa faixa.

O carrapato *Rhipicephalus sanguineus* foi a única espécie encontrada (15,6%) nos cães procedentes do Centro de Controle de Zoonoses.

Foram mapeados os endereços dos proprietários dos 180 cães, e destes, 132 foram soropositivos para *B. burgdorferi* (Figura 2) e 48 soronegativos (Figura 3).

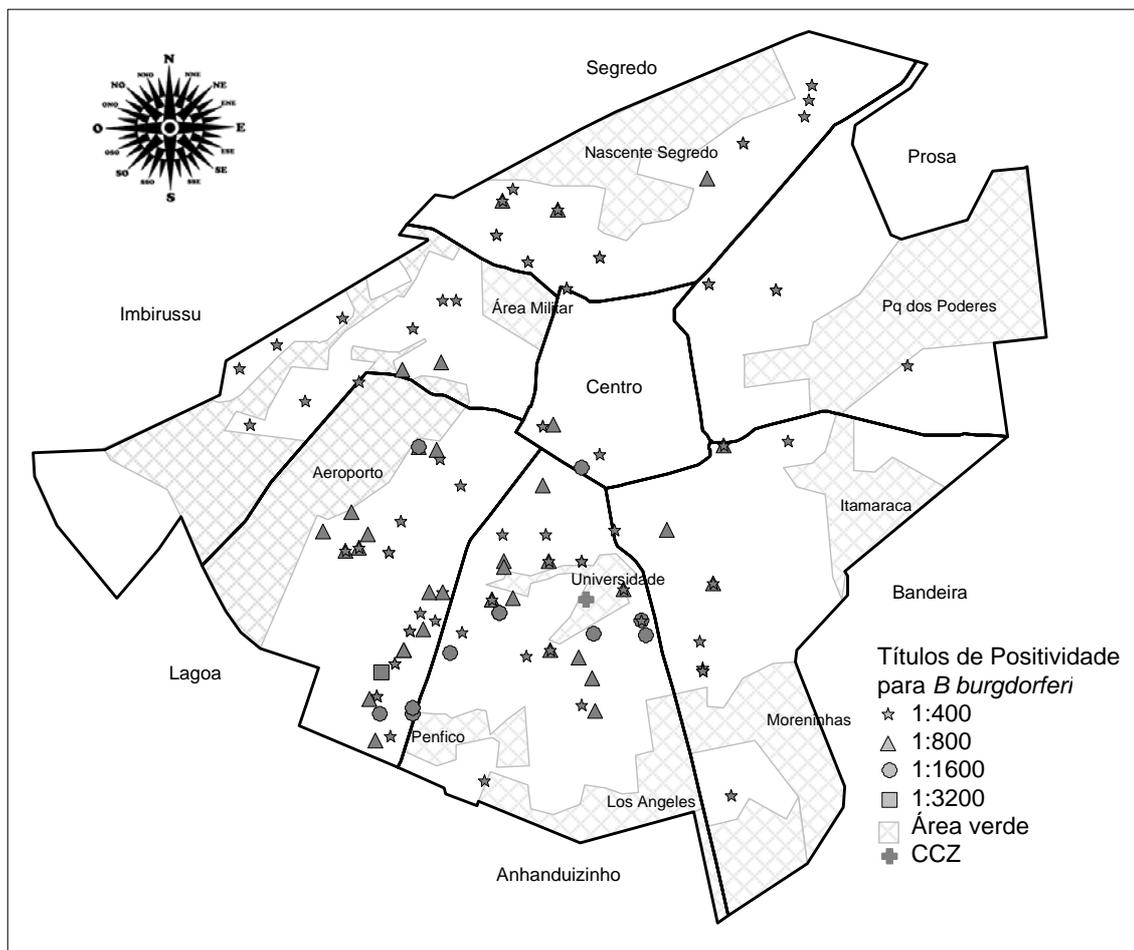


Fig. 1. Distribuição espacial de cães soropositivos para *Borrelia burgdorferi* procedentes do Centro de Controle de Zoonoses de Campo Grande, MS.

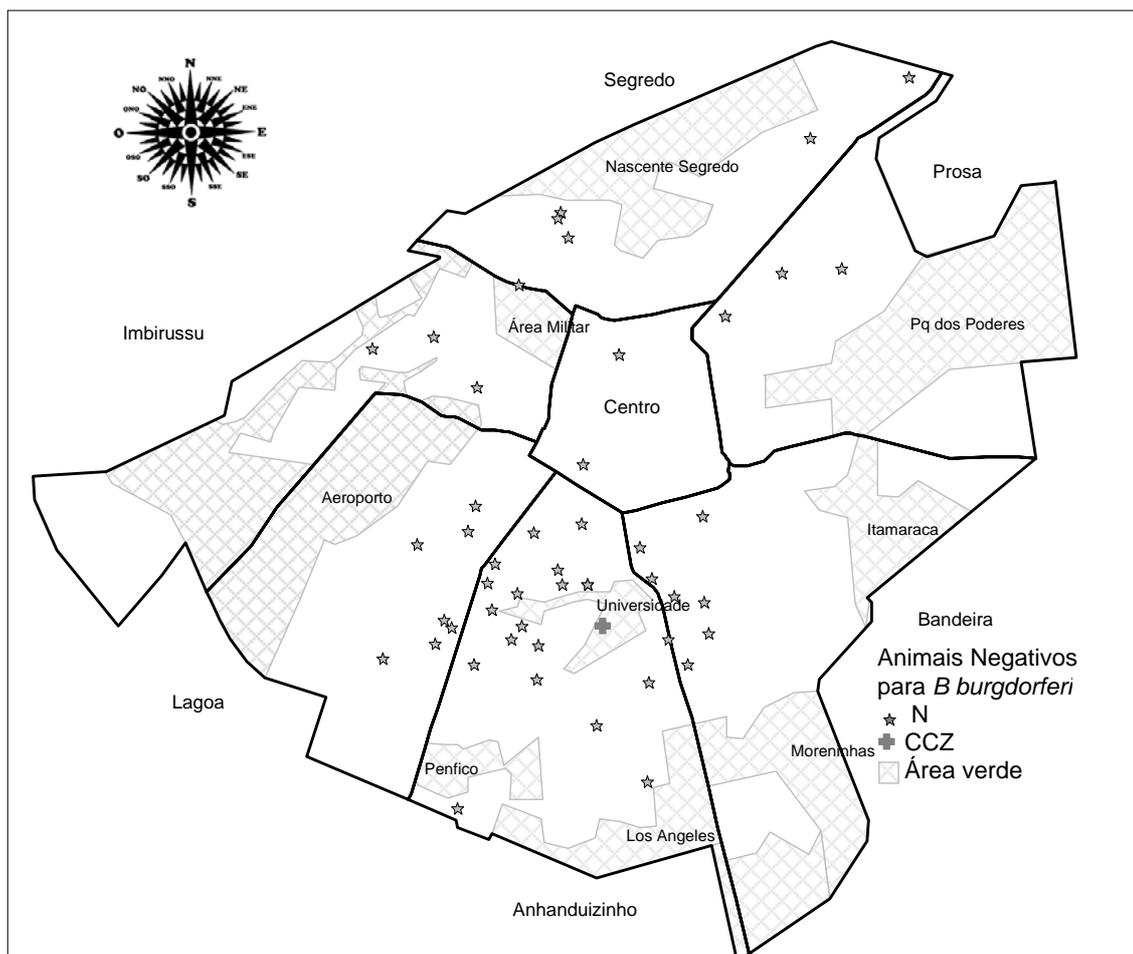


Fig. 2. Distribuição espacial de cães soronegativos para *Borrelia burgdorferi* procedentes do Centro de Controle de Zoonoses de Campo Grande, MS.

DISCUSSÃO

Campo Grande é uma cidade onde se encontram áreas periféricas formadas por cerrados, ainda em ocupação, e duas reservas florestais integradas à cidade, onde habitam animais silvestres que podem ser os potenciais reservatórios de borrelias causadoras de doenças aos animais e ao homem.

A frequência de 73,3% (132/180) de cães soropositivos para *B. burgdorferi*, obtida neste trabalho, corrobora com os dados encontrados nas áreas endêmicas para borreliose de Lyme nos EUA, onde apresentam prevalência sorológica que varia de 40% a 89% de soropositividade nos cães (Burgess 1986, Fikrig et al. 1993, O'Dwyer et al. 2004). No Japão, Azuma et al. (1994) encontraram 76,19% de cães soropositivos no método ELISA.

Tal frequência muito alta pode ser justificada em parte pelo fato de os cães serem procedentes do CCZ, onde há uma aglomeração de animais oriundos de regiões diversas. O CCZ está muito próximo de áreas de mata verde, onde existe uma considerável presença de animais silvestres e vetores, que aumenta a possibilidade de maiores infestações por carrapatos transmissores dessa borreliose.

Observou-se uma concentração maior dos cães na região sul e parte da oeste de Campo Grande tanto daqueles que apresentaram na sorologia anticorpos contra *B. burgdorferi* como para os negativos, onde pode ser justificada principalmente pela grande densidade populacional canina que existe nessas áreas próximas do CCZ. E também pela proximidade com uma reserva florestal urbana localizada no campus da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul e áreas de mata na região da base aérea, do aeroporto internacional e também próximo ao Hospital do Pênfigo.

A frequência de anticorpos contra *B. burgdorferi* encontrada em cães varia de acordo com a região fisiográfica (Azuma et al. 1994, Wright et al. 1997, Soares et al. 1999a, Joppert et al. 2001), e se torna mais freqüente em áreas endêmicas para a borreliose humana (Lindenmayer 1991).

O estudo epidemiológico da borreliose de Lyme tem como principal ferramenta imunológica o ensaio imunoenzimático ELISA indireto, por causa de suas características confiáveis de sensibilidade e especificidade (Magnarelli & Anderson 1988). Soares et al. (1999b) padronizaram o ELISA indireto para detecção de anticorpos da classe IgG anti *B. burgdorferi* em cães e o ensaio garantiu confiança de 99,99%.

O resultado observado no presente estudo revela um valor superior em relação à frequência encontrada no trabalho de Joppert et al. (2001) onde encontraram apenas 9,7% de soropositividade nos cães provenientes de Cotia na região de São Paulo. Nessa mesma região foi relatada a soroprevalência de 7,5% em humanos, também pelo ELISA indireto (Yoshinari et al. 1997).

Em estudo soroepidemiológico da ocorrência de anticorpos da classe IgG anti-*B. burgdorferi* na região da Baixada Fluminense no Rio de Janeiro, foi demonstrada pelo ELISA indireto a frequência de 20% de cães positivos em uma amostra de 150 soros (Soares et al. (1999b). Já Alves et al. (2004) detectaram 48,25% de presença de anticorpos contra *B.burgdorferi* em cães da região metropolitana do Rio de Janeiro.

Os animais SRD apresentaram um acesso maior à rua e, conseqüentemente maior probabilidade de contato com o carrapato vetor, onde foi encontrada somente a espécie *Rhipicephalus sanguineus* (15,6%), provavelmente pelo seu comportamento nidícola, que utiliza somente cães como hospedeiros para os estágios de larva, ninfa e adulto.

Da mesma forma, Guerra & Brito (2004) e Torrence et al. (1990) também observaram essa espécie de carrapatos nos cães estudados, e isto ocorreu possivelmente porque cães que têm acesso à rua apresentam uma maior exposição aos carrapatos principalmente pela falta de controle parasitário.

O'Dwyer et al. (2004) observaram em cães de áreas rurais do Estado do Rio de Janeiro, a relação entre a presença de anticorpos contra *B. burgdorferi* e os carrapatos da espécie *A. cajennense* detectados em 38,7% dos cães soropositivos e o *R. sanguineus* em 22,6%.

Os espécimes de carrapatos foram coletados de animais selvagens e domésticos nas regiões Sudeste e Centro-oeste do Brasil e encontraram infestações por *R. sanguineus* em marsupiais e roedores, o que demonstra seu parasitismo em outras espécies de animais além dos caninos (Figueiredo et al. 1999).

Houve diferença significativa entre a ocorrência de anticorpos anti-*B. burgdorferi* e as faixas etárias a partir de três anos de idade. Isto se deve provavelmente porque esses animais têm mais acesso à rua e, em conseqüência, uma maior exposição ao agente. Assim como Magnarelli et al. (1984) que observaram maior número de casos positivos, na IFI, nos cães de rua com idade superior a quatro anos de idade, e O'Dwyer (2000) relata que cães com idade superior a cinco anos apresentaram maior positividade. Greene et al. (1988) encontraram cães positivos pelo método da IFI, em todas as faixas etárias, com maior prevalência em animais de um a cinco anos.

Na epidemiologia, os títulos de anticorpos pesquisados neste trabalho não indicam doença, mas sim exposição ao agente. Entretanto, cães com sorologia positiva são considerados como indicadores do risco de transmissão do agente ao homem, já que são reservatórios para *Borrelia* sp. no ambiente domiciliar.

CONCLUSÃO

A alta frequência de anticorpos contra *Borrelia burgdorferi* encontrada em cães procedentes do Centro de Controle de Zoonoses na cidade de Campo Grande, Mato Grosso do Sul, corrobora a hipótese da presença de *Borrelia* sp nessa região, e a importância da doença de Lyme simile como uma zoonose emergente.

REFERÊNCIAS

- Alves A.L., Madureira R.C., Silva R.A., Corrêa F.N., & Botteon R.C.C.M. 2004. Frequência de anticorpos contra *Borrelia burgdorferi* em cães na região metropolitana do Rio de Janeiro. *Pesq. Vet. Bras.* 24(4):203-206.
- Appel M.J.G. 1990. Lyme disease in dogs and cats. *The Compendium.* 12(5):617-624.
- Azuma Y., Isogai E., Isogai H., & Kawamura K. 1994. Canine Lyme disease: clinical and serological evaluations in 21 dogs in Japan. *Vet. Rec.* 134:369-372.
- Burgess E.C. 1986. Natural exposure of Wisconsin dogs to the Lyme Disease spirochete *Borrelia burgdorferi*. *Laboratory Anim. Sci.* 36(3):288-290.
- Bushmich S.L. 1994. Lyme borreliosis in domestic animals. *J. Spirochetal and Tick-borne Diseases.* 1(1):1-4.
- Costa I.P.C., Yoshinari N.H., Barros P.J.L. Bonoldi V.L.N., Leon E.P., & Zeitune A.D. 1996. Relato de três casos clínicos, incluindo o primeiro relato de meningite de Lyme no Brasil. *Rev. Hosp. Clin. Fac. Med. São Paulo.* 51(6):253-257.
- Figueiredo L.T.M., Badra S.J., Pereira L.E., & Szabo M.P.J. 1999. Report on ticks collected in the Southeast and Mid-West regions of Brazil: analyzing the potencial transmission of tick-borne pathogens to man. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 32(6):613-619.
- Fikrig E., Magnarelli L.A., Chen M., Anderson J.F., & Flavell R.A. 1993. Serologic analysis of dogs, horses and cottontail rabbits for antibodies to an antigenic flagellar epitope of *Borrelia burgdorferi*. 1993. *J. Clin. Microbiol.* 31(9):2451-2455.
- Fonseca A.H., Ishikawa M.M., Soares C.O., Massard C.L., & Yoshinari N.H. 1996. Lyme borreliose serology in cattle in Brazil. *Revista da Universidade Rural, série ciência da vida.* 18(1/2):85-89.
- Fonseca A.H., Salles R.S., Salles S.A.N., Madureira R.C., & Yoshinari N.H. 2005. Borreliose de Lyme símile: uma doença emergente e relevante para a dermatologia no Brasil. *An. Bras. Dermatol.* 80(2):171-178.

- Gordillo G., Torres J., Solorzano F., Cedillo-Rivera R., & Muñoz O. 1999. Serologic evidences suggesting the presence of *Borrelia burgdorferi* infection in México. Archs. Med. Res. 30:64-68.
- Greene R.T., Levine J.F., Breitschwerdt E.B., & Berkhoff H.A. 1988. Antibodies to *Borrelia burgdorferi* in dogs in North Carolina. Am. J. Vet. Res. 49(4):473-476.
- Guerra R.M.S.N., & Brito D.R.B. 2004. Ixodofauna de mamíferos domésticos da Ilha de São Luiz, Estado do Maranhão, Brasil. Entomol. Vect. 11(3):435-444.
- Ishikawa, M.M. 1996. Epidemiologia da borreliose de Lyme em bovinos na região sudeste do Brasil e padronização do diagnóstico sorológico. Dissertação (Mestrado em Parasitologia Veterinária), Curso de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. 51p.
- Johnson S.E., Kein G.C., Schimid G.P., Hyde F.W., Steigerwalt A.G., & Brenner D.J. 1984. Lyme disease: a selective medium for isolation of the suspected etiological agent, a spirochete. J. Clin. Microbiol. 19:81-82.
- Joppert A.M. 1995. Estudo sorológico da infecção por *Borrelia burgdorferi* em cães da região de Cotia, São Paulo. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária), Curso de Pós-graduação em Medicina Veterinária e Zootecnia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP. 83p.
- Joppert A.M., Hagiwara M.K., & Yoshinari N.H. 2001. *Borrelia burgdorferi* antibodies in dogs from Cotia county, São Paulo State, Brazil. Rev. Inst. Med. Tropical São Paulo. 43:251-255.
- Labruna, M.B., & Pereira, M.C. 2001. Carrapatos em cães no Brasil. Clínica Veterinária. 30:24-32.
- Lindenmayer J.M., Marshall D., & Onderdonk A.B. 1991. Dogs as sentinels for Lyme disease in Massachusetts. American Publication of Health. 81:1448-1455.
- Lissman B.A., Bosler E.M., Camay H., Orniston B.G., & Benach J.L. 1984. Spirochete-associated arthiritis (Lyme disease) in a dog. Javma. 185(2):219-220.
- Magnarelli L.A., Meegan J.M., Anderson J.F., & Chappell W.A. 1984. Comparision of an indirect fluorescent-antibody test with an enzyme-linked imunisorbente assay for serological studies of Lyme disease. J. Clin. Microbiol. 20:181-184.
- Magnarelli L.A., & Anderson J.F. 1988. Enzyme-linked immunosorbent assays for the detection of class-specific immunoglobulins to *Borrelia burgdorferi*. Am. J. Epidemiol. 127(4):818-825.
- McKenna P. 1995. Canine Lyme disease in Belgium. Vet. Rec. 136:224:247.
- O'Dwyer L.H.O de. 2000. Diagnóstico de hemoparasitoses e carrapatos de cães procedentes de áreas rurais em três mesorregiões do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. Tese (Doutorado em Parasitologia Veterinária), Curso de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. 114p.

- O'Dwyer L.H., Soares C.O., Massard C.L., Souza J.C.P., Flausino W., & Fonseca A.H. 2004. Soroprevalência de *Borrelia burgdorferi lato sensu* associada à presença de carrapatos em cães de áreas rurais do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Ciênc. Rural*. 34(1):201-205.
- Soares C.O., Fonseca A.H., Ishikawa M.M., Manera G.B., Scofield A., & Yoshinari N.H. 1999a. Sorologia para borreliose em cães procedentes da baixada fluminense, estado do Rio de Janeiro. *Rev. Bras. Med. Vet.* 21(3):111-114.
- Soares C.O., Scofield A., Manera G.B., Ishikawa M.M., Fonseca A.H., Yoshinari N.H. 1999b. Ensaio imunoenzimático indireto na detecção de anticorpos homólogos da classe IgG contra *Borrelia burgdorferi lato sensu* em cães. *Rev. Bras. Med. Vet.* 21:153-158.
- Torrence M.E., Suzanne R.J., Jay F.L., William L.N., & Kevin D.P. 1990. Serosurvey of shelter dogs in Virginia for antibodies to *Borrelia burgdorferi*. *Preventive Vet. Med.* 10(1-2):41-46.
- Wright J.C., Chambers M., Mullen G.R., Swango L.J., D'Andrea G.H., & Boyce A.J. 1997. Seroprevalence of *Borrelia burgdorferi* in dogs in Alabama, USA. *Prev. Vet. Med.* 31:127-131.
- Yoshinari N.H., Barros P.J.L., & Bonoldi V.L.N. 1997. Perfil da borreliose de Lyme no Brasil. *Rev. Hosp. Clin. Fac. Méd. São Paulo*. 52:111-117.

2 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados da identificação dos hemoparasitos e carrapatos pelo exame parasitológico, e também da presença de anticorpos contra *Borrelia burgdorferi* por meio do ELISA indireto, permitiram considerar a importância dos hemoparasitos e carrapatos como causadores de doenças aos animais e ao homem.

A espécie canina possui anticorpos da classe IgG homólogos contra *B. burgdorferi* e também demonstram um bom reconhecimento antigênico para *B. burgdorferi* cepa G 39/40. Com isso, a frequência de cães soropositivos corrobora com a hipótese da ocorrência de *Borrelia* sp. na região estudada.

No que diz respeito à doença de Lyme simile como zoonose, é necessário que desenvolvam mais pesquisas com animais domésticos, silvestres e seus vetores nas diversas regiões do Brasil, para que dessa maneira possam ser isolados o agente etiológico e o carrapato vetor transmissor dessa borreliose de Lyme, tanto nos animais como nos seres humanos.

REFERÊNCIAS

- Aguiar D.M., Ribeiro M.G., Silva W.B., Dias Jr J.G., Megid J., & Paes A.C. 2004. Hepatozoonose canina: achados clínico-epidemiológicos em três casos. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 56(3):411-413.
- Alencar N.X., Kohagayama A., & Santarém V.A. 1997. *Hepatozoon canis* infections of wild carnivores in Brazil. Vet. Parasitol. 70:279-282.
- Almosny N.R.P. 1998. *Ehrlichia canis* (Donatien & Lestoquard, 1935): Avaliação Parasitológica, Hematológica e Bioquímica Sérica da Fase Aguda de Cães e Gatos Experimentalmente Infectados. Tese (Doutorado em Parasitologia Veterinária), Curso de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. 224p.
- Almosny N.R.P., & Massard C.L. 2002. Erliquiose em pequenos animais domésticos e como zoonoses, p.14-56. In: Almosny N.R.P. (Org.). Hemoparasitoses em pequenos animais domésticos e como zoonoses. L.F. Livros de Veterinária, Rio de Janeiro. 135p.
- Alves A.L., Madureira R.C., Silva R.A., Corrêa F.N., & Botteon R.C.C.M. 2004. Frequência de anticorpos contra *Borrelia burgdorferi* em cães na região metropolitana do Rio de Janeiro. Pesq. Vet. Bras. 24(4):203-206.
- Andereg P.I., & Passos L.M.F. 1999. Erliquiose canina: revisão. Clínica Veterinária. 19:31-38.
- Appel M.J.G. 1990. Lyme disease in dogs and cats. The Compendium. 12(5):617-624.
- Babo-Terra V.J. 2004. Aspectos clínicos e laboratoriais da infecção experimental em cães (*Canis familiaris*, Linnaeus, 1758) por *E. canis* (Donatien & Lestoquard, 1935). Tese (Doutorado em Biologia Parasitária), Curso de Biologia Parasitária, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ. 82p.
- Baneth G., & Weigler B. 1997. Retrospective case-control study of hepatozoonosis in dogs in Israel. J. Vet. Intern. Med. 11:365-370.
- Baneth G., Mathew J.S., Shkap V., Macintire D.K., Barta J.R., & Ewing S.A. 2003. Canine hepatozoonosis: two disease syndromes caused by separate *Hepatozoon spp.* Trends Parasitol. 19:27-31.

- Baneth G., Shkap V., Samish M., Pipano E., & Savitsky I. 1998. Antibody response to *Hepatozoon canis* in experimentally infected dogs. *Vet. Parasitol.* 74:299-305.
- Bicalho K.A., Passos L.M.F., & Ribeiro M.F.B. 2002. Infecção experimental de cães com amostras de *Babesia canis* isoladas em Minas Gerais. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 54(5):546-548.
- Brandão L.P., & Hagiwara M.K. 2002. Babesiose canina – revisão. *Clínica Veterinária.* 41:50-59.
- Breitschwerdt E.B. 1993. Babesiosis, p.834-841. In: Greene C.E. (Ed.). *Enfermidades infecciosas – perros y gatos.* Interamericana, México.
- Bremer W.G., Schaefer J.J., Wagner E.R., Ewing S.A., Rikihisa Y., Needham G.R., Jittapalpong S., Moore D.L., & Stich G.W. 2005. Transstadial and intrastadial experimental transmission of *Ehrlichia canis* by male *Rhipicephalus sanguineus*. *Vet. Parasitol.* 131:95-105.
- Bulla C., Takahira R.K., Paparotto T., Langrafe L., Paes P.R., & Lopes R.S. 2004. Fase aguda da ehrlichiose monocítica canina: um estudo retrospectivo de 10 anos. *Medvet.* 2(6):82-85.
- Burgess E.C. 1986. Natural exposure of Wisconsin dogs to the Lyme Disease spirochete *Borrelia burgdorferi*. *Laboratory Anim. Sci.* 36(3):288-290.
- Costa I.P., Bonoldi V.L.N., & Yoshinari N.H. 2001. Perfil clínico e laboratorial da Doença de Lyme-símile no estado de Mato Grosso do Sul: análise de 16 pacientes. *Rev. Bras. Reumatol.* 41(3):142-150.
- Costa I.P., Bonoldi V.L.N., & Yoshinari N.H. 2002. Search for *Borrelia* sp. In ticks collected from potencial reservoirs in an urban forest reserve in the state of Mato Grosso do Sul, Brazil: a short report. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro.* 97(5):631-635.
- Dagnone A.S., Morais H.S.A., Vidotto M.A., Jojima F.S., & Vidotto O. 2003. Ehrlichiosis in anemic, thrombocytopenic, or tick-infested dogs from a hospital population in South Brazil. *Vet. Parasitol.* 117:285-290.
- Fernandes F.F. 2000. Atividade in vitro de permetrina, cipermetrina e deltametrina sobre larvas de *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari, Ixodidae). *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 52:621-626.
- Figueiredo L.T.M., Badra S.J., Pereira L.E., & Szabo M.P.J. 1999. Report on ticks collected in the Southeast and Mid-West regions of Brazil: analyzing the potencial transmission of tick-borne pathogens to man. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 32(6):613-619.
- Flechtmann C.H.W. 1990. *Ácaros de importância médico-veterinária.* 3ª ed. Nobel, São Paulo. 192p.

- Fonseca A.H., Salles R.S., Salles S.A.N., Madureira R.C., & Yoshinari N.H. 2005. Borreliose de Lyme símile: uma doença emergente e relevante para a dermatologia no Brasil. *An. Bras. Dermatol.* 80(2):171-178.
- Forlano M.D. 2002. Estudos da infecção natural por *Hepatozoon canis* (James, 1905) em cães (*Canis familiares*) de áreas rurais e sua relação com quatro espécies de carrapatos no município de Barra de Piraí Estado do Rio de Janeiro. Dissertação (Mestrado em Parasitologia Veterinária), Curso de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. 51p.
- Forlano M.D. 2005. Infecção natural e transmissão experimental de *Hepatozoon canis* (James, 1905) em cães domésticos e sua caracterização molecular. Tese (Doutorado em Parasitologia Veterinária), Curso de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. 56p.
- Gondim L.F.P., Kogayagawa A., Alencar N.X., Biondo A.W., Takahira R.K., Franco S.R.V. 1998. Canine hepatozoonosis in Brazil: description of eight naturally occurring cases. *Vet. Parasitol.* 74:319-323.
- Gordillo G., Torres J., Solorzano F., Cedillo-Rivera R., & Muñoz O. 1999. Serologic evidences suggesting the presence of *Borrelia burgdorferi* infection in México. *Archs. Med. Res.* 30:64-68.
- Harrison B.A., Engber B.R., & Apperson C.S. 1997. Ticks (Acari: Ixodidae) uncommonly found biting humans in North Carolina. *J. Vector. Ecol.* 22:6-12.
- Harrus S., Waner T., Aizenberg I., & Bark H. 1998. Therapeutic effect of doxycycline in experimental subclinical canine monocytic ehrlichiosis: evaluation of a 6-week course. *J. Clin. Microbiol.* 36(7):2140-2142.
- Hoskins J.D. 1991. Ehrlichial diseases of dogs: diagnosis and treatment. *Can. Pract.* 16:13-21.
- Huxsoll D.L. 1976. Canine Ehrlichiosis (Tropical canine Pancytopenia): A Review. *Vet. Parasitol.* 2:49-60.
- Huxsoll D.L., Hildebrandt P.K., Nims R.M., Ferguson J.A., & Walker J.S. 1969. *Ehrlichia canis*. The causative agent of a hemorrhagic disease of dogs? *Vet. Rec.* 85:587.
- Irwin, P. J. 2002. Companion animal parasitology: a clinical perspective. *International Journal for Parasitology.* 32:581-593.
- Ishikawa, M.M. 1996. Epidemiologia da borreliose de Lyme em bovinos na região sudeste do Brasil e padronização do diagnóstico sorológico. Dissertação (Mestrado em Parasitologia Veterinária), Curso de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. 51p.
- Joppert A.M., Hagiwara M.K., & Yoshinari N.H. 2001. *Borrelia burgdorferi* antibodies in dogs from Cotia county, São Paulo State, Brazil. *Rev. Inst. Med. Tropical São Paulo.* 43:251-255.

- Kakoma I., & Mehlhorn H. 1994. Babesia of domestic animals, p.141-216. In: Kreier J.P. (Ed.). Parasitic protozoa. 2^a ed. Academic Press, San Diego.
- Kiral F., Karagenc T., Pasa S., Yenisey C., & Seyrek K. 2005. Dogs with *Hepatozoon canis* respond to the oxidative stress by increased production of glutathione and nitric oxide. Vet. Parasitol. 131:15-21.
- Kornblatt A.N., Urband P.H., & Steere M.D. 1985. Arthritis caused by *Borrelia burgdorferi* in dogs. Javma. 186(9):960-964.
- Labarthe N., Pereira M.C., Barbarini O., Mckee W., Coimbra C.A., & Hoskins J. 2003. Serologic prevalence of *Dirofilaria immitis*, *Ehrlichia canis*, and *Borrelia burgdorferi* infections in Brazil. Vet. Ther. 4(1):67-75.
- Labruna, M.B., & Pereira, M.C. 2001. Carrapatos em cães no Brasil. Clínica Veterinária. 30:24-32.
- Levy S.A., Dreesen D.W. 1992. Lyme borreliosis in dogs. Can. Pract. 17(2):5-13.
- Lissman B.A., Bosler E.M., Camay H., Orniston B.G., & Benach J.L. 1984. Spirochete-associated arthiritis (Lyme disease) in a dog. Javma. 185(2):219-220.
- Madureira R.C. 2004. Frequência de anticorpos homólogos anti-*Borrelia burgdorferi* em eqüinos dos municípios de Três Rios, Vassouras e Valença, Estado do Rio de Janeiro. Dissertação (Mestrado em Parasitologia Veterinária), Curso de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. 46p.
- Martinod S., Laurent N., & Moreau Y. 1986. Resistence and immunity of dogs against *Babesia canis* in an endemic area. Vet. Parasitol. 19:245-254.
- Massard C.A. 1979. *Hepatozoon canis* (James, 1905) (Adeleida: Hepatozoidae) cães do Brasil, com uma revisão do gênero em membros da ordem carnívora. Tese (Mestrado em Parasitologia Veterinária), Curso de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. 121p.
- Massard C.A., & Fonseca A.H. 2004. Carrapatos e doenças transmitidas comuns ao homem e aos animais. A Hora Veterinária. 23:15-23.
- Massard C.A., Massard C.L., & Rezende H.E.B. 1981. Carrapatos de cães de áreas urbanas e rurais de alguns estados brasileiros. Anais do Congresso Brasileiro de Parasitologia, Belo Horizonte, p. 201.
- Mather T.N., & Fish D., Coughlin R.T. 1994. Competence of dogs as reservoirs for Lyme disease spirochetes (*Borrelia burgdorferi*). Javma. 205(2):186-188.
- Matjila, P.T., Penzhorn, C.P.J., Bekker, C.P.J., Nijhof, A.M., & Jongejan, F. 2004. Confirmation of occurrence of *Babesia canis vogeli* in domestic dogs in South África. Vet. Parasitol. 122:119-125.

- McDade J.E. 1990. Ehrlichiosis- a disease of animals and humans. *J. Infect. Dis.* 161:609-617.
- Mehlhorn H., Schein E., & Voigt W.P. 1980. Light and electron microscopic study on developmental stages of *Babesia canis* within the gut of the tick *Dermacentor reticulatus*. *J. Parasitol.* 66:220-228.
- Morais H.A., Hoskins J., Almosny N.R.P., & Labarthe N. 2004. Diretrizes gerais para diagnóstico e manejo de cães infectados por *Ehrlichia* spp. *Clínica Veterinária.* 48:28-30.
- Moreira S.M., Bastos C.V., Araújo R.B., Santos M., & Passos L.M.F. 2003. Retrospective study (1998-2001) on canine ehrlichiosis in Belo Horizonte, MG, Brazil. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 55(2):141-147.
- Mundim A.V., Jacomini J.O., Mundim M.J.S., & Araújo S.F. 1992. *Hepatozoon canis* (James, 1905) em cães de Uberlândia, Minas Gerais. Relato de dois casos. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.* 29:259-261.
- Munhóz A.L.F., & Babo V.J. 1998. Estudo retrospectivo das características da Erlichiose canina. *A Hora Veterinária.* 18(106):39-43.
- Murata T., Inoue M., Tateyama S., Taura Y., & Nakama S. 1993. Vertical transmission of *Hepatozoon canis* in dogs. *J. Vet. Med. Sci.* 55:867-868.
- O'Dwyer L.H. 1996. Aspectos biológicos do desenvolvimento e da transmissão de *Babesia canis* (Piana & Galli-Valerio, 1895) pelo *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) no Brasil. Dissertação (Mestrado em Parasitologia Veterinária), Curso de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. 69p.
- O'Dwyer L.H., Massard C.L., & Pereira J.C. 2001. *Hepatozoon canis* infection associated with dog ticks of rural areas of Rio de Janeiro state, Brazil. *Vet. Parasitol.* 94:143-150.
- O'Dwyer L.H., Soares C.O., Massard C.L., Souza J.C.P., Flausino W., & Fonseca A.H. 2004. Soroprevalência de *Borrelia burgdorferi* *latu sensu* associada à presença de carrapatos em cães de áreas rurais do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Ciênc. Rural.* 34(1):201-205.
- O'Dwyer L.H.O de. 2000. Diagnóstico de hemoparasitoses e carrapatos de cães procedentes de áreas rurais em três mesorregiões do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. Tese (Doutorado em Parasitologia Veterinária), Curso de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. 114p.
- O'Dwyer L.H.O., & Massard C.L. 2002. Babesiose em pequenos animais domésticos e como zoonoses, p.57-67. In: Almosny N.R.P. (Org.). Hemoparasitoses em pequenos animais domésticos e como zoonoses. L.F. Livros de Veterinária, Rio de Janeiro. 135p.
- Oliveira D., Nishimori C.T., Costa M.T., Machado R.Z., & Castro M.B. 2000. Anti-*Ehrlichia canis* antibodies detection by "Dot-Elisa" in naturally infected dogs. Brazil. *J. Vet. Parasitol.* 9:1-5.

- Oriá A.P., Pereira P.M., & Laus J.L. 2004. Uveitis in dogs infected with *Ehrlichia canis*. Cienc. Rural. 34(4):1289-1295.
- Pfister H.W., Wilske B., & Weber K. 1994. Lyme borreliosis: basic science and clinical aspects. Lancet. 343:1013-1016.
- Ribeiro M.F.B., Passos L.M.F., Lima J.D., & Guimarães A.M. 1990. Frequência de anticorpos fluorescentes anti-*Babesia canis* em cães de Belo Horizonte, Minas Gerais. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 42:511-517.
- Ribeiro V.L.S., Weber M.A., Fetzer L.O., & Vargas C.R.B. 1997. Espécies e prevalência das infestações por carrapatos em cães de rua da cidade de Porto Alegre, RS, Brasil. Ciênc. Rural. 27(2):285-289.
- Rikihisa Y. New taxonomy of the family Anaplasmataceae and phylogram of the family Anaplasmataceae. On-line, acesso em 10/05/2005, <http://riki-lb1.vet.ohio-state.edu/ehlichia/background.php>.
- Rodrigues A.F.S.F., Daemon E., & D'Agosto M. 2001. Investigação sobre alguns ectoparasitos em cães de rua do município de Juiz de Fora, Minas Gerais. Rev. Bras. Parasitol. 10(1):13-19.
- Rodriguez-Vivaz R.I., Albornoz R.E.F., & Bolio G.M.E. 2005. *Ehrlichia canis* in dogs in Yucatan, México: seroprevalence, prevalence of infection and associated factors. Vet. Parasitol. 127:75-79.
- Schettters T.P.M., Moubri K., Précigout E., Kleuskens J., Scholtes N.C., & Gorenflot A. 1997. Different *Babesia canis* isolates, different diseases. Parasitology. 115:485-493.
- Skotarczak B. 2003. Canine ehrlichiosis. Ann. Agric. Environ. Med. 10:137-141.
- Soares C.O., Ishikawa M.M., Fonseca A.H., Yoshinari N.H. 2000. Borrelioses, agentes e vetores. Pesq. Vet. Bras. 20:1-19.
- Straubinger R.K. 2000. Recent advances in canine infectious diseases. On-line, acesso em 19 de outubro de 2005. <http://www.ivis.org>.
- Swango L.J., Bankemper K.W., & Kong L.I. 1989. Bacterial, Rickettsial, Protozoal and Miscelalaneous infections, p.265-297. In: Ettinger S.J. (Ed.). Textbook of Veterinary Internal Medicine. 7ª ed., Saunders, Philadelphia.
- Taboada J. 1998. Babesiosis. p.473-481. In: Greene C.E. (Ed.). Infectious diseases of the dog and cat. 2ª ed., Saunders, Philadelphia.
- Torres F.D., Figueiredo L.A., & Faustino M.A.G. 2004. Ectoparasitos de cães provenientes de alguns municípios da região metropolitana do Recife, Pernambuco, Brasil. Rev. Bras. Parasitol. Vet. 13(4):151-154.
- Uilenberg G., Franssen F.F.J., Perié N.M., & Spanjer A.A.M. 1989. Three groups of *Babesia canis* distinguished and a proposal for nomenclature. Vet. Q. 11:33-40.

- Wiebe K. 1995. Canine Lyme borreliosis in Ontário – a case report. *Can. Vet. J.* 36:513-514.
- Yamane I., Thomford J.W., Gardner I.A., Dubey J.P., Levy M., & Conrad P.A. 1993. Evaluation of the indirect fluorescent antibody test for diagnosis of *Babesia gibsoni* infections in dogs. *Am. J. Vet. Res.* 54:1579-1584.
- Yoshinari N.H., Abrão M.G., Bonoldi V.L.N., Soares C.C., Madruga C.R., & Scofield A. 2003. Coexistence of antibodies to tick-borne agents of Babesiosis and Lyme Borreliosis in patients from Cotia County, State of São Paulo, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 98:311-318.

ANEXOS

ANEXO 1

Questionário para Coleta dos Dados Caninos



UFMS

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL

- 1) Registro no CCZ:
- 2) Data/...../.....
- 3) Proprietário
- 4) Endereço
- Bairro
- Cidade
- Estado
- 5) Telefone
- 6) Nome do Animal
- 7) Raça
- 8) Sexo
- 9) Idade
- 10) Sinais clínicos
- 11) Tratamento? sim () não ()
Quais:
- 12) Área? urbana () rural ()
- 13) Possui ectoparasito? carrapatos () pulgas () outros ()
- 14) Alimentação? ração () comida caseira ()
- 15) Contato com outros animais? sim () não ()
cão () gato () bovino () eqüino ()
outros
- 16) Hábito de sair na rua? sim () não ()

ANEXO 2

Mapa para o acompanhamento imunoabsorção enzimático ELISA UFMS – CPGCA - Fabiana Pessoa Salgado

Data:

Cont. posit.

Cont. neg.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B												
C												
D												
E												
F												
G												
H												

Obs:

D.O	Título

ANÁLISE
Media =
Desvio Padrão =
“Cut-off” =