

UNIVERSIDADE VILA VELHA - ES
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

**AVALIAÇÃO DA OCORRÊNCIA DE HEMOPARASIToses EM
FELINOS SEMIDOMICILIADOS, COM FOCO EM *Babesia* spp., DA
REGIÃO DA GRANDE VITÓRIA - ES**

TESSY YOSHANA OKUMA DE OLIVEIRA

VILA VELHA
2023

UNIVERSIDADE VILA VELHA - ES
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

**AVALIAÇÃO DA OCORRÊNCIA DE HEMOPARASITOSE EM
FELINOS SEMIDOMICILIADOS, COM FOCO EM *Babesia* spp., DA
REGIÃO DA GRANDE VITÓRIA - ES**

Dissertação apresentada à Universidade Vila Velha como pré-requisito do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, para obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal.

TESSY YOSHANA OKUMA DE OLIVEIRA

VILA VELHA
2023

Catálogo na publicação elaborada pela Biblioteca Central / UVV-ES

O48a Oliveira, Tessy Yoshana Okuma de.
Avaliação da ocorrência de hemoparasitoses em felinos semidomiciliados, com foco em *Babesia* spp., da Região da Grande Vitória – ES / Tessy Yoshana Okuma de Oliveira. – 2023.
39 f.: il.

Orientador: Fabio Ribeiro Braga.
Dissertação (mestrado em Ciência Animal) - Universidade Vila Velha, 2023.
Inclui bibliografias.

1. Medicina veterinária. 2. Felinos. 3. Artrópode.
I. Braga, Fabio Ribeiro. II. Universidade Vila Velha. III. Título.

CDD 636.89

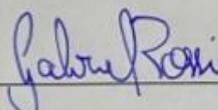
TESSY YOSHANA OKUMA DE OLIVEIRA

"AVALIAÇÃO DA OCORRÊNCIA DE HEMOPARASITOSE EM FELINOS SEMIDOMICILIADOS, COM FOCO EM *BABESIA SPP.*, DA REGIÃO DA GRANDE VITÓRIA – ES"

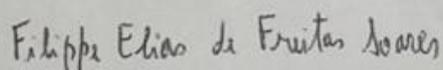
Dissertação apresentada à Universidade Vila Velha, como pré-requisito do Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, para a obtenção do grau de Mestra em Ciência Animal.

Aprovada em 28 de fevereiro de 2023,

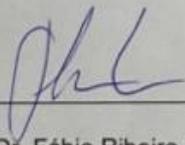
Banca Examinadora:



Prof. Dr. Gabriel Augusto Marques Rossi (Universidade Vila Velha)



Prof. Dr. Filipe Elias de Freitas Soares (Universidade Federal de Lavras)



Prof. Dr. Fábio Ribeiro Braga (Universidade Vila Velha)

Orientador

Dedico este trabalho a minha família, amigos e aos meus animais, por sempre me incentivarem e apoiarem na concretização deste sonho.

AGRADECIMENTOS

Não há como iniciar sem agradecer primeiramente a Deus, por me permitir concluir mais uma etapa dessa longa jornada da vida.

Minha gratidão a Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo (FAPES/ES- Edital FAPES nº 11/2020 - PROCAP MESTRADO 2021), pelo fomento a esta pesquisa, proporcionando recursos para tal e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Vila Velha (PPGCA-UVV)

Ao meu marido Davidson, que suportou e aguentou meus surtos, obrigada por tentar me acalmar e me mostrar que sou capaz. Você é meu porto seguro e sei que não teria conseguido sem seu auxílio, isso é nossa conquista.

A minha família, em especial a minha mãe que me ajudou nesse finalzinho do mestrado ao me dar o suporte necessário e me tranquilizar para escrever; a minha irmã e Vivica por sempre estarem presentes e aos meus irmãos, cunhados(as), sobrinhos(as) por me distraírem quando precisava descansar. Aos meus sogros, que são minha segunda família, que sempre faziam comidinhas deliciosas.

Aos meus amigos, em especial a Bia, o Luan e o Yuri que me acompanharam de perto nessa loucura e que sempre me acudiram nas horas que precisava, obrigado amigos, não conseguiria sem vocês. A Mariana, Fran, Bruna e Livia pelos momentos de muita risada e bons papos.

A minha amiga Emy Hiura, que me acompanha desde a graduação e sempre me ajudou em tudo, não tenho palavras para você, obrigadaa!

Ao meu orientador Dr. Fábio Braga, que foi ímpar para que eu concretizasse com excelência esse mestrado, obrigada por sempre me direcionar e me socorrer quando era preciso. Você é uma referência de profissional e pesquisador, tenho muito que aprender com você mestre.

Aos meus animais (Kimi, Yumi e Jimmy) que em todo momento sempre estavam ao meu lado enquanto escrevia, vocês são meu “combustível” para evoluir todos os dias como profissional.

Por fim, obrigada as ONG´s, por terem cedido os animais para esta pesquisa, as pessoas que me ajudaram nas coletas e no processamento das amostras (serei falha se colocar nomes), obrigada a todos que contribuíram de alguma forma nesse projeto, isso é fruto do trabalho de todos! Obrigada e Deus abençoe vocês!!!

SUMÁRIO

Lista de abreviaturas e siglas	
RESUMO	1
ABSTRACT	2
1. INTRODUÇÃO	3
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	5
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	15
4. RESULTADOS.....	17
5. DISCUSSÃO	20
6. CONCLUSÃO	23
7. AGRADECIMENTOS.....	23
8. REFERÊNCIAS	24

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

µL: Microlitro

µm: Micrômetro

CEUA: Comissão de Ética no Uso de Animais

CHCM: Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média

CID: Coagulação Intravascular disseminada

DNA: Ácido desoxirribonucleico.

EDTA: Acido Etileno Diamino Tetracético.

ELISA: Ensaio Imunoenzimático

ES: Espírito Santo

g/dL: gramas por decilitro

IBGE: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IM: Intramuscular

Kg: Kilograma

L: litro

Mg: Miligrama

Mi: milhões

Mil: mil

mm: Milímetros

ONG's: Organizações não governamentais

PCR: Reação em Cadeia pela Polimerase

qPCR: PCR quantitativo em Tempo Real

RIFI: Imunofluorescência Indireta

RPM: rotações por minuto

rRNA: Ácido Ribonucléico Ribossômico

SMF: Sistema Monocítico Fagocitário

SRD: Sem Raça Definida

UVV: Universidade Vila Velha

VCM: Volume Corpuscular Médio

VO: Via Oral

RESUMO

DE OLIVEIRA, TESSY Y. O., M.Sc, Universidade Vila Velha – ES, fevereiro de 2023. **Avaliação da ocorrência de hemoparasitoses em felinos semidomiciliados, com foco em *Babesia* spp., da Região da Grande Vitória – ES.** Orientador: Fábio Ribeiro Braga.

As hemoparasitoses representam uma parcela das afecções que atingem os felinos e, infelizmente, muitos desses animais são assintomáticos até o momento em que há falha na imunidade, levando à manifestação de sinais que podem levar o animal ao óbito. Nesse sentido, a babesiose é uma das principais hemoparasitoses nestes animais e aquela que necessita de maiores esclarecimentos, principalmente no que se refere a sua presença no Estado do Espírito Santo (ES). Nessa perspectiva, chama-se atenção para as fronteiras territoriais do ES com os demais estados do sudeste que já possuem literatura confirmada da presença de *Babesia* spp., porém até o presente momento não há relatos da presença desse protozoário em felinos no ES. Dessa forma, o objetivo do presente trabalho foi realizar o levantamento da ocorrência das principais hemoparasitoses que ocorrem nas cidades de Serra, Vitória e Vila Velha, com foco no gênero *Babesia* spp., bem como relatar a sua ocorrência em felinos pela primeira vez. Para tanto, foram obtidas o total de 40 amostras advindas de 3 organizações não governamentais (ONG's) de proteção a animais, cada uma localizada em um dos municípios citados. Foram confeccionadas lâminas da margem da pina auricular e coleta de sangue periférico armazenado em tubo EDTA, para posterior confecção do esfregaço sanguíneo, capa leuco-plaquetária, coloração, análise hematológica e pesquisa de hemoparasitas no Laboratório Clínico do Hospital Veterinário da Universidade Vila Velha (UVV). Foram analisados 100 campos aleatórios de cada lâmina. Constatou-se que 16 felinos apresentaram alguma estrutura em lâmina, sendo 13 amostras sugestivas de *Mycoplasma* spp. (81,25%), 2 para *Anaplasma* spp. (12,5%) e 1 para *Babesia* spp. (6,25%), mediante a isto, a amostra positiva para *Babesia* spp. foi enviada para análise molecular qualitativo de um laboratório particular, sendo negativa no qPCR. Logo, os hemoparasitos recorrentes em gatos nas regiões de Serra, Vitória e Vila Velha foram *Mycoplasma* spp. e *Anaplasma* spp., e apesar do resultado negativo no qPCR para *Babesia* spp. a primícia deste estudo foi verificar uma possível eventualidade da presença deste hemoparasito, visto que houve fatores que limitaram esta pesquisa, além de diversas variáveis que influenciam neste achado. Dessa forma, maior número de pesquisas futuras em regiões mais afastadas no estado do Espírito Santo e com emprego do diagnóstico molecular de hemoparasitoses são sugeridos.

Palavras-chave: *Anaplasma* spp.; artrópodes; babesiose; *Mycoplasma* spp., piroplasma.

ABSTRACT

DE OLIVEIRA, TESSY Y. O., M.Sc, University of Vila Velha – ES, february de 2023. **Evaluation of the occurrence of hemoparasitoses in semi-domestic felines, with focus on *Babesia* spp. in the region of Grande Vitória - ES.** Advisor: Fábio Ribeiro Braga.

Hemoparasitoses represent a portion of the diseases that affect felines and, unfortunately, many of these animals are asymptomatic until the moment in which there is a failure of immunity, leading to the manifestation of signs that can lead the animal to death. In this sense, babesiosis is one of the main hemoparasitoses in these animals and one that needs further clarification, especially regarding its presence in the state of Espírito Santo (ES). In this perspective, attention is drawn to the territorial borders of the ES with other southeastern states that already have confirmed literature on the presence of *Babesia* spp. However, up to the present moment, there are no reports of the presence of this protozoan parasite in cats in ES. Thus, the objective of the present study was to survey the occurrence of the main hemoparasitoses occurring in the cities of Serra, Vitória and Vila Velha, focusing on *Babesia* spp. genus, as well as to report its occurrence in cats for the first time. For this, a total of 40 samples were obtained from 3 non-governmental organizations (NGOs) of animal protection, each one located in one of the cities mentioned above. Slides were made from the margin of the auricular pinna and peripheral blood was collected and stored in an EDTA tube for later preparation of the blood smear, buffy coat, staining, hematological analysis and research of hemoparasites in the Clinical Laboratory of the Veterinary Hospital of the University of Vila Velha (UVV). A total of 100 random fields from each slide were analyzed. It was found that 16 cats presented some structure on the slides, 13 samples were suggestive of *Mycoplasma* spp. (81.25%), 2 for *Anaplasma* spp. (12.5%) and 1 for *Babesia* spp. (6.25%). Therefore, the recurring hemoparasites in cats in the regions of Serra, Vitória and Vila Velha were *Mycoplasma* spp. and *Anaplasma* spp., and despite the negative result in the qPCR for *Babesia* spp. the primary objective of this study was to verify a possible eventual presence of this hemoparasite, since there were factors that limited this research, besides several variables that influence this finding. Thus, more future studies in more distant regions in the state of Espírito Santo and using the molecular diagnosis of hemoparasitoses are suggested.

Keywords: *Anaplasma* spp.; arthropods; babesiosis; *Mycoplasma* spp., pyroplasma.

1. INTRODUÇÃO

Desde a antiguidade, os animais possuem uma relação com os seres humanos, culminando na domesticação que resultou no estreitamento da relação com os animais, levando-os a alcançarem atualmente um espaço importante dentro das famílias. Segundo dados do IBGE (2019), 72% (28.404) dos lares brasileiros possuem algum animal de companhia (cão ou gato). Especificamente dos felinos, 15,2% (4.868) dos lares da região Sudeste possuem ao menos um gato (IBGE, 2019). Além disso, uma pesquisa realizada nos lares capixabas destaca que a cada dez residências, sete possuem animais de estimação. Sendo os cães (862.876) a liderarem o topo da lista, conseguinte os pássaros (469.759), felinos (249.384) e por fim os peixes com 68.251 (MISSIO, 2015). Devido a essa proximidade, há uma crescente preocupação relacionada à saúde única.

As hemoparasitoses representam uma parcela das afecções que atingem os felinos, e por possuírem vetores em comum, como o carrapato e a pulga, favorecem a disseminação dessas doenças. A Babesiose, Cytauxzoonose, Micoplasmose e Anaplasmoses são exemplos de doenças que infectam essas espécies, tendo como agentes etiológicos protozoários para as duas primeiras doenças e bactérias Gram-negativas respectivamente (Taylor et al., 2017). Por cursarem de forma variável, os sinais clínicos geralmente são inespecíficos e podem se apresentar de quadros subclínicos a quadros agudos que podem levar a óbito; se houver coinfeção associada o prognóstico é reservado. Os animais que possuem sinais clínicos, demonstram letargia, depressão, anorexia, em alguns casos anemia e febre (Birkenheuer, 2015).

Para o diagnóstico das hemoparasitoses de forma geral, é necessária a associação do histórico, da clínica do animal, de exames laboratoriais (hemograma completo, bioquímica sérica), além de exames complementares, que consistem na pesquisa de hemoparasitas em lâmina de esfregaço sanguíneo, sorologia e reação de cadeia polimerase (PCR). Sendo o padrão ouro o diagnóstico molecular (PCR) (Solano-Gallego e Baneth, 2011; Penzhorn e Oosthuizen, 2020).

O tratamento instituído na babesiose consiste na administração do dipropionato de imidocarb, e no caso específico da *Babesia felis* a utilização do fosfato de primaquina, por apresentar melhor resposta (Takahira, 2016).

Dentre as doenças citadas, a babesiose em felinos é a que necessita de maiores esclarecimentos, devido à escassez de relatos (O'Dwyer e Massard, 2002; Silva-Santos et al., 2014; Penzhorn e Oosthuizen, 2020). No Brasil, essa doença já foi relatada em estados como São Paulo (Carneiro, 2007), Rio de Janeiro (Gazeta et al., 2004; Palmer et al., 2022), Rondônia (André et al., 2022), Sergipe (Silva-Santos et al., 2014) e Minas Gerais (Pereira, 2018, André et al., 2022) acometendo felinos domiciliados, onde detectaram piroplasmídeos em esfregaço sanguíneo, porém em alguns casos, não foi possível realizar a distinção entre *Babesia* spp. e *Cytauxzoon felis* (Pichotano et al., 2004). Molecularmente Carneiro (2007) confirmou a infecção por *Babesia canis vogeli* em uma gata em São Paulo, André et al. (2015) em 8 felinos no Mato Grosso do Sul e Palmer et al. (2022) em 6 felinos no Rio de Janeiro. O Estado do Espírito Santo (ES) possui divisa com alguns desses estados, porém até o presente momento não há relatos da presença desse protozoário em felinos. Este estado possui 78 municípios, sendo os pertencentes a Grande Vitória: Cariacica, Fundão, Guarapari, Serra, Viana, Vila Velha e Vitória (Espírito Santo, 2001).

Dada a importância dessas doenças, este estudo teve a finalidade de realizar um levantamento da ocorrência das principais hemoparasitoses nas cidades da Serra, Vitória e Vila Velha, com foco no gênero *Babesia* spp., com o objetivo de relatar, caso ocorresse, a aparição desta infecção em felinos pela primeira vez no estado do Espírito Santo - Brasil.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

***Babesia* spp.**

Histórico

O gênero *Babesia* possui essa nomenclatura em reconhecimento a Victor Babés, que em 1888 observou e relatou micro-organismos intraeritrocitários em bovinos da Romênia e posteriormente em ovelhas (Uilenberg, 2006). O primeiro relato de *Babesia* em felinos ocorreu na Índia por Lingard e Jennings em 1904, porém a descrição e caracterização foi realizada por Davis (1929), onde observou piroplasmídeos em um gato selvagem sudanês (*Felis ocreata*), propondo o nome *Babesia felis*. A doença clínica foi descrita por Jackson e Dunning em 1937, infectando um cão e um felino doméstico na África do Sul, onde o felino apresentou febre alta, conjuntiva pálida e icterica, no esfregaço sanguíneo havia sinais de anemia e presença de piroplasmas, não sendo possível distinguir morfologicamente o parasito visto por Davis (*B. felis*), devido à similaridade e relação, nomearam-na de *Nuttalia felis* var. *doméstica*. Em seguida outras espécies de piroplasmas foram descritos infectando felinos selvagens e domésticos como *B. cati*, *B. herpailuri*, *B. leo*, *B. pantherae* (Takahira, 2016) e *B. canis* (Criado-Fornelio et al., 2003; Carneiro, 2007).

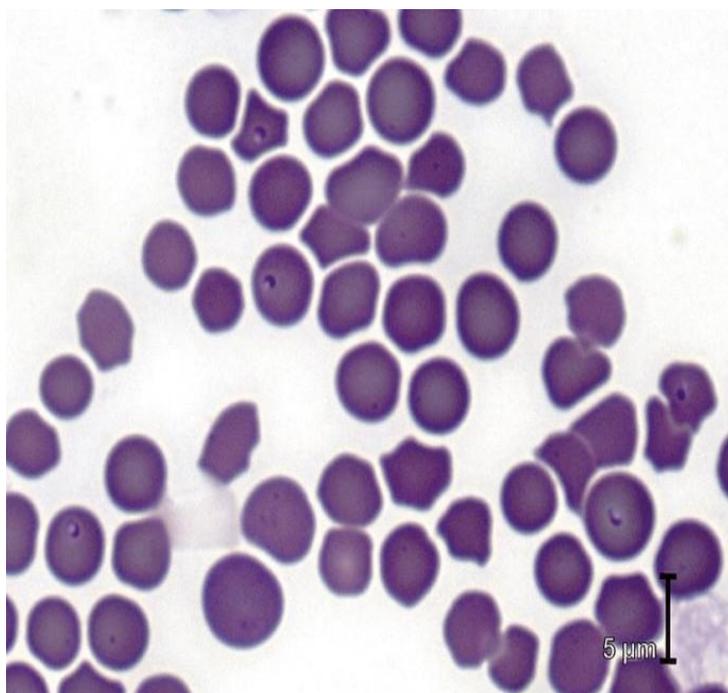
Anteriormente, a *Babesia* era classificada de acordo com sua morfologia (pequena ou grande) e/ou tipo de hospedeiro (Uilenberg, 2006), sendo descritos cinco tipos em felinos, *B. felis*, *B. cati*, *B. leo*, *B. pantherae* e *B. herpailuri*, sendo as duas últimas consideradas grandes babésias (Ayoob et al., 2010; Penzhorn e Oosthuizen, 2020). Porém essa classificação é controversa visto que os piroplasmas mudam sua conformação ao se reproduzir nos eritrócitos, além de poder ocorrer falhas nas mensurações das babésias. Com os avanços da ciência, a caracterização molecular possibilitou a distinção das espécies de *Babesia*, foram descritas 11 espécies, sendo a primeira identificada como *Babesia felis sensu stricto* em 2001 (Penzhorn e Oosthuizen, 2020). O gene utilizado nessa classificação é a variação do gene 18S rRNA, e para delimitar os tipos de hemoparasitas envolvidos, usa-se o locus 18S (Greay et al., 2019).

Etiologia

A *Babesia* spp. pertence ao filo *Apicomplexa*, ordem *Piroplasmorida*, família *Babesiidae* e gênero *Babesia* spp. (Taylor et al., 2017). É um protozoário

intraeritrocitário, que se apresenta em formato de pêra, sendo encontrado em forma única, em pares ou em cruz, podendo ser redonda ou subesférica (Lempereur et al., 2017). Há várias espécies de babésias relatadas afetando desde animais de companhia aos de produção, nos felinos a *Babesia felis* (figura 1) já foi caracterizada como piroplasma pequeno, de formato arredondado, possuindo mensuração 1,5 a 2 μm de diâmetro (Taylor et al., 2017).

Figura 1. Esfregaço sanguíneo de felino com sinais clínicos de babesiose, mostrando pequeno piroplasma intraeritrocitária *Babesia felis* (*sensu lato*) (Bosman et al., 2019).



Distribuição geográfica

A Babesiose ocorre mundialmente e foi relatada em diversos Países (Ayoob et al., 2010; Schnittger et al., 2012; Penzhorn e Oosthuizen, 2020), sendo a babesiose canina a mais relatada e a de maior ocorrência quando comparada a babesia em felinos (Pereira, 2018). Dentre as espécies de babesia relatadas em felinos, a mais patogênica é a *Babesia felis*, uma espécie que ocorre frequentemente no sul da África do Sul e no Sudão, principalmente no verão (Jacobson et al., 2000; Birkenheuer, 2015), alguns casos isolados já foram relatados na França, Alemanha, Índia, Reino Unido, Israel e na Tailândia (Takahira, 2016). Outra babesia que infecta os felinos é a *B. canis*, relatada na Europa por Criado-Fornelio et al. (2003) demonstrando que não há relação

espécie-específica dos piroplasmas em relação aos seus hospedeiros (Carneiro, 2007).

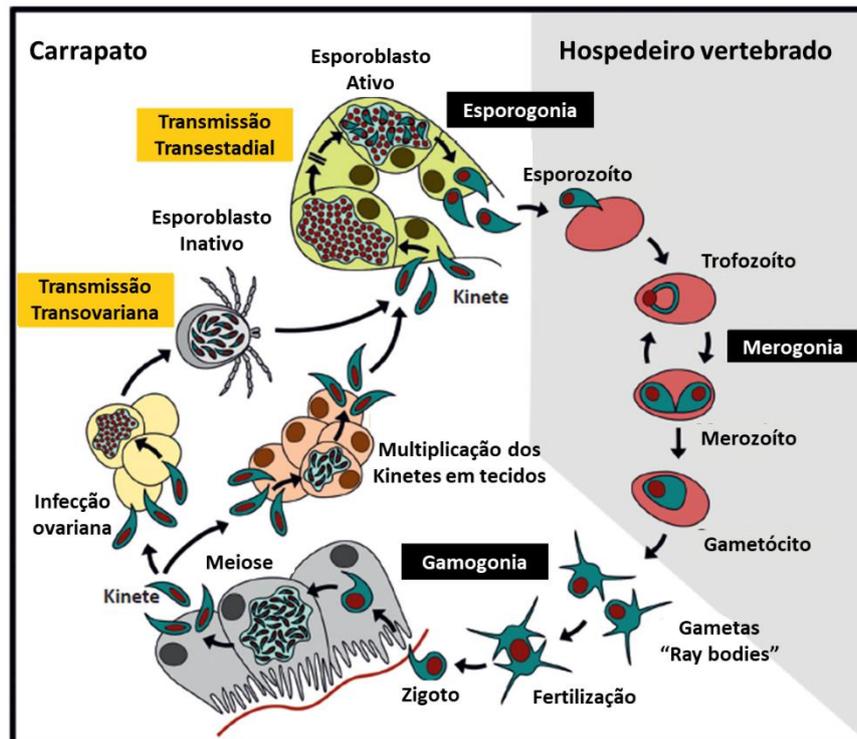
Ciclo biológico

O ciclo biológico da babesiose em felinos ainda não é esclarecido, mas acredita-se que o seu ciclo e sua transmissão, sejam semelhantes ao da babesiose canina que já é conhecido.

Os carrapatos ixodídeos, são os principais transmissores da *Babesia* sp. em cães, por isso, a ocorrência dessa infecção é relacionada com a distribuição desses vetores e de seus hospedeiros (Birkenheuer, 2015). Alguns gêneros de artrópodes envolvidos na infestação e propagação da infecção em gatos são *Rhipicephalus*, *Dermacentor*, *Amblyomma* e *Haemophysalis* (Ayoob et al., 2010), sendo o *Rhipicephalus sanguineus* o mais comum no Brasil (Malheiros et al., 2016) e o mais encontrado no Espírito Santo (Vieira et al., 2018).

De forma geral, o ciclo é dependente de um carrapato ixodídeo infectado (figura 2), onde nas glândulas salivares deste artrópode há a forma esporozoíta, ao realizar o repasto sanguíneo o carrapato libera essas formas para a circulação sanguínea do hospedeiro vertebrado (felino). O protozoário então invade as hemácias, se modificando para a forma de trofozoíta, fará a divisão binária (merogonia), que romperá a membrana da hemácia, liberando a forma merozoíta, favorecendo a invasão de novas células, esse processo ocorrerá até que todos os eritrócitos sejam parasitados ou até que haja intervenção medicamentosa (Uilenberg, 2006). A respeito do ciclo do carrapato, esse ocorrerá através da infecção de um carrapato sadio ao realizar o repasto, onde se infectará da forma merozoíta, no seu intestino acontecerá a reprodução sexuada, gerando o zigoto, que por sua vez penetrará o epitélio intestinal para que ocorra a reprodução assexuada (esporogonia), resultando nos oocinetos que possibilitará as transmissões, transovariana ao invadir o ovário das fêmeas, e a transtestadial ao se instalar nas glândulas salivares desse artrópode (Birkenheuer, 2015; Jalovecka et al., 2019).

Figura 2 Ciclo de vida da *Babesia sensu stricto* (adaptado de Jalovecka et al., 2019).



Patogenia

A gravidade da infecção e sua manifestação clínica é determinada pelas condições do hospedeiro (idade, imunocompetência, comorbidades) e pela cepa da *Babesia* spp. envolvidas (Takahira, 2016).

Uma vez que as hemácias são infectadas, ocorre a opsonização levando a remoção dessas hemácias da circulação pelo sistema monocítico fagocitário (SMF), aliado a isto, temos a eliminação das hemácias intravascular e extravascular devido ao ciclo de vida desse protozoário, levando à anemia hemolítica (Birkenheuer, 2015; Takahira, 2016). Como sinais da hemólise intravascular temos a hemoglobinúria que cursará em lesão renal, devido a hipóxia, podendo levar a consequências neurológicas, além da possibilidade de ocorrer uma coagulação intravascular disseminada (CID), levando o animal ao óbito. Já na hemólise extravascular teremos a esplenomegalia, icterícia e bilirrubinúria devido à sobrecarga hepática e decorrente também da hipóxia. O grau de lesão da babesiose felina é moderada, exceto nos casos em que há o envolvimento da *B. felis* que leva a grave hemólise intravascular (Takahira, 2016).

Alterações clínicas e laboratoriais

Os felinos domésticos infectados pelo gênero *Babesia* spp., geralmente não apresentam sinais clínicos e o seu caráter é variável (Pereira, 2018); os sinais quando visualizados demonstram um quadro crônico (Hartmann et al., 2013) onde é visto: anemia, apatia, letargia, febre e icterícia, sendo os dois últimos sinais menos comuns nos felinos (Jacobson et al., 2000; Hartmann et al., 2013). Vale ressaltar que o animal que apresenta pirexia, é devido a associação de alguma comorbidade (Hartmann et al., 2013; Takahira, 2016). No hemograma se vê anemia macrocítica hipocrômica com sinais regenerativos (Takahira, 2016), a trombocitopenia e a contagem de leucócitos totais são variáveis (Baneth et al., 2004). Em relação a bioquímica sérica, ocorre aumento das enzimas hepáticas e há hiperbilirrubinemia pré-hepática (Takahira, 2016).

Diagnósticos diferenciais

Devido as hemoparasitoses cursarem de forma similar e por possuírem muitas vezes o mesmo vetor artrópode, é necessário que haja a exclusão dos diagnósticos diferenciais, como o protozoário *Cytauxzoon felis*, *Mycoplasma felis*, *Anaplasma* spp., *Ehrlichia* spp.

- *Cytauxzoon felis*

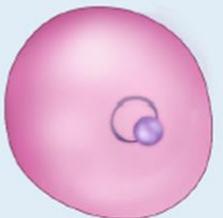
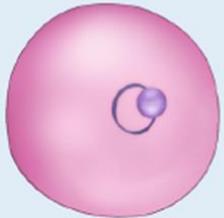
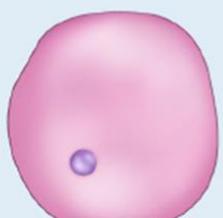
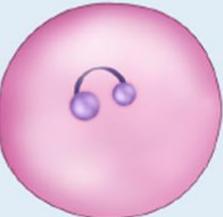
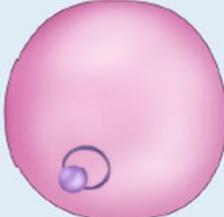
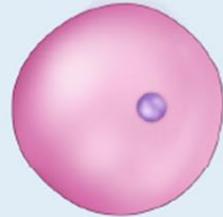
O *Cytauxzoon felis* é um protozoário da família Theileriidae, que infecta felinos selvagens e domésticos, não havendo predileção por idade, sexo ou raça. Os vetores transmissores dessa doença são os carrapatos *Dermacentor variabilis* e o *Amblyomma americanum*, porém no Brasil não é claro o envolvimento dessas espécies na infecção (Ribeiro et al., 2019). Há relatos da presença de *Cytauxzoon* spp. em diversos estados, como Rio de Janeiro, Mato Grosso do Sul, Rio Grande do norte, Distrito Federal, São Paulo e Pará (Ribeiro et al., 2019).

Por ser um protozoário do mesmo filo, ordem e possuir características semelhantes à *Babesia*, o *Cytauxzoon felis* cursará de maneira similar, com algumas exceções, como por exemplo relacionado ao ciclo biológico, que possui duas formas distintas no hospedeiro definitivo, a esquizonte (não eritrocitária) e o piroplasma (eritrocitária) (Cohn e Birkenheuer, 2015), levando o animal a apresentar um quadro mais agudo, consequentemente o sinal clínico característico é a febre alta (Ribeiro et al., 2019), além disso a via de transmissão é somente a tranststadial (Wang et al., 2017; Pereira,

2018), e nos exames laboratoriais ocorre uma pancitopenia de todas as linhagens celulares (Ribeiro et al., 2019).

Wang et al. (2017) demonstra que há similaridade entre a *Babesia* spp., *Cytauxzoon felis*, *Mycoplasma haemofelis* e Corpúsculo de Howell-Jolly (figura 3) na análise microscópica.

Figura 3. Diferenciação microscópica de *Cytauxzoon felis* com outros patógenos intraeritrocitários comuns ou partículas no esfregaço sanguíneo de felino (adaptado de Wang et al., 2017).

<i>Cytauxzoon felis</i>	<i>Babesia</i> spp. <i>Theileria</i> spp.	<i>Mycoplasma haemofelis</i> (<i>Haemobartonella felis</i>)	Howell-Jolly particle
			
			
1-2 µm Normalmente é em forma de anel; Ocasionalmente em forma de alfinete	Indistinguível de <i>C. felis</i> . Não endêmico nos EUA; Febre e Icterícia incomum	Geralmente na borda ou sobre a superfície do eritrócito; Raramente em formato de anel. Mais jovens, sexo: macho.	1-2 µm com mancha da cromatina, sem citoplasma em volta

- *Mycoplasma* spp.

O *Mycoplasma* spp. é uma pequena bactéria (0,3µm) não corada por coloração de gram que se adere e causa hemólise no hospedeiro definitivo (felinos domésticos e selvagens), causando anemia e sinais decorrentes de um processo imunomediado (letargia, depressão, perda de peso, auto aglutinação e icterícia) (Barker, 2019) levando a um quadro clínico semelhante da *Babesia* spp. A literatura relata três espécies de hemoplasmas que infectam felinos, *Mycoplasma haemofelis*, *Candidatus Mycoplasma haemominutum* e *Candidatus Mycoplasma turicensis* (Messick e Harvey, 2015).

A Micoplasmose ocorre mundialmente (Thrall et al., 2015), no Brasil já foi diagnosticada molecularmente em São Paulo (Marcondes et al., 2018), Rio de Janeiro

(Raimundo, 2014), Rio Grande do Sul (Silveira et al., 2014), Distrito Federal e Mato Grosso (André et al., 2011; Miceli et al., 2013).

Nas infecções os machos têm sido relatados como mais vulneráveis devido seu comportamento, e o risco de contrair a doença é associado a incidência dos artrópodes nas estações mais quentes (primavera e verão), sendo o vetor responsável pela transmissão dessa doença é o *Ctenocephalides felis* (Barker, 2019). Além disso, acredita-se que gatos jovens ou que possuem doença associada, são mais suscetíveis a manifestar sinais clínicos e uma anemia mais grave, pois não são imunocompetentes, porém estudos experimentais demonstraram que felinos que se curam clinicamente desenvolvem uma proteção contra uma reinfecção (Hicks et. al., 2015).

O diagnóstico do *Mycoplasma haemofelis* se baseia na associação do histórico, clínica, exames laboratoriais e exames complementares, como a identificação por microscopia de esfregaço sanguíneo fresco, onde detecta-se pequenas bactérias (aproximadamente 0,3µm) aderidas no eritrócito (Messick e Harvey, 2015), porém é o mais passível a erros no diagnóstico pela técnica de leitura do esfregaço sanguíneo, podendo ser confundidos com artefatos, corpúsculos de Howell-Jolly ou com o *Cytauxzoon felis* (Barker, 2019), sendo aconselhado associar outras técnicas para obter o diagnóstico.

Para o tratamento indica-se o uso do grupo das fluoroquinolonas e tetraciclinas (Barker, 2019). Sendo a de escolha a primeira, pois as tetraciclinas podem causar efeitos colaterais como febre e estenose esofágica (German et. al., 2005). Já os glicocorticoides podem auxiliar na anemia mais grave, além disso transfusões são altamente indicadas nesses casos. Como medidas profiláticas recomenda-se, evitar acesso dos felinos a rua e verificar procedência do sangue do doador (Messick e Harvey, 2015).

- *Anaplasma* spp.

Os gêneros *Anaplasma* spp. e *Ehrlichia* spp. estão inseridas no filo *Proteobacteria*, ordem *Rickettsiales*, família *Anaplasmataceae* (Taylor et al., 2017). São microrganismos Gram-negativos que vivem dentro de células como leucócitos, células endoteliais e plaquetas (Greene, 2015). Seu transmissor possivelmente é o mesmo das outras hemoparasitoses, e apesar de não infectar hemácias, já foram diagnosticados infectando felinos em estados brasileiros (Pedroso et al., 2011; Pereira,

2018; Guimarães et al., 2019). Devido a isso foram incluídos como diagnóstico diferencial.

Anaplasma spp., mede 0,3 a 1,0µm de diâmetro e infectam mamíferos (Taylor et al., 2017). Existem duas espécies de importância, *Anaplasma phagocytophilum* que infecta leucócitos, preferencialmente os neutrófilos (Diniz e Breitschwerdt, 2015), e *Anaplasma platys* que é exclusiva de plaquetas e é associada a infecções em felinos (Guimarães et al., 2019). *Anaplasma platys* pode causar leucopenia/leucocitose e no primeiro mês da infecção uma anemia normocítica normocrômica (Harvey, 2015).

Nos felinos, a incidência de anaplasrose e erliquiose são baixas, possivelmente por serem subdiagnosticadas devido aos hábitos de limpeza desses animais ou pela resistência imunológica desenvolvida (Pinto, 2016). porém Guimarães et al. (2019) confirmaram molecularmente a presença de *Anaplasma platys* em felinos no Rio de Janeiro.

O diagnóstico pode ser pela observação de microrganismos na microscopia, mas essa técnica possui baixa sensibilidade, pois somente são detectáveis na fase aguda da doença. (Pinto, 2016). Realizar sorologia pareada com elevações de quatro vezes da titulação final é confirmatória de infecção segundo Takahira (2016). A PCR por ter alta sensibilidade, é a técnica de escolha para diferenciar os tipos de *Anaplasma* spp. e de *Ehrlichia* spp. (Lappin e Breitschwerdt, 2015).

O tratamento eficaz para as riquetsioses consiste na utilização dos fármacos da classe das tetraciclinas ou fluorquinolonas (Harvey, 2015). A terapia de suporte é indicada nos casos graves.

Diagnóstico

Devido as hemoparasitoses apresentarem sinais clínicos inespecíficos, é imprescindível que haja associação da clínica com os achados laboratoriais e de exames complementares, para isto, existem algumas formas de diagnóstico como as técnicas diretas (esfregaço sanguíneo), sorológicas e moleculares (Birkenheuer, 2015, Petra et al., 2018).

A análise do esfregaço sanguíneo por microscopia óptica, tem sido o padrão adotado para identificação de piroplasmas, devido ser um método rápido e barato (Lempereur et al., 2017), porém é uma técnica de baixa sensibilidade em animais assintomáticos e que possuem carga parasitária baixa (Ayoob et al., 2010; Teives, 2015). Teives (2015) afirma que a sensibilidade do teste é maior quando realizado

esfregação sanguíneo de capilares da margem da orelha, pois devido serem de menor calibre, reteria mais estruturas e teria maior número de parasitas quando comparado a esfregação de sangue venoso.

Já o diagnóstico por métodos sorológicos como o teste de Imunofluorescência Indireta (RIFI) e Ensaio Imunoenzimático (ELISA) (Braga e Silva, 2013) para babesiose não são os mais indicados, já que avaliam a presença de anticorpos (IgG anti-Babesia) e não de antígeno (Lempereur et al., 2017).

Diferente das técnicas anteriores, a biologia molecular por meio da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) tem alta sensibilidade e especificidade. Em suma, a PCR é composta por três passos: desnaturação, anelamento e extensão, onde em cada etapa, a amostra com os primers, nucleotídeos e DNA Polimerase termoestável (Taq) serão submetidos a temperaturas de 95°C, 57°-63°C e 72°C, respectivamente, possibilitando a amplificação de um fragmento do DNA do agente envolvido (Higuchi et al., 1993). Sendo assim, é uma técnica de maior confiabilidade, já que pode identificar a espécie de *Babesia* envolvida (Takahira, 2016). Adicionalmente, a PCR em tempo real (qPCR), permite a quantificação do patógeno simultaneamente à amplificação, o que possibilita resultados rápidos, além de reduzir reações cruzadas (Nascimento et al., 2010).

Segundo Penzhorn e Oosthuizen (2020), nos casos em que não se consiga realizar a distinção da morfologia da *Babesia* spp., a técnica adotada para o diagnóstico deverá ser a caracterização molecular, já que ela distingue as espécies de *Babesia* spp. e os seus diferenciais.

Tratamento

O tratamento de escolha na babesiose é o dipropionato de imidocarb, pois possui amplo espectro nas cepas de *Babesia*, associado ao sulfato de atropina por ser reversor dos efeitos do imidocarb. Especificamente para tratamento de *B. felis* recomenda-se a administração de fosfato de primaquina (0,5 mg/Kg, VO ou IM) uma vez ao dia durante três dias, por apresentar melhor resposta, sendo comprovada sua ação babesicida (Maia, 2008; Takahira, 2016).

Caso necessário, a terapia suporte deverá ser empregada, com o objetivo de fornecer conforto ao animal, podendo ser utilizado a fluidoterapia, suplementos de vitaminas e/ou minerais, suporte hepático e se necessário transfusão sanguínea (hematócrito <15%) (Ayoob et al., 2010; Takahira, 2016). É importante lembrar que o

animal doador deverá ter os exames negativos para doenças infecciosas, preferencialmente diagnosticados por Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), evitando assim que seja coletado sangue de animais assintomáticos e consequentemente ocorra infecção iatrogênica (Castillo, 2020).

Profilaxia

Conhecer a via de transmissão dos hemoparasitas, auxiliará nas medidas a serem adotadas na prevenção. Logo, diminuir a exposição desses animais aos vetores (carrapatos) é um dos principais métodos de controle seja por uso de coleiras, administração de carrapaticidas no ambiente, controle dos felinos ao acesso a rua. Animais que necessitarão de transfusão sanguínea, é preciso verificar a procedência da bolsa de sangue, devido essa via ser uma possibilidade de infecção (Birkenheuer, 2015).

3. MATERIAL E MÉTODOS

Esse estudo obteve a aprovação pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Vila Velha (CEUA/UVV), sob o protocolo de número 604-2021.

As amostras foram obtidas de 3 organizações não governamentais (ONG's) de proteção a animais que possuíam felinos. Cada ONG era pertencente aos municípios situados na Serra (Latitude de -20.13004, Longitude -40.29960), Vitória (-20.31973, -40.33973) e Vila Velha (-20.35146, -40.31042), regiões localizadas na Grande Vitória/ES.

As informações coletadas dos felinos foram sexo e raça, em seguida obteve-se amostras sanguíneas de duas formas: por venopunção (cefálica ou jugular) com agulha 25mm x 0,07mm e/ou scalp 25G, armazenadas em tubo com ácido etileno diamino tetra-acético (EDTA); e por punção em capilares periféricos na margem da pina (orelha) através de perfuração com agulha 25mm x 0,07mm estéril, com confecção imediata de uma lâmina de esfregaço sanguíneo sem EDTA.

As amostras foram armazenadas e refrigeradas em caixa térmica com gelo artificial e direcionados para o Laboratório Clínico do Hospital Veterinário da Universidade Vila Velha (HV-UVV). Nas amostras acondicionadas em tubo de EDTA foram realizados hemograma completo, além de confecção de outro esfregaço sanguíneo pela técnica do deslizamento descrita por Weiser (2015), onde se coloca uma gota no início da lâmina e desliza-se uma lâmina extensora sobre a mesma de forma linear e reta para obtenção da franja (local onde será realizado a pesquisa de hemoparasitas), e confecção do micro hematócrito com o objetivo de obter-se a capa leuco-plaquetária pela técnica de esmagamento (*squash*).

As lâminas (ponta de orelha, capa leuco-plaquetária e esfregaço sanguíneo com EDTA) foram coradas com Kit de coloração diferencial rápida em hematologia Instant Prov® (Newprov®) seguindo instruções do fabricante e em seguida realizada a pesquisa de *Babesia* spp. e de outros hemoparasitas (*Cytauxzoon* spp., *Mycoplasma* spp., *Anaplasma* spp. e *Ehrlichia* spp.) por microscopia óptica (Nikon eclipse E100) com objetiva de imersão (100x). Foram analisados 100 campos aleatórios. As amostras positivas para *Babesia* spp. foram enviadas para análise molecular qualitativo de um laboratório particular que realizou a extração do DNA das amostras sanguíneas utilizando Kit comercial Bioclin® Bio Gene Extração de gDNA (BIOCLIN, Belo Horizonte, MG, Brasil), seguindo instruções do fabricante (BIOCLIN, 2020), posteriormente realizaram PCR em tempo real qualitativo com Sonda TaqMan, buscando a região do gene 18S rRNA (Qurollo et al. (2017).

Os resultados encontrados foram organizados em tabela do programa Microsoft Office Excel 2010, onde sucedeu-se a estatística descritiva.

4. RESULTADOS

Foram obtidas 40 amostras sendo 28 oriundas do município de Vila Velha (70%), 7 de Vitória (17,5%) e 5 da Serra (12,5%). Dos 40 felinos estudados, 16 eram fêmeas e 24 machos e todos os felinos não apresentaram raça definida (SRD) e não houve distinção de idade.

No hemograma a média e desvio padrão encontrados nos 6 felinos que possuíam hematócrito baixo (anemia) foram de $14,32 \pm 5,14$, onde 4 felinos apresentaram uma anemia regenerativa. Em relação aos leucócitos totais, 2 felinos apresentaram leucopenia ($3.162 \pm 0,51$), 27 felinos com valores dentro da normalidade ($13.180 \pm 4,17$) e 11 com leucocitose ($30.536 \pm 9,31$), já para as plaquetas a média e o desvio padrão dos animais com trombocitopenia foi de 105.579 ± 65.34 (Tabela 1).

Tabela 1. Média e Desvio Padrão das variáveis sexo, hematócrito, leucócitos totais e plaquetas dos felinos estudados.

Variável	N (total 40)	%	Referência	Média	Desvio padrão
Sexo	16 ♀	40.0%	-	-	-
	24 ♂	60.0%	-	-	-
Hematócrito					
Normalidade	33	82.5%	24 a 45%	37.87	3.98
Anemia	6	15.0%		14.32	5.14
Policitemia	1	2.5%		-	-
Leucócitos totais					
Normal	27	67.5%	5.500 a 19.500 / μ L	13.180	4.17
Leucopenia	2	5.0%		3.162	0.51
Leucocitose	11	27.5%		30.536	9.31
Plaquetas					
Normal	15	37.5%	230 a 680 mil/ μ L	366.071	107.86
Trombocitopenia	25	62.5%		105.579	65.34
Trombocitose	0	-		-	-

Valores de referência segundo Feldman et al., 2000.

Na análise das lâminas, foi identificado em 16 felinos (40%) algumas estruturas indicativas de hemoparasitas (Tabela 2) sendo, 13 sugestivas de *Mycoplasma* spp. (81,25%) (Figura 4), 2 de *Anaplasma* spp. (12,5%) (Figura 5) e 1 de *Babesia* spp. (6,25%) (Figura 6), sendo esta, enviada para qPCR, onde foi negativa para *Babesia* spp.

Tabela 2. Dados gerais dos felinos: sexo, hematócrito, hemácia, hemoglobina, VCM, CHCM, leucócitos totais, plaquetas, capa leuco-plaquetária e comparativo das diferentes técnicas utilizadas (capa leuco-plaquetária, esfregaço sanguíneo com EDTA e ponta de orelha)

Felino	Sexo	Hematócrito (%)	Hemácia (mi/ μ L)	Hemoglobina (g/dL)	VCM (fL)	CHCM (%)	Leucócitos totais (μ L)	Plaquetas (Mil/ μ L)	Capa Leuco-plaquetária	Esfregaço sanguíneo c/ EDTA	Ponta orelha (s/ EDTA)
1	M	32.0	6.40	10.56	50.10	33.1	23,950	80			<i>Mycoplasma</i> spp.
2	M	24.0	4.80	7.92	49.20	33.0	21,000	48			<i>Mycoplasma</i> spp.
3	M	44.0	8.80	14.87	50.00	33.8	36,100	30	<i>Anaplasma</i> spp.		
4	M	37.0	7.35	11.89	50.34	32.1	24,100	30	<i>Anaplasma</i> spp.		
5	F	42.0	8.49	13.86	49.47	33.0	8,600	30			<i>Babesia</i> spp.
6	M	10.0	2.31	3.30	43.29	33.0	2,800	80			<i>Mycoplasma</i> spp.
7	M	35.7	7.40	11.60	47.80	32.4	16,700	64			<i>Mycoplasma</i> spp.
8	M	30.4	5.00	8.30	67.70	30.3	15,000	174			<i>Mycoplasma</i> spp.
9	M	6.2	0.63	1.80	98.70	29.0	7,000	65		<i>Mycoplasma</i> spp.	<i>Mycoplasma</i> spp.
10	M	17.7	2.53	6.00	70.30	29.7	6,400	200		<i>Mycoplasma</i> spp.	<i>Mycoplasma</i> spp.
11	M	38.0	9.50	13.00	40.00	34.2	12,800	501			<i>Mycoplasma</i> spp.
12	M	18.0	3.30	5.00	56.00	27.8	18,400	518			<i>Mycoplasma</i> spp.
13	M	19.0	3.90	6.50	50.00	33.0	17,900	92		<i>Mycoplasma</i> spp.	
14	F	15.0	2.70	4.20	57.00	27.0	3,524	56		<i>Mycoplasma</i> spp.	
15	F	38.9	9.10	12.20	42.40	31.3	7,200	242		<i>Mycoplasma</i> spp.	
16	M	43.0	9.53	12.90	45.12	29.9	15,820	280		<i>Mycoplasma</i> spp.	

Legenda: M: macho; F: fêmea

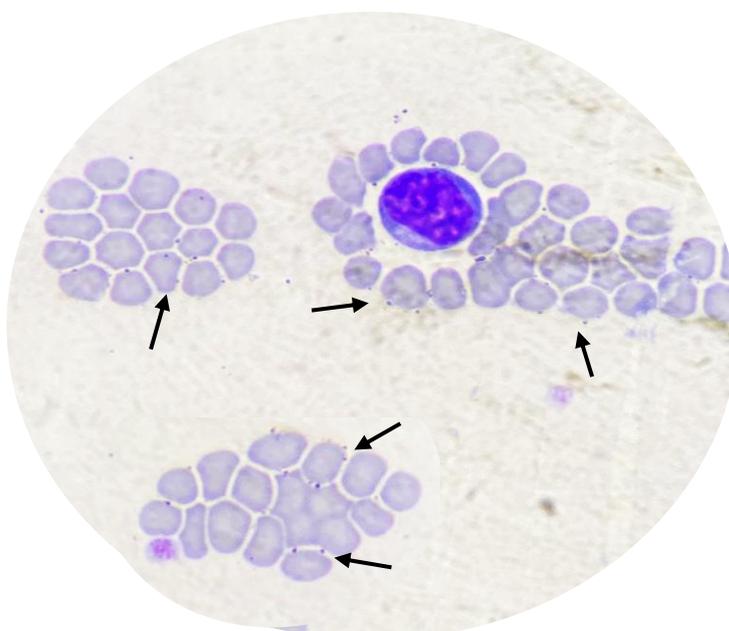


Figura 4. Esfregaço sanguíneo com presença de inclusões na superfície de eritrócitos (setas pretas), sugestivo de *Mycoplasma* spp.

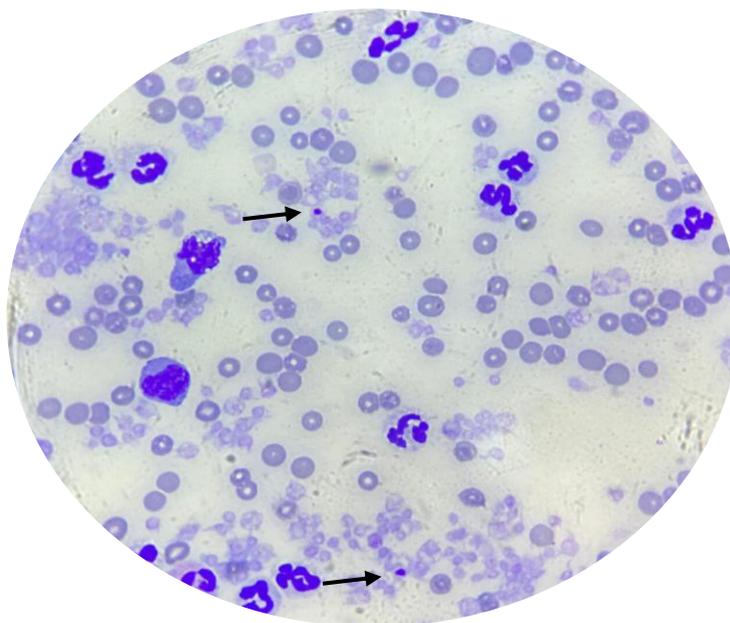


Figura 5. Capa leuco-plaquetária com presença de inclusão em plaqueta (setas pretas), sugestivo de *Anaplasma* spp.

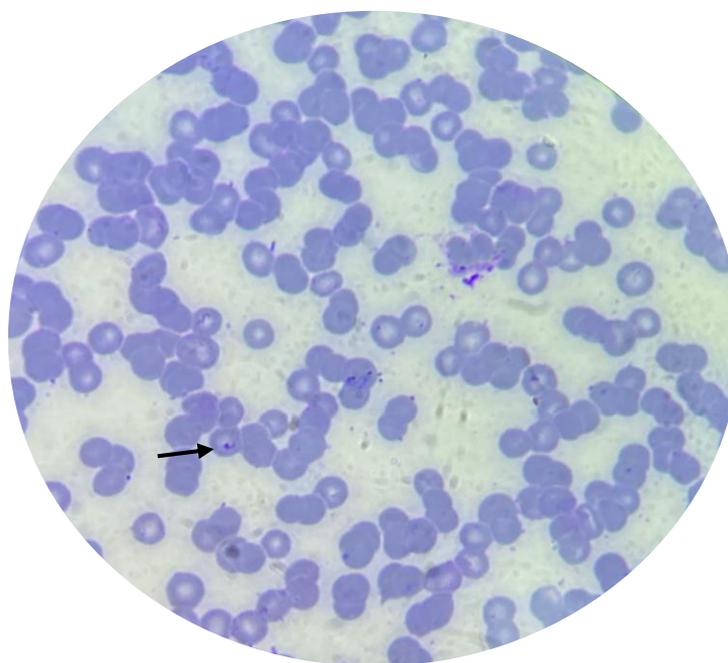


Figura 6. Esfregaço de ponta de orelha, com presença de estrutura em hemácia (seta preta) sugestivo de *Babesia* spp.

5. DISCUSSÃO

Dada a importância e o aumento crescente de casos de hemoparasitoses em felinos, em especial de *Babesia* spp., sendo relatada em estados vizinhos (Carneiro, 2007; Gazeta et al., 2004; Pereira, 2018, André et al., 2022; Palmer et al., 2022), buscou-se verificar a presença de *Babesia* spp. no estado do Espírito Santo. Considerou-se apenas os municípios da Serra, Vitória e Vila Velha por serem cidades próximas ao laboratório clínico veterinário do HV-UVV para realizar o processamento das amostras.

No hemograma, foi observado que 33 animais apresentavam hematócrito normal ($37,87 \pm 3,98$), porém 10 animais revelaram estruturas sugestivas de hemoparasitas, demonstrando que é comum que não haja alterações perceptíveis que indique a presença deste. Isto também foi visto por André et al. (2022) onde afirma que felinos saudáveis e imunocompetentes são capazes de enfrentar uma infecção sem evidenciar alterações clínicas e hematológicas significativas. Sendo interessante agregar a avaliação microscópica com a clínica do animal e demais exames laboratoriais para confirmação da suspeita (De Oliveira, 2021).

A anemia vista nos felinos variou de normocítica normocrômica (2/6) à macrocítica hipocrômica (4/6), esta última, é uma anemia do tipo regenerativa que Vilhena et al. (2018) considera comum e é relacionada com animais que possuem comprometimento do sistema imune ou é decorrente de uma infecção grave. Nessa pesquisa foi visto essa relação, entre a anemia regenerativa e os animais infectados por *Mycoplasma* spp. (Tabela 2), isto decorre do ciclo do parasito no hospedeiro que causa a destruição das hemácias infectadas e o sequestro dessas pelo baço para que haja a hemocaterese (Pereira, 2018). Adicionalmente, corroborando com Petry et al. (2020) confirmou-se também que gatos machos são mais suscetíveis a albergarem essa doença do que fêmeas.

Os leucócitos variam nessas doenças (Baneth et al, 2004) e muitas vezes auxiliam no diagnóstico de possíveis coinfeções, bem como averiguar a resposta do animal frente a elas. A trombocitopenia encontrada na maioria dos felinos (62,5%) se justifica por serem animais que se estressam facilmente (FAM et al., 2010), associado a isso, foram vistas agregações plaquetárias nas amostras, porém não se exclui a possibilidade de ser oriunda de outras doenças, como a babesiose e a citauxzoonose (Thrall et al., 2015).

As extensões sanguíneas são grandes aliadas na distinção e diagnóstico de hemoparasitas, sendo consideradas “padrão ouro” (Pereira, 2018; Méndez et al., 2022), porém há limitações, por dependerem de variáveis relacionadas ao esfregaço (qualidade, coloração), a análise (experiência do patologista clínico) e de equipamentos como o microscópio (Hübl et al., 1995, Lempereur et al., 2017). Para aumentar a sensibilidade nessa pesquisa, optou-se por realizar diferentes técnicas como o esfregaço com sangue em EDTA, capa leuco-plaquetária e ponta de orelha (esfregaço fresco sem EDTA), em virtude de serem técnicas simples, rápidas e acessíveis (Brum e Carvalho, 2022).

Berndt et al. (2019) afirma que a pesquisa direta de hemoparasitas pode ser realizada como método diagnóstico, além disso, ele discursa que a melhor técnica irá variar de acordo com o parasito buscado. Nesta pesquisa, foi observado que 9 felinos do total de 16 apresentaram estruturas na superfície das hemácias na ponta de orelha, mostrando superioridade em relação ao esfregaço de sangue em EDTA (6/16) na detecção de *Mycoplasma* spp. (Tabela 2), isto se deve ao fato do protozoário se desprender da hemácia quando em contato com o EDTA (Petry et al., 2020). Já na capa leuco-plaquetária (2/16), foi possível ver mais estruturas de *Anaplasma* spp. do que nas outras duas técnicas, porque há uma concentração de leucócitos e plaquetas em um mesmo campo nessa técnica, facilitando a visualização dessas estruturas. (Boozer e Macintire, 2003). A anaplasmosose é grave quando associada com outras coinfeções (Gonçalves et al., 2021), o que não foi encontrado nessa pesquisa.

A positividade para *Babesia* spp. no esfregaço sanguíneo e a negatividade no teste qPCR, pode ser justificado por haver outras estruturas que são facilmente confundidas com a *Babesia* spp. como por exemplo, *Mycoplasma* spp., *Theileria* spp. e *Cytauxzoon* spp. (Wang et al., 2017). Isto foi visto por Pichotano et al. (2004), onde o mesmo não realizou a distinção entre *Babesia* spp. e *Cytauxzoon felis* devido à similaridade. Além disso, um fator limitante desta pesquisa foi a metodologia utilizada que consistiu no envio para qPCR de apenas uma amostra positiva para *Babesia* spp. no esfregaço sanguíneo, sendo indicado em estudos futuros a análise de todas as amostras independente de visualizar o protozoário em lâmina.

Relacionado aos demais animais, observou-se que 24 felinos (60%) foram negativos para hemoparasitas em lâmina, levanta-se como possíveis fatores influenciadores para isto: os animais residem em ONG's, onde provavelmente foram medicados (dificultando encontrar hemoparasitos) para serem “introduzidos” com os demais animais; além disso, as regiões estudadas são áreas urbanas, onde o acesso

a informações, a clínicas e a tratamentos são facilitadas (Vieira et al., 2018). No tocante a isto, Carneiro (2007) e Palmer et al. (2022) conduziram seus estudos em regiões do interior e região serrana respectivamente, e encontraram amostras positivas no PCR para *Babesia* spp., aliado a essa informação, sabe-se que o *Rhipicephalus sanguineus* é o carrapato mais frequente no estado do Espírito Santo (Vieira et al., 2018), logo as hemoparasitoses, principalmente a babesiose pode estar sendo subdiagnosticada, sendo necessário que haja mais estudos em todo Estado do Espírito Santo, principalmente em regiões mais afastadas/ interior.

6. CONCLUSÃO

Os hemoparasitos encontrados na pesquisa direta em felinos nas regiões da Serra, Vitória e Vila Velha foram o *Mycoplasma* spp., *Anaplasma* spp., e *Babesia* spp., entretanto a *Babesia* spp. foi negativa no qPCR.

Sugere-se estudos futuros com maior número de animais, em regiões mais afastadas e com aplicação de diagnóstico molecular em todas as amostras.

7. AGRADECIMENTOS

Agradeço a Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo (FAPES/ES), pelo fomento a esta pesquisa através do fornecimento da bolsa Edital FAPES nº 11/2020 - PROCAP MESTRADO 2021, e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Vila Velha (PPGCA-UVV).

8. REFERÊNCIAS

ANDRÉ, M.R.; ADANIA, C. H.; ALLEGRETTI, S.M.; MACHADO, R.Z. **Hemoplasmas in wild canids and felids in Brazil**. Journal Of Zoo and Wildlife Medicine: Publicação oficial da American Association of Zoo Veterinarians, v. 42, n. 2, p. 342-347, 2011.

ANDRÉ, M. R.; HERRERA, H. M.; FERNANDES, S.DEJ.; DE SOUSA, K. C.; GONÇALVES, L. R.; DOMINGOS, I. H.; DE MACEDO, G. C.; MACHADO, R. Z. **Tick-borne agents in domesticated and stray cats from the city of Campo Grande, state of Mato Grosso do Sul, midwestern Brazil**. Ticks and tick-borne diseases, v. 6, n. 6, p. 779–786, 2015.

ANDRÉ, M. R.; CALCHI, A. C.; FURQUIM, M. E. C.; DE ANDRADE, I.; ARANTES, P. V. C.; DE MELO LOPES, L. C.; DEMARCHI, I. K. L. D. N.; FIGUEIREDO, M. A. P.; DE PAULA LIMA, C. A.; MACHADO, R. Z. **Molecular Detection of Tick-Borne Agents in Cats from Southeastern and Northern Brazil**. Pathogens (Basel, Switzerland), v. 11, n. 1, p. 106, 2022.

AYOOB, A.L; PRITTIE, J.; HACKNER, S.G. **Feline babesiosis**. Journal of veterinary emergency and critical care (San Antonio), v.20, n. 1, p. 90-97, 2010.

BANETH, G.; KENNY, M. J.; TASKER, S.; ANUG, Y.; SHKAP, V.; LEVY, A.; SHAW, S. E. **Infection with a proposed new subspecies of *Babesia canis*, *Babesia canis subsp. Presentii*, in domestic cats**. Journal of clinical microbiology, v. 42, n.1, 99-105, 2004.

BARKER, E.N. **Update on Feline Hemoplasmosis**. The Veterinary clinics of North America. Small animal practice. v. 49, n. 4, p. 733-743, 2019.

BERNDT, T. R.; ECCO, L. M. J. L.; SANTI, F. S. C.; BARTOLOMEI NETO, J.; VASCONCELOS, A. L.; MENEZES, A. M.; KATAOKA, A.; NOVAIS, A. A. **Comparative evaluation of peripheral blood smear preparation techniques as a diagnostic method for hemoparasitosis in dogs (*Canis lupus familiaris*, *Linnaeus*, 1758)**. Scientific Electronic Archives, [S. l.], v. 12, n. 1, p. 116–123, 2019.

BIOCLIN. **Instruções da Bula Prática de Bio Gene Extração de gDNA Kit**, 2020. Disponível em: https://quibasa.bioclin.com.br/anexos/INSTRUCOES_BULA_PRATICA_EXTRACAO_DE_GDNA.pdf

BIRKENHEUER, Adam J. Babesiose. In: GREENE, C.E. **Doenças infecciosas em cães e gatos**. Tradução: Idília Vanzellotti, Patricia Lydie Voeux. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Kogan, 2015. p. 1689-1716.

BOOZER, A.L.; MACINTIRE, D.K. **Canine babesiosis**. The Veterinary clinics of North America. Small animal practice, v. 40, p. 885–904, viii, 2003.

BRAGA, J. F. V.; SILVA, S. M. M. S. **Babesiose canina: uma visão geral da doença**. Revista de Ciências Agroveterinárias, v. 12, n. 2, p. 204-213, 2013.

BRUM, B. T.; CARVALHO, A. T. **Incidência de hemoparasitoses em cães e gatos na região do vale do Jamari – Rondônia**. Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação. v.8, n.10, out. 2022.

CARNEIRO, M. P. M. **Ocorrência de infecções por *Babesia* spp. e *Hepatozoon* spp. em gatos domésticos (*Felis domesticus*) do Estado de São Paulo e do Distrito Federal**. 2007. 64f. Tese (obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária) – Curso de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2007.

CASTILLO, M.A.C. **Presença do *Mycoplasma haemocanis* (hemoplasma hemotrópico) em concentrado de eritrócitos canino e sua interferência no metabolismo eritrocitário**. 2020, 52f. Dissertação (mestrado). Faculdade de Veterinária, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2020.

COHN, Leah A.; BIRKENHEUER, Adam J. Cytauxzoonose. In: GREENE, C.E. **Doenças infecciosas em cães e gatos**. Tradução: Idília Vanzellotti, Patricia Lydie Voeux. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Kogan, 2015. p. 1672-1688.

CRIADO-FORNELIO, A.; MARTINEZ-MARCOS, A.; BULING-SARAÑA, A.; BARBA-CARRETERO, J. C. **Presence of *Mycoplasma haemofelis*, *Mycoplasma haemominutum* and piroplasmids in cats from southern Europe: a molecular study**. Veterinary Microbiology. v. 93, p. 307-317, 2003.

DAVIS, L. J. **On a piroplasm of the Sudanese wild cat (*Felis ocreata*)**. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, v. 22, n. 6, p. 523-534, 1929.

DE OLIVEIRA, C.M. **Infecção por piroplasmídeos em cães e gatos no Distrito Federal. Brasília**. 2021. 200 f., il. Tese (Doutorado em Ciências Animais) - Universidade de Brasília, Brasília, 2021.

DINIZ, P. P.; BREITSCHWERDT, E. B. **Infecção por *Anaplasma phagocytophilum* | Anaplasmosse granulocitotrópica canina**. In: GREENE, C.E.

Doenças infecciosas em cães e gatos. Tradução: Idilia Vanzellotti, Patricia Lydie Voeux. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Kogan, 2015. p. 540-560.

ESPÍRITO SANTO. Lei complementar nº 204, de 21 de junho de 2001. **Institui a Região Metropolitana da Grande Vitória – RMGV**. Assembleia Legislativa do Espírito Santo (2001).

FAM, A. L. P D' A.; ROCHA, R. V. M.; PIMPÃO, C. T.; CRUZ, M. A. (2017). **Alterações no leucograma de felinos domésticos (*Felis catus*) decorrentes de estresse agudo e crônico**. Ciência Animal. v. 8, n. 3, p. 299-306. 2010.

FELDMAN, B. V.; SCHALM, O. W.; ZINKL, J. G., JAIN, N. C. **Schalm's Veterinary Hematology**. 5 ed., Wiley, 2000, p. 1344.

GAZETA, G. S.; MONTEIRO, A.; ABOUD-DUTRA, A. E. **Babesiose felina no Brasil: uma nova espécie**. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, v. 13, p. 228, 2004.

GERMAN, A. J.; CANNON, M. J.; DYE, C.; BOOTH, M. J.; PEARSON, G. R.; REAY, C. A.; GRUFFYDD-JONES, T. J. **Oesophageal strictures in cats associated with doxycycline therapy**. Journal of feline medicine and surgery, v. 7 n. 1, p. 33–41, 2005.

GONÇALVES, J. A. C. N.; CAPANEMA, N. P.; PINHO, V. S.; CASTRO, B. G.; TANCREDI, I. P.; RAIÁ, V. A. **Aspectos epidemiológicos de hemoparasitose em gatos domésticos (*Felis catus*) da região Amazônica Mato-Grossense**. Scientific Electronic Archives. v. 14. p. 16-21, 2021.

GREAY, T. L.; ZAHEDI, A.; KRIGE, A-S.; OWENS, J. M.; REES, R.L.; RYAN, U. M.; OSKAM, C. L.; IRWIN, P. J. **Response to the Letter to the Editor by Harris**. Parasites & vectors, v. 12, n. 1, p. 1-4, 2019.

GREENE, C.E. **Doenças infecciosas em cães e gatos**. Tradução: Idilia Vanzellotti, Patricia Lydie Voeux. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Kogan, 2015. p. 2836.

GUIMARÃES A.; RAIMUNDO, J. M.; PEIXOTO, M. P.; DA SILVA, C. B.; PIRES, M. S.; SANTOS, H.A.; BALDANI, C. D. **Molecular detection, characterization of *Anaplasma* spp. in domestic cats from Rio de Janeiro state**. Acta Tropica., v. 191, p. 239-242, 2019.

HARTMANN, K.; ADDIE, D.; BELÁK, S.; BOUCRAUT-BARALON, C.; EGBERINK, H.; FRYMUS, T.; GRUFFYDD-JONES, T.; HOSEI, M. J.; LLORET, A.; LUTZ, H.; MARSILIO, F.; MÖSTL, K.; PENNISI, M. G.; RADFORD, A. D.; THIRY, E.; TRUYEN, U.; HORZINEK, M. C. **babesiosis in cats: ABCD guidelines on**

prevention and management. Journal of feline medicine and Surgery, v. 15, p. 643-646, 2013.

HARVEY, J. W. **Infecção por *Anaplasma platys* | Anaplasmosse trombocitotrópica.** In: GREENE, C.E. Doenças infecciosas em cães e gatos. Tradução: Idília Vanzellotti, Patricia Lydie Voeux. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Kogan, 2015. p. 565-571.

HICKS, C. A.; WILLI, B.; RIOND, B.; NOVACCO, M.; MELI, M. L.; STOKES, C. R.; HELPS, C. R.; HOFMANN-LEHMANN, R.; TASKER, S. **Protective immunity against infection with *Mycoplasma haemofelis*.** Clinical and vaccine immunology: CVI, v. 22, n. 1, p. 108–118, 2015.

HIGUCHI, R.; FOCKLER, C.; DOLLINGER, G.; WATSON, R. **Kinetic PCR analysis: real-time monitoring of DNA amplification reactions.** Biotechnology, v. 11, n. 9, p. 1026-1030, 1993.

HÜBL, W.; ANDERT, S.; ERATH, A.; LAPIN, A.; BAYER, P. M. **Peripheral blood monocyte counting: towards a new reference method.** Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, v. 33, n. 11, p. 839-846, 1995.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pesquisa Nacional de Saúde - Domicílios com algum cachorro ou gato e em que todos os cachorros e gatos foram vacinados contra raiva nos últimos 12 meses, por situação do domicílio.** Brasília, 2019.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pesquisa Nacional de Saúde - Domicílios com algum gato, por situação do domicílio.** Brasília, 2019.

JACKSON, CECIL.; DUNNING, F. J. **Biliary fever (*Nuttalliosis*) of the cat: a case in the Stellenbosch District.** Journal of the South African Veterinary Association, v. 8, n. 2, p. 83-88, 1937.

JACOBSON, L.S.; SCHOEMAN, T.; LOBETTI, R.G. **A survey of feline babesiosis in South Africa.** Journal of the South African Veterinary Association. v. 71, n.4, p. 222-228, 2000.

JALOVECKA, M.; SOJKA, D.; ASCENCIO, M.; SCHNITTGER, L. **Babesia Lif Cycle – When Phylogeny Meets Biology.** Trends in Parasitology, v. 35, n. 5, p. 356-368, 2019.

LAPPIN, M. R.; BREITSCHWERDT, E. B. **Infecção por *Anaplasma phagocytophilum* | Anaplasmosse granulocitotrópica felina.** In: GREENE, C.E. Doenças infecciosas em cães e gatos. Tradução: Idília Vanzellotti, Patricia Lydie Voeux. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Kogan, 2015. p. 561-564.

LEMPEREUR, L.; BECK, R.; FONSECA, I.; MARQUES, C.; DUARTE, A.; SANTOS, M.; ZÚQUETE, S.; GOMES, J.; WALDER, G.; DOMINGOS, A.; ANTUNES, S.; BANETH, G.; SILAGHI, C.; HOLMAN, P.; ZINTL, A. **Guidelines for the detection of *Babesia* and *Theileria* parasites**. Vector-Borne and Zoonotic Diseases, v. 17, n. 1, p. 51-65, 2017.

LINGARD, A.; JENNINGS, E. A. **Preliminary Note on a Pyroplasmosis Found in Man, and in Some of the Lower Animals**. The Indian medical gazette, v. 39, n. 5, p. 161, 1904.

MAIA, L. M. P. **Avaliação da ocorrência de piroplasmas e hemoplasmas em gatos domésticos no estado do Rio de Janeiro. 2008**. 110f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Medicina Veterinária, Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária (clínica e Reprodução Animal), Universidade Federal Fluminense, Rio de Janeiro, 2008.

MALHEIROS, J.; COSTA, M. M.; AMARAL, R. B. do; de SOUSA, K. C. M. de; ANDRÉ, M. R.; MACHADO, R. Z.; VIEIRA, M. I. B. **Identification of vector-borne pathogens in dogs and cats from southern Brazil**. Ticks and tick-borne Diseases, v. 7, n. 5, p. 893-900, 2016.

MARCONDES, M.; HIRATA, K. Y.; VIDES, J. P.; SOBRINHO, L. S. V., AZEVEDO, J. S.; VIEIRA, T. S. W. J.; VIEIRA, R. F. C. **Infection by *Mycoplasma* spp., feline immunodeficiency virus and feline leukemia virus in cats from an area endemic for visceral leishmaniasis**. Parasites & Vectors, v. 11, n. 1, p. 131, 2018.

MÉNDEZ, L.C.; MONTOYA, L. N. F.; MAZO, M. M.; SEPÚLVEDA J. C.; VALENCIA, E.; PORTILLA, T.; RESTREPO, Y L. **Comparación diagnóstica Entre análisis citológico Y Molecular Para La detección De *Mycoplasma Haemofelis* En Gatos Residentes De La Ciudad De Pereira, Risaralda, Colombia**. Revista De Investigaciones Veterinarias Del Perú, vol. 33, n.º 1, 2022, p. e20432.

MESSICK J. B.; HARVEY J. W. **Micoplasmoses Hemotrópica | Hemobartonelose**. In: Greene, C. E. Doenças Infecciosas em cães e gatos, 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015. p.674-688

MICELI, N. G.; GAVIOLI, F. A.; GONÇALVES, L. R.; ANDRÉ, M. R.; SOUSA, V. R. F.; SOUSA, K. C. M.; MACHADO, R. Z. **Molecular detection of feline arthropod-borne pathogens in cats in Cuiabá, state of Mato Grosso, central-western region of Brazil**. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, v. 22, n. 3, p. 385-390, 2013.

MISSIO, Andressa. **ES tem mais animais de estimação do que crianças, diz IBGE**. G1 Globo, Espírito Santo, 15 jun. 2015.

NASCIMENTO, S.; SUAREZ, E. R.; PINHAL, M. A. S. **Tecnologia de PCR e RT-PCR em tempo real e suas aplicações na área médica**. Revista Brasileira de Medicina, v. 67, p. 7-19, 2010.

O'DWYER, L. H.; MASSARD, C. L. **Babesiose em pequenos animais domésticos e como zoonose**. In: ALMOSNY, N. R. Hemoparasitoses em pequenos animais domésticos e como zoonoses. Rio de Janeiro: L. F. Livros de Veterinária, 2002, p. 57-67.

PALMER, J. P.; GAZÊTA, G.; ANDRÉ, M.; COELHO, A.; CORRÊA, L.; DAMASCENO, J.; ISRAEL, C., PEREIRA, R.; BARBOSA, A. **Piroplasm Infection in Domestic Cats in the Mountainous Region of Rio de Janeiro, Brazil**. Pathogens (Basel, Switzerland), v.11, n. 8, p. 900, 2022.

PEDROSO, T. C.; RAMOS, C. A. N.; BABO-TERRA, V. J.; ARAÚJO, F. R. **Ehrlichia canis em gato doméstico no Brasil - Relato de caso / Ehrlichia canis in a domestic cat in Brazil - case report**. MEDVEP. Revista científica Medicina Veterinária.; v. 9, n. 28, p. 136-140, 2011.

PENZHORN, B.L.; OOSTHUIZEN, M.C. **Babesia Species of Domestic Cats: Molecular Characterization Has Opened Pandora's Box**. Frontiers in Veterinary Science, v.7, p.134, 2020.

PEREIRA, D.A. **Prevalência de hemoparasitos em felinos domésticos da área urbana de Uberlândia, Minas Gerais, Brasil e correlação com variáveis epidemiológicas**. 2018. 81 f. Dissertação (Mestrado em Imunologia e Parasitologia Aplicadas) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG, 2018.

PETRA, B.; JOSIPA, K.; RENATA, B. R.; VLADIMIR, M. **Canine Babesiosis: Where Do We Stand?**. Acta Veterinaria. v. 68, n. 2, p. 127-160, 2018.

PETRY, L. dos S.; SANTOS, A. P. dos.; DORNELLES, G. L.; MELLO, C. B. E.; SILVA, A. S. da; DILLMANN, J. B.; LOPES, S. T. dos A. **Hemotropic Mycoplasma In Domestic Cats From The Central Region Of Rio Grande Do Sul State, Brazil**. Ciência Animal, [S. l.], v. 30, n. 1, p. 1–10, 2020.

PICHOTANO, M. E.; VARZIM, F. L. S. B.; SILVA, M. A. M. L. E.; CASTRO, K. F. **Citiauxzoonose: relato de caso**: In: XIII Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária e I Simpósio Latino Americano de Rickettsioses. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, v. 13., p. 247-247, 2004.

PINTO, A. B. T., **Anaplasmatáceas em felinos (*Felis catus*) no município de Campos dos Goytacazes (RJ): diagnóstico e caracterização**. 2016. 116 f. Tese (Doutorado em Ciência Animal, na Área de Concentração de Sanidade Animal) – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Campos dos Goytacazes, RJ, 2016.

QUROLLO, B. A.; ARCHER, N. R.; CHREEG, M. E.; MARR, H. S.; BIRKENHEUER, A. J.; HARVEY, K. N.; TOMAS, B. S.; BREITSCHWERDT, E. B. **Improved molecular detection of *Babesia* infections in animals using a novel quantitative real-time PCR diagnostic assay targeting mitochondrial DNA**. *Parasites & Vectors*, v. 10, n. 128, 2017.

RAIMUNDO, J.M. **Alterações hematológicas e investigação molecular de micoplasmas hemotróficos e piroplasmas em felinos domésticos (*Felis catus*) na região metropolitana do Rio de Janeiro**. 2014. 84f. Tese (mestrado). Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2014.

RIBEIRO, T.M.P.; SANTOS, H. D.; REIS, T. S.; SOUSA, S. A. P.; FURQUIM, M. E. C.; ANDRÉ, M. R.; JAYME, V. S. **Infecção por *Cytauxzoon* spp. em felinos domésticos**. *Medicina Veterinária (UFRPE)*. v. 13, n. 3, 2019.

SCHNITTGER, L.; RODRIGUEZ, A. E.; FLORIN-CHRISTENSEN, M.; MORRISON, D.A. ***Babesia*: a world emerging. Infection, genetics and evolution: journal of molecular epidemiology and evolutionary genetics in infectious diseases**. v. 12, n. 8, p. 1788-1809, 2012.

SILVA-SANTOS, M.; LIMA, V. F.; PIEDADE, G.; MEIRA-SANTOS, P.; ROCHA, L. **Prevalência de *Babesia* spp. em gatos errantes da região metropolitana de Aracaju/ Sergipe**. *ENCICLOPEDIA BIOSFERA*, [S. I.], v. 10, n. 19, 2014.

SILVEIRA, E.; PIMENTEL, M.C.; MARQUES, S.M.T. ***Mycoplasma haemofelis* em gato, relato de caso**. *PUBVET*. v. 8, n. 13, p. 1551-1697, 2014.

SOLANO-GALLEGO, L.; BANETH, G. **Babesiosis in dogs and cats - expanding parasitological and clinical spectra**. *Veterinary Parasitology*, v. 181, n. 1, p. 48-60, 2011.

TAKAHIRA K. R. **Babesiose Canina e outras Babésias de Animais**. In: MEGID, J.; RIBEIRO, M.G; PAES, A.C. *Doenças infecciosas em animais de produção e de companhia*. 1. ed. Rio de Janeiro: Roca, 2016, p. 973-984.

TAYLOR, M. A.; COOP, R.L; WALL, R.L. **Protozoologia veterinária**. In: _____. *Parasitologia veterinária*. Tradução: José Jurandir Fagliari, Thaís Gomes Rocha. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017, p. 479-665.

TEIVES, M.J.N.V.C. **Deteção da infeção por *Babesia* spp., *Hepatozoon* spp., *Leishmania* spp., *Ehrlichia* spp. E *Dirofilaria immitis* em gatos (*felis catus domesticus*) por técnicas parasitológicas diretas e sorológicas no concelho de Alcochete.** 2015, 132f. Dissertação (mestrado). Faculdade de Medicina Veterinária. Universidade de Lisboa, Lisboa, 2015.

THRALL, M. A.; WEISER, G.; ALLISON, R. W.; CAMPBELL, T. W. **Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária.** 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015, 582 p.

UILENBERG, G. ***Babesia* - A historical overview.** Veterinary Parasitology, v. 138 n. 1-2, p.3-10. 2006.

VIEIRA, F. T.; LABRUNA, M. B.; BARBOSA, A. C. M. S.; AGUIAR, A. R.; ACOSTA, I. C. L.; MARTINS, T. F.; DIETZE, R.; BRAGA, F. B. **Occurrence of ticks in dogs in a hospital population in the state of Espírito Santo, Brazil.** Pesquisa Veterinária Brasileira, v. 38, n. 3, p. 519-521, 2018.

VILHENA, H.; TVARIJONAVICIUTE, A; CERÓN, J.J.; PASTORINHO, M.R; MARTINEZ-SUBIELA, S.; PASTOR, J.; SILVESTRE-FERREIRA, A.C. **Acute phase proteins response in cats naturally infected by hemotropic mycoplasmas.** Comparative Immunology Microbiology and Infectious Diseases, v. 56, p. 1-5, 2018.

WANG, J-L; LI, T-T; LIU, G-H; ZHU, X-Q; YAO, C. **Two Tales of *Cytauxzoon felis* Infections in Domestic Cats.** Clinical Microbiology Reviews, v. 30, n. 4, p. 861-885, 2017.

WEISER, Glade. **Tecnologia Laboratorial em Medicina Veterinária.** In: Thrall MA. Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária. 2a ed. São Paulo: Roca, 2015, p. 33-35.