AVANÇOS NO DIAGNÓSTICO DE DOENÇAS INFECCIOSAS EM CÃES NA PRÁTICA CLÍNICA COM Biologia Molecular POC

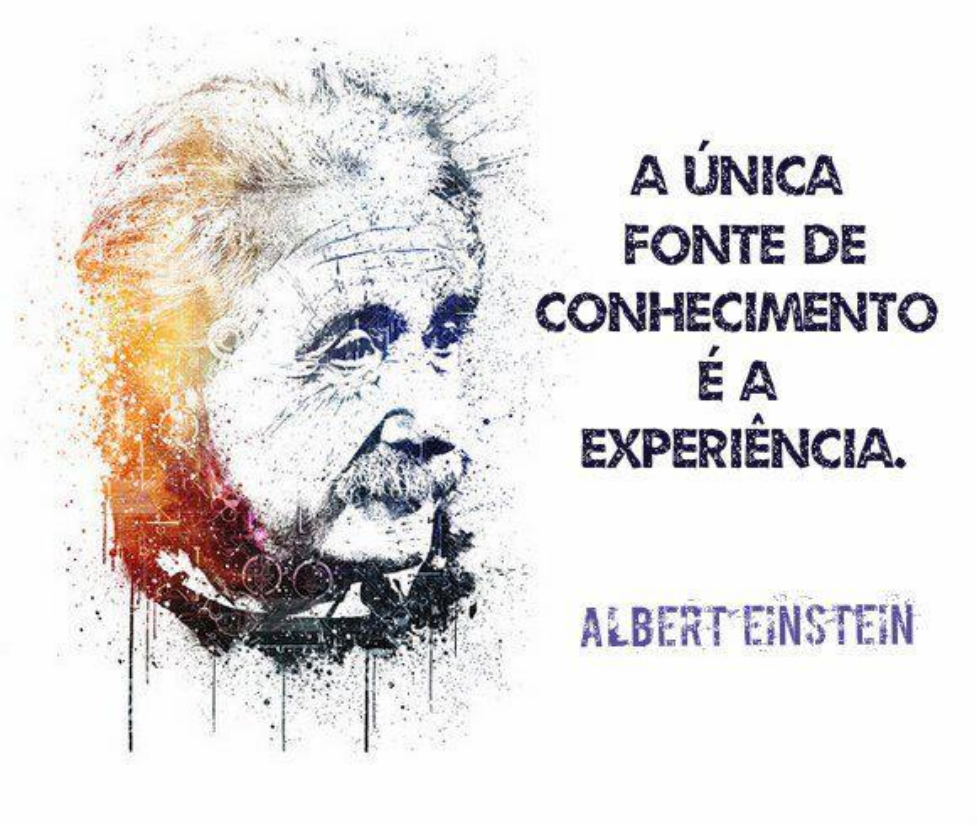
MV VITOR MÁRCIO RIBEIRO

SANTO AGOSTINHO
Hospital Veterinário

O DESAFIO DA PRÁTICA MÉDICA

- Conhecimento
- Diagnóstico
- Manejo – Estadiamento – Tratamento
- Controle
- Prevenção

CONHECIMENTO X EXPERIÊNCIA

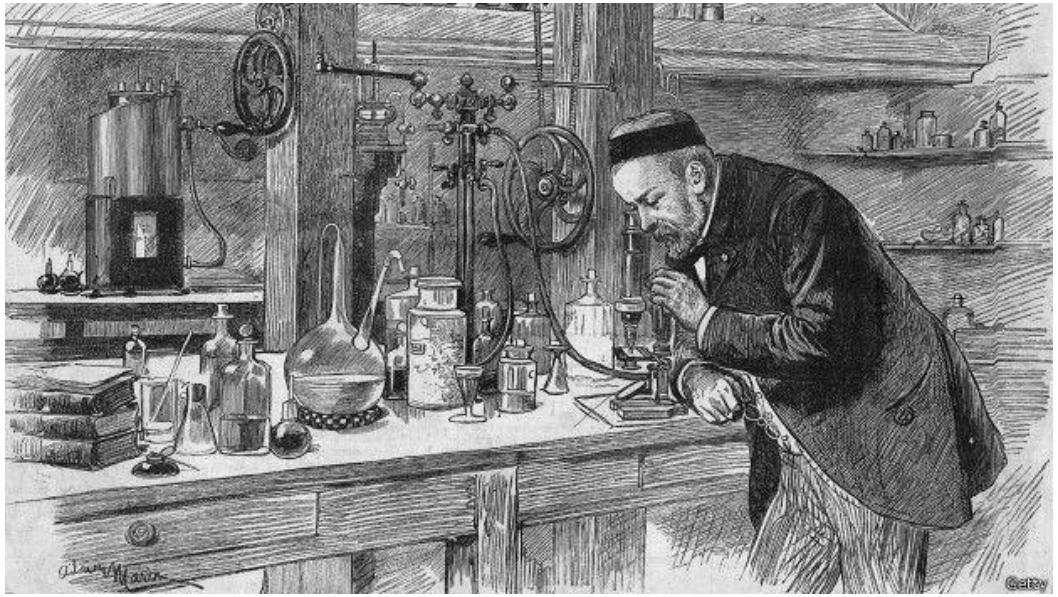


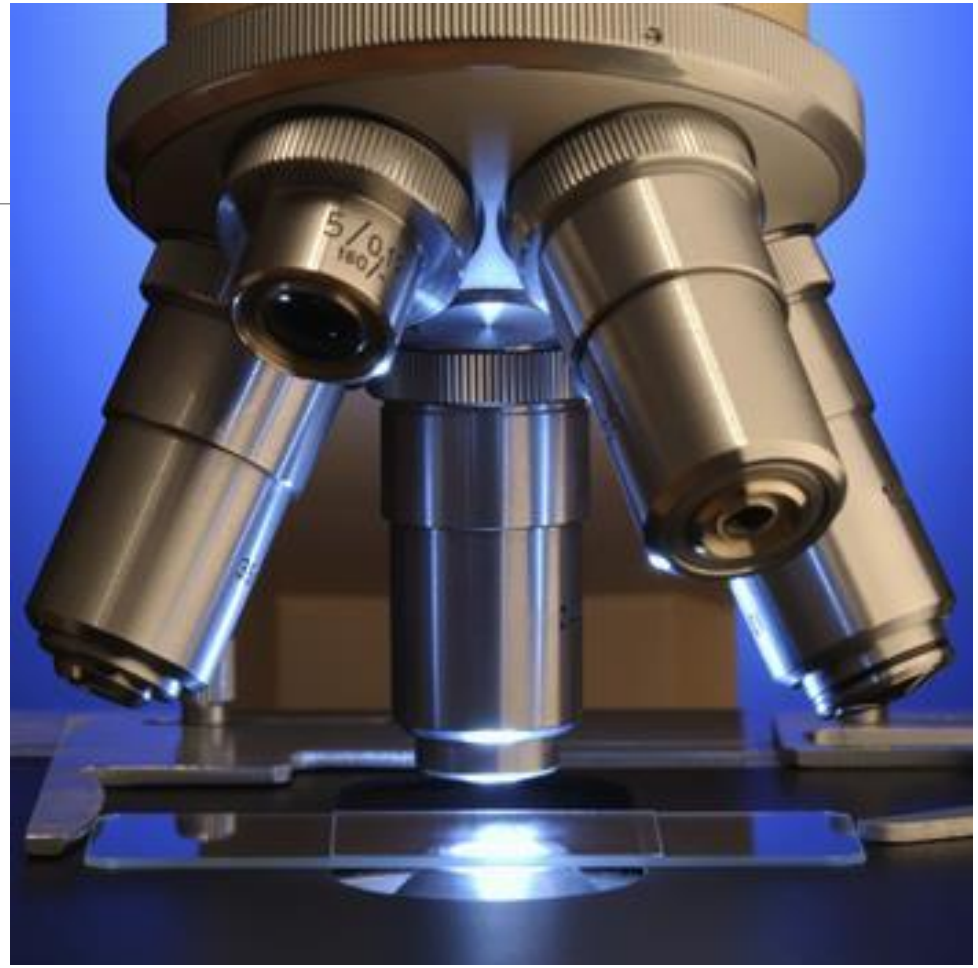
ITENS ESSENCIAIS

- Conhecimento
- Diagnóstico
- Manejo – Estadiamento – Tratamento
- Controle
- Prevenção

DIAGNÓSTICO

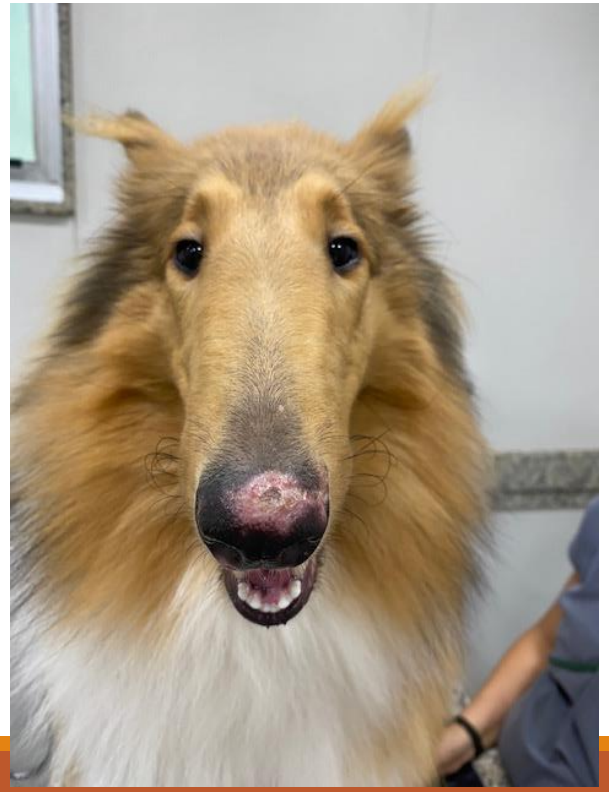
“É A INTERPRETAÇÃO DO CONHECIMENTO!”





O QUE BUSCAMOS DIAGNOSTICAR?

- A Doença
  - Animal infectado e com manifestações clínicas provocadas pelo agente infeccioso



- A Infecção
  - Presença de um agente infeccioso no organismo animal não associado a manifestação de sinais clínicos

DIAGNOSTICAMOS

A presença de um agente

- *Ehrlichia canis*
- *Babesia vogeli*
- *Leishmania infantum*

entre outras

Verificamos a doença - estadiamento

- Erliquiose
- Babesiose
- Leishmaniose

entre outras

COMO DIAGNOSTICAMOS I - INFECÇÃO

- MÉTODOS INDIRETOS
  - Pesquisa de Anticorpos – “Nem sempre confirma a infecção”

REAÇÃO DE IMUNOFLUORESCENCIA INDIRETA – RIFI

ELISA INDIRETA – Teste Rápido / Placa

IMUNOCROMATOGRÁFICOS

Amostra utilizada

SANGUE / SORO / PLASMA

LIQUOR

URINA

TECIDOS ORGÂNICOS

COMO DIAGNOSTICAMOS I - INFECÇÃO

- MÉTODOS DIRETOS
  - Pesquisa de Antígenos – “Confirma a infecção”

REAÇÃO DE IMUNOFLUORESCENCIA DIRETA – RIF

ELISA DIRETO – Teste Rápido / Placa

IMUNOCROMATOGRÁFICOS

EXAME CITOLOGICO / HISTOLÓGICO / MICROSCOPIA ELETRÔNICA

CULTURA E ISOLAMENTO

REAÇÃO EM CADEIA DE POLIMERASE (PCR)

XENODIAGNÓSTICO

Amostra utilizada

SANGUE / SORO / PLASMA

LIQUOR

URINA

FEZES

TECIDOS ORGÂNICOS

COMO DIAGNOSTICAMOS
II – DOENÇA LIGADA A INFECÇÃO

- ESTADIAMENTO
  - <u>EXAMES HEMATOLÓGICOS</u>

HEMOGRAMA

MIELOGRAMA

<u>Amostra utilizada</u>

SANGUE TOTAL

MEDULA ÓSSEA

COMO DIAGNOSTICAMOS
II – DOENÇA LIGADA A INFECÇÃO

- ESTADIAMENTO

  - <u>EXAMES BIOQUÍMICOS</u>

FUNÇÃO RENAL – Urina rotina, proteína urinária, SDMA, ureia, creatinina

FUNÇÃO HEPÁTICA – Ácidos biliares, ALT, GamaGT, FA

PROTEÍNAS SÉRICAS – Albumina, globulinas

PROTEÍNA C REATIVA

<u>Amostra utilizada</u>

SORO SANGUÍNEO

URINA

LÍQUIDOS ORGÂNICOS

COMO DIAGNOSTICAMOS
II – DOENÇA LIGADA A INFECÇÃO

- ESTADIAMENTO
  - <u>EXAMES IMAGEM</u>

ECG / ECODOPLER

RX

ULTRASSONOGRAFIA

TC / RM

NECESSIDADES E AVANÇOS

EXAMES MAIS SENSÍVEIS

ESPECÍFICOS

RÁPIDOS

DISPONÍVEIS

CUSTO ADEQUADO

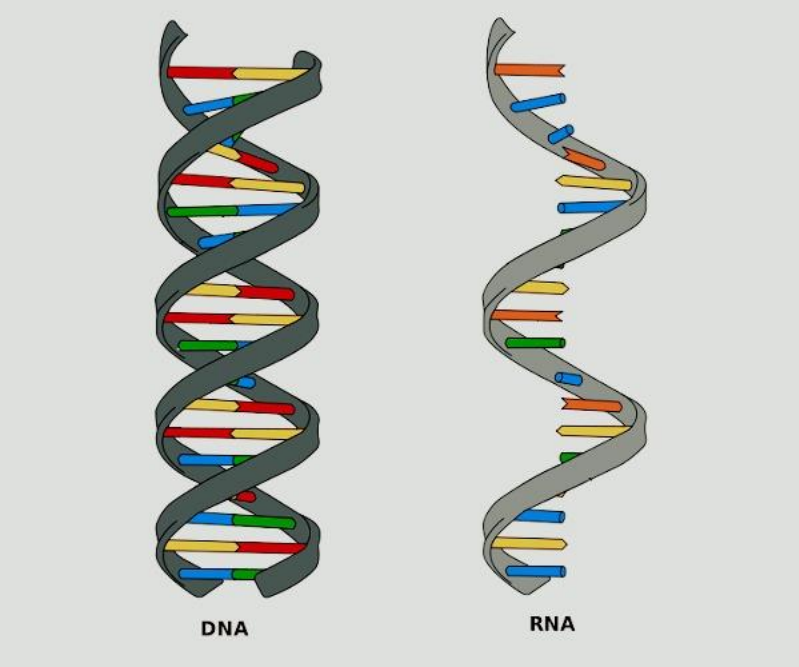
DIAGNOSTICO MOLECULAR PCR

Molecular Diagnostics for Infectious Disease in Small Animal Medicine: An Overview from the Laboratory

Joshua B. Daniels, DVM, PhD

Daniels, J. B. (2013). *Molecular Diagnostics for Infectious Disease in Small Animal Medicine. Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice, 43(6), 1373–1384.*
doi:10.1016/j.cvsm.2013.07.006

- O termo "diagnóstico molecular" refere-se a testes que detectam ácido nucleico (DNA / RNA)



Daniels, J. B. (2013). *Molecular Diagnostics for Infectious Disease in Small Animal Medicine. Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice, 43(6), 1373–1384.*
doi:10.1016/j.cvsm.2013.07.006

Os métodos mais comumente utilizados por laboratórios de diagnóstico para detectar e caracterizar os ácidos nucléicos são

- 1. Reação em cadeia da polimerase (PCR)
- 2. Quantitativo (qPCR) ou PCR em tempo real
- 3. PCR de transcrição reversa (RT-PCR)
- 4. PCR duplex e multiplex ou PCR em tempo real
- 5. Sequenciamento de DNA

SOLUÇÃO?

- Os testes de diagnóstico molecular possuem algumas vantagens – mas é essencial entender suas limitações – conforme cada infecção e o curso da doença

- Os testes de diagnóstico molecular devem ser adequadamente solicitados pelos clínicos conforme o curso da doença

- Os outros testes diagnósticos não devem ser abandonados pois podem fornecer informações acessórias valiosas

Optimal Vector-borne Disease Screening in Dogs Using Both Serology-based and Polymerase Chain Reaction–based Diagnostic Panels

Linda Kidd, DVM, PhD

Kidd, Linda (2019). *Optimal Vector-borne Disease Screening in Dogs Using Both Serology-based and Polymerase Chain Reaction–based Diagnostic Panels. Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice, (), S0195561619300415–.* doi:10.1016/j.cvsm.2019.02.011

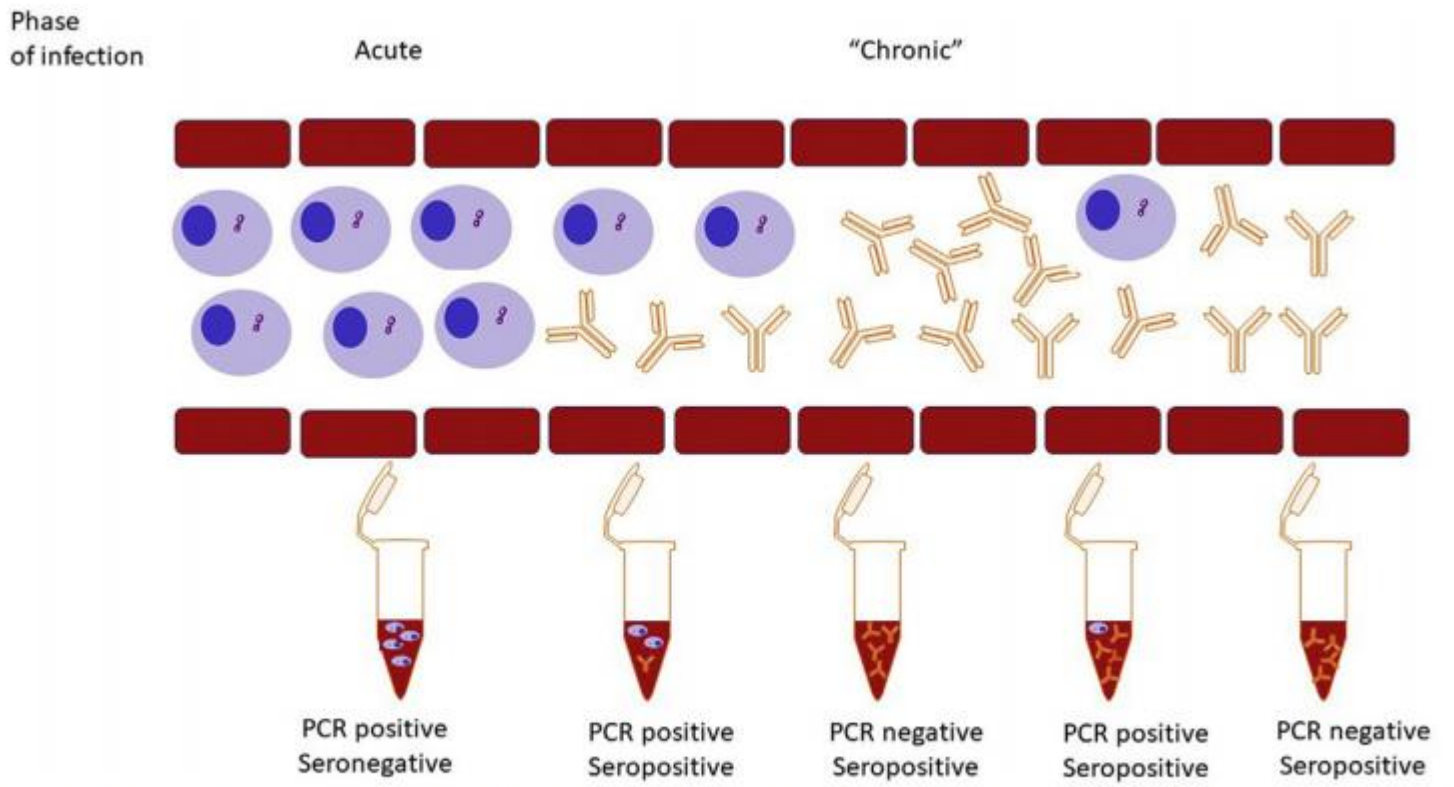
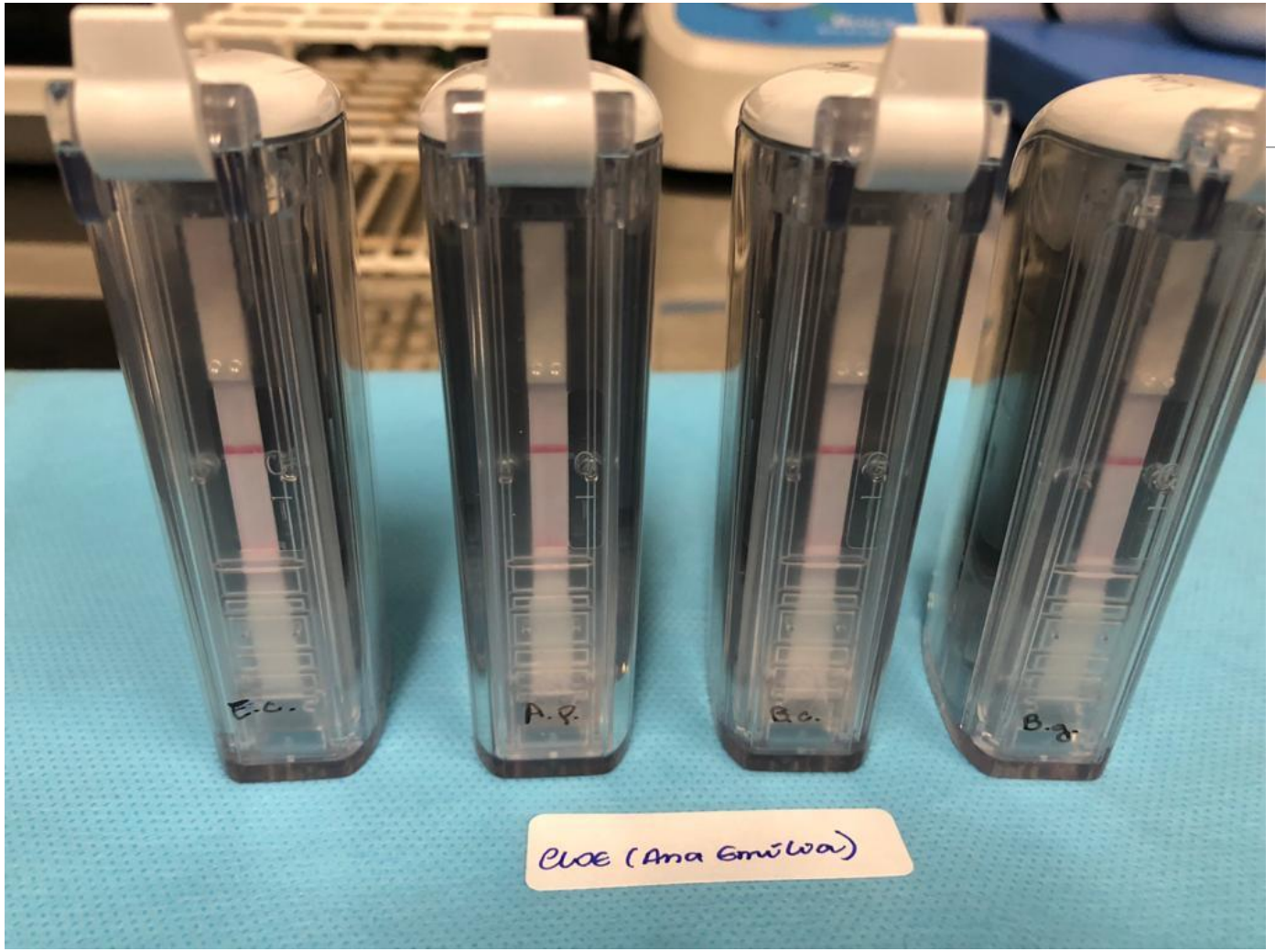


Fig. 1. Theoretical results of PCR and serologic testing for an organism that causes both acute and chronic infection. (*Courtesy of* Linda Kidd, DVM, PhD, Pomona, CA.)

PCRs

- Maior sensibilidade e especificidade
- Detecção de níveis mínimos do agente infeccioso (DNA/RNA)
- Possibilidade de realização em painéis infecciosos
- Curto tempo de realização (Point Of Care)



PAINEL INFECTO – POC PCRun

1 – *Ehrlichia canis*

2 – Anaplasma platys

3 – Babesia canis

4 – Babesia gibsoni

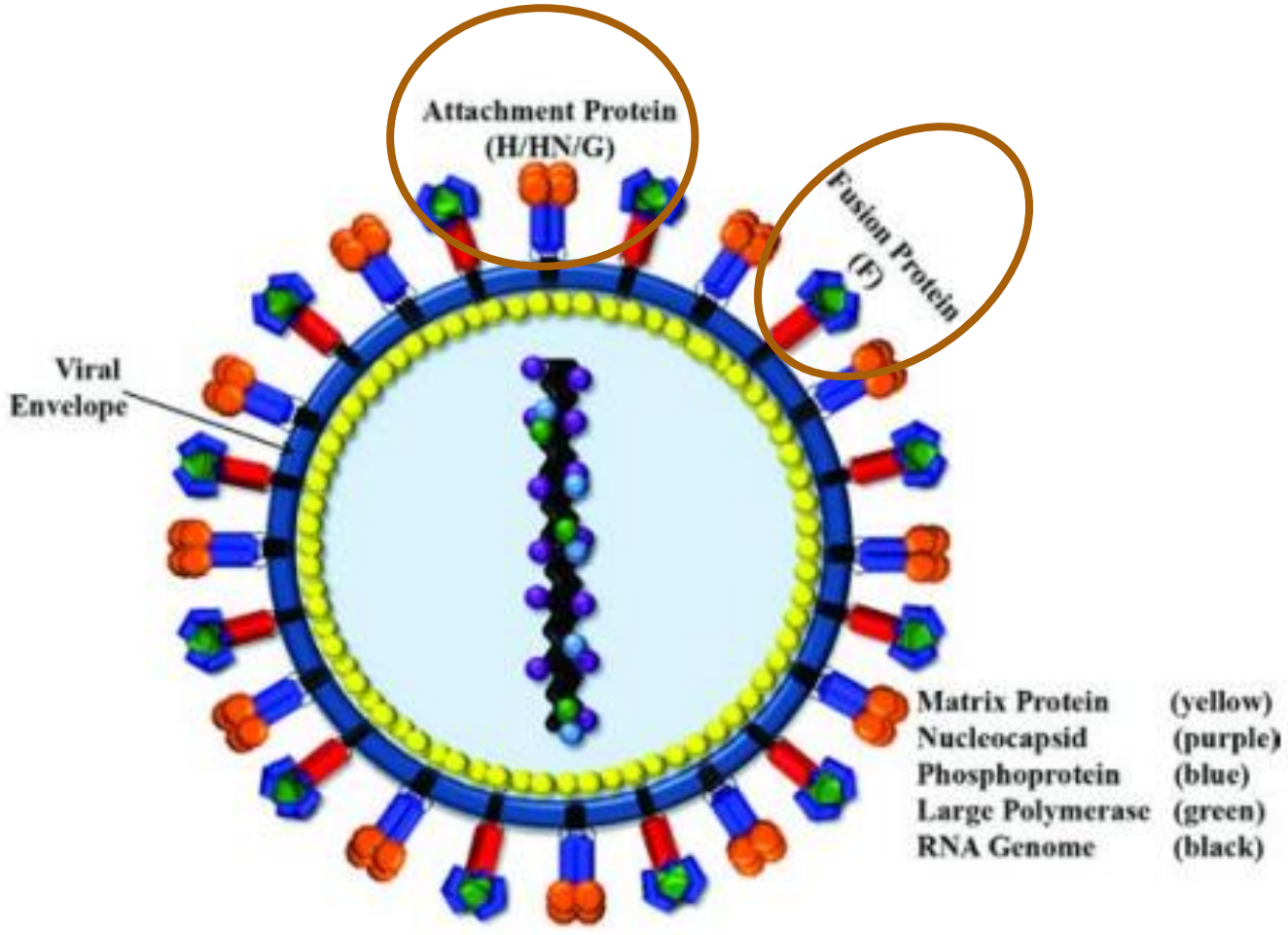
- Maior capacidade de diagnóstico de infecções subclínicas

- Necessidade de aprimoramento de técnicas que permitam
  - Minimização de custos
  - Exigência de menor estrutura laboratorial
  - Realização em larga escala

O QUE ACONTECE NUMA INFECÇÃO

INFECÇÃO VIRAL

- O vírus põe seu próprio RNA mensageiro no ribossomo – a célula passa a produzir as proteínas necessárias para a reprodução viral
- Vírus são parasitas intracelulares obrigatórios: a falta de hialoplasma e ribossomos impede que eles tenham metabolismo próprio
- No seu ciclo de vida, precisa de um ambiente celular contendo ribossomos e outras substâncias que efetuará a síntese das proteínas dos vírus e permitirá a multiplicação do seu material genético



Canine Distemper Virus

INFECÇÃO VIRAL

- Os vírus modificam o metabolismo da célula que parasitam, podendo provocar a sua degeneração e morte
- Eles penetram nas células ou são fagocitados e expõem seu material genético

CASO CLÍNICO

Nome do Animal: BARTO	Sexo: Macho
Idade: 1 anos e 5 meses	Peso: 20 Kg
Raça: BORDER COLLIE	Espécie : Caninos
Veterinário Responsável: Vitor Márcio Ribeiro	CRMV/MG 1883
Suspeita Clínica: MENINGOENCEFALITE	

CLÍNICA GERAL -

ANAMNESE - Tutor relata que aproximadamente 2 à 3 meses, animal iniciou com quadro de ataxia dos membros posteriores e muito desequilibrado.
Tutor relata que levou paciente para um veterinário ortopedista que avaliou e fez todos os testes no animal, e iniciou com protocolo de corticoide, segundo tutor foi para descartar doença auto imune, animal tomou corticoide durante 1 mês e teve melhora da ataxia. A cercxa de um mes fez exame de cinomose Ag na urina com resultado negativo.
Tutor relata que animal estava bem em casa, tinha parado com o corticoide a 4 dias (prednisona 20 em dose inicial), as vezes apresentava uns desequilíbrios e que ontem pela manha o pai do Tutor encontrou o animal em decúbito lateral e muito ofegante (mostrado vídeo durante a consulta), animal levantou depois de um tempo e ficou andando confuso (vídeo mostrado durante a consulta)- sugerindo uma convulsão. Animal apresentou 1 convulsão em seguida, convulsão focal (vídeo mostrado no consultório), e foi levado ao veterinário.
Tutor relata que animal apresentou 12 convulsões ontem, e a ultima convulsão foi as 22:30.

INFORMAÇÕES DO APARELHO

- Citocentrífuga Inbras ALB12cc
- Microscópio NewOptics Biológico Binocular Ótica Finita Acromático LED L201610 SN: NO216B000003

MATERIAL ENVIADO: 3 microtubos com liquor (EDTA, eppendorf)

EXAME FÍSICO

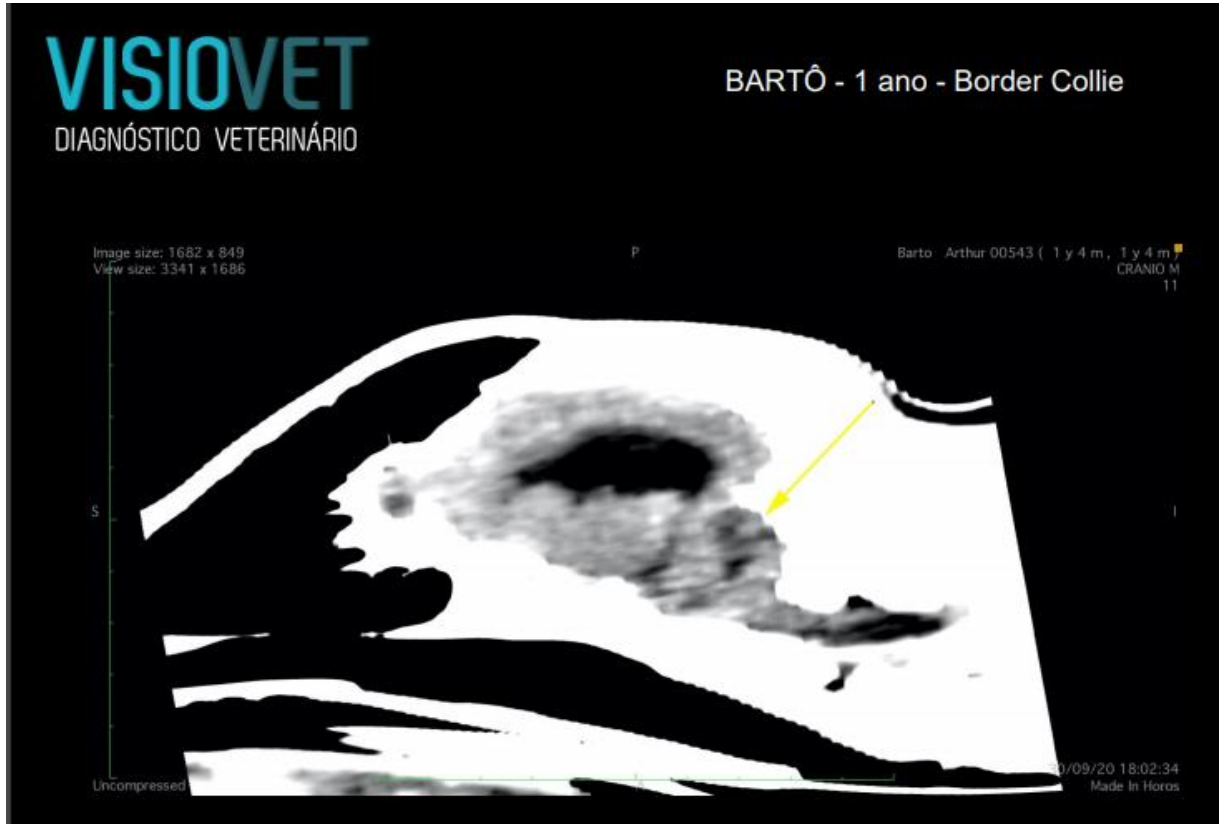
VOLUME:	0,3ml no tubo Edta e 0,8 e 0,5ml no tubo eppendorf.
COR:	Incolor
ASPECTO PRÉ CENTRIFUGAÇÃO:	Límpido
ASPECTO PÓS CENTRIFUGAÇÃO:	Límpido
COAGULAÇÃO:	Ausente
DENSIDADE:	1006

EXAME QUÍMICO

PH:	8
GLICOSE:	55mg/dL (liquor) / 54mg/dL (sangue)
PROTEÍNAS TOTAIS:	36,5 mg/dL

CITOLOGIA

Lâmina confeccionada por citocentrifugação e corada por panótico. Ausência de celularidade.



PESQUISA DE CINOMOSE Ag LÍQUOR

KIT ALERE

LOTE:1103DO36

VALIDADE: 29/12/2021

RESULTADO:

Negativo

PESQUISA DE CINOMOSE Ac SORO

KIT ALERE

LOTE: 2102DA003

VALIDADE: 03/11/2021

RESULTADO:

Positivo

Média Concentração

(1:16 - 1:64)

PESQUISA DE CINOMOSE Ac LÍQUOR

RESULTADO:

POSITIVO

BAIXA CONCENTRAÇÃO

(< 1:16)

Médico Vet..: VITOR MARCIO RIBEIRO Tel.: 3133372026 Fax:0
Clínica Vet.: SANTO AGOSTINHO - BH

PAINEL NEUROLÓGICO CANINO COMPLETO
Real Time PCR Qualitativo

Vírus da Cinomose canina, Neopsora caninum, Toxoplasma gondii, Cryptosporidium spp., Ehrlichia spp., Babesia spp., Blastomyces dermatitidis, Histoplasma capsulatum, Coccidioides spp.

Liberado Tecnicamente: 277
Belo Horizonte , 03/10/2020

Vírus da Cinomose Canina (CDV)
Real Time PCR Qualitativo

MATERIAL UTILIZADO: ***POOL DE AMOSTRAS (URINA + LÍQUOR).***
Há material disponível para inclusão de exames complementares.

INFORMES CLÍNICOS: ***AUSÊNCIA DE INFORMES NA REQUISIÇÃO DE EXAMES.***

MÉTODO: RT-qPCR(REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE EM TEMPO REAL PRECEDIDA DE TRANSCRIÇÃO REVERSA)

RESULTADO: ***POSITIVO***

A canine distemper virus epidemic in Serengeti lions (*Panthera leo*)

Melody E. Roelke-Parker*†, Linda Munson‡##, Craig Packer*§, Richard Kock‖, Sarah Cleaveland*¶#, Margaret Carpenter☆, Stephen J. O'Brien☆, Andreas Pospischil, Regina Hofmann-Lehmann††, Hans Lutz††, George L. M. Mwamengele‡‡, M. N. Mgasa‡‡, G. A. Machange§§, Brian A. Summers‖‖ & Max J. G. Appel¶¶**

* Serengeti Wildlife Research Institute, Tanzania National Parks, Arusha, Tanzania

NATURE · VOL 379 · 1 FEBRUARY 1996

OPEN ACCESS Freely available online PLoS one

Climate Extremes Promote Fatal Co-Infections during Canine Distemper Epidemics in African Lions

Linda Munson[1], Karen A. Terio[2], Richard Kock[3], Titus Mlengeya[4], Melody E. Roelke[4,5], Edward Dubovi[6], Brian Summers[7], Anthony R. E. Sinclair[8], Craig Packer[9]*

1 Department of Pathology, Microbiology and Immunology, University of California Davis, Davis, California, United States of America, **2** University of Illinois Zoological Pathology Program, Maywood, Illinois, United States of America, **3** African Union International Bureau for Animal Resources, Nairobi, Kenya, **4** Tanzania National Parks, Arusha, Tanzania, **5** Laboratory of Genomic Diversity, SAIC-Frederick, Inc., NCI-Frederick, Frederick, Maryland, United States of America, **6** Department of Population Medicine and Diagnostic Sciences, Cornell University, Ithaca, New York, United States of America, **7** Department of Biomedical Sciences, College of Veterinary Medicine, Cornell University, Ithaca, New York, United States of America, **8** Department of Zoology, University of British Columbia, Vancouver, Canada, **9** Department of Ecology, Evolution, and Behavior, University of Minnesota, St. Paul, Minnesota, United States of America

Citation: Munson L, Terio KA, Kock R, Mlengeya T, Roelke ME, et al. (2008) Climate Extremes Promote Fatal Co-Infections during Canine Distemper Epidemics in African Lions. PLoS ONE 3(6): e2545. doi:10.1371/journal.pone.0002545

Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/14641773_A_canine_distemper_virus_epidemic_in_Serengeti_lions_Panthera_leo [acessado em 08 de dezembro de 2020].

- Condições climáticas extremas podem alterar as relações históricas entre hospedeiro e patógeno e sincronizar a convergência temporal e espacial de múltiplos agentes infecciosos, desencadeando epidemias com mortalidade muito maior do que aquelas devidas a patógenos únicos
- Uma epidemia de CDV em 1994 em leões do Serengeti (*Panthera leo*) coincidiu com a morte de 1/3 da população
- Uma segunda epidemia de CDV de alta mortalidade atingiu a população de leões da cratera Ngorongoro em 2001

OPEN ACCESS Freely available online PLoS one

Climate Extremes Promote Fatal Co-Infections during Canine Distemper Epidemics in African Lions

Linda Munson[1], Karen A. Terio[2], Richard Kock[3], Titus Mlengeya[4], Melody E. Roelke[4,5], Edward Dubovi[6], Brian Summers[7], Anthony R. E. Sinclair[8], Craig Packer[9]*

1 Department of Pathology, Microbiology and Immunology, University of California Davis, Davis, California, United States of America, 2 University of Illinois Zoological Pathology Program, Maywood, Illinois, United States of America, 3 African Union International Bureau for Animal Resources, Nairobi, Kenya, 4 Tanzania National Parks, Arusha, Tanzania, 5 Laboratory of Genomic Diversity, SAIC-Frederick, Inc., NCI-Frederick, Frederick, Maryland, United States of America, 6 Department of Population Medicine and Diagnostic Sciences, Cornell University, Ithaca, New York, United States of America, 7 Department of Biomedical Sciences, College of Veterinary Medicine, Cornell University, Ithaca, New York, United States of America, 8 Department of Zoology, University of British Columbia, Vancouver, Canada, 9 Department of Ecology, Evolution, and Behavior, University of Minnesota, St. Paul, Minnesota, United States of America

- As análises sorológicas indicaram que pelo menos cinco epidemias de CDV "silenciosas" varreram essas duas populações de leões entre 1976 e 2006 sem sinais clínicos ou mortalidade mensurável, indicando que o CDV não era necessariamente fatal
- Os achados clínicos e patológicos sugeriram que o **hemoparasitismo** foi o principal fator contribuinte durante as epidemias fatais

OPEN ACCESS Freely available online PLoS one

Climate Extremes Promote Fatal Co-Infections during Canine Distemper Epidemics in African Lions

Linda Munson[1], Karen A. Terio[2], Richard Kock[3], Titus Mlengeya[4], Melody E. Roelke[4,5], Edward Dubovi[6], Brian Summers[7], Anthony R. E. Sinclair[8], Craig Packer[9]*

1 Department of Pathology, Microbiology and Immunology, University of California Davis, Davis, California, United States of America, 2 University of Illinois Zoological Pathology Program, Maywood, Illinois, United States of America, 3 African Union International Bureau for Animal Resources, Nairobi, Kenya, 4 Tanzania National Parks, Arusha, Tanzania, 5 Laboratory of Genomic Diversity, SAIC-Frederick, Inc., NCI-Frederick, Frederick, Maryland, United States of America, 6 Department of Population Medicine and Diagnostic Sciences, Cornell University, Ithaca, New York, United States of America, 7 Department of Biomedical Sciences, College of Veterinary Medicine, Cornell University, Ithaca, New York, United States of America, 8 Department of Zoology, University of British Columbia, Vancouver, Canada, 9 Department of Ecology, Evolution, and Behavior, University of Minnesota, St. Paul, Minnesota, United States of America

- Usando **PCR quantitativo em tempo real** medimos a magnitude das infecções por **hemoparasita** nessas populações ao longo de 22 anos
- Níveis significativamente mais elevados de *Babesia* foram observados nas epidemias de 1994 e 2001 e condições extremas de seca com alta mortandade de herbívoros e elevada eclosão de **carrapatos** que alcançaram números expressivos após a seca extensão da exposição ao CDV dentro dos grupos
- Os leões foram infectados por um número incomum de *Babesia* que foram mais patogênicas pelo efeito imunossupressor do CDV em **coinfecção e levando a alta mortalidade**
- Esses eventos de mortalidade em massa podem se tornar cada vez mais comuns se os extremos climáticos perturbarem as relações estáveis históricas entre **patógenos coexistentes** e seus hospedeiros suscetíveis.

AGENTES VIRAIS		
Nome do Vírus	**Ocorrência**	**Severidade da doença**
Adenovírus tipo I	?	Grave
Coronavírus canino	Rara?	Leve
Vírus da cinomose canina	Comum	Leve a grave
Herpesvírus canino-1	?	Leve em adultos e grave em filhotes
Complexo respiratório infeccioso (tosse dos canis)	Comum	Leve a moderada
Vírus papiloma canino	?	Leve
Parvovírus	Comum	Grave
Pseudoraiva	?	Grave
Raiva	Rara	Grave

O QUE ACONTECE NUMA INFECÇÃO

INFECÇÃO BACTERIANA

- BACTÉRIAS INTRACELULARES
  - *Chlamydia* spp., *Anaplasma* spp., *Ehrlichia* spp., *Rickettsia* spp., *Orientia* spp. e *Coxiella* spp., replicam-se exclusivamente dentro de células hospedeiras eucarióticas

- BACTÉRIAS EXTRACELULARES
  - As bactérias extracelulares são organismos de vida livre

AGENTES BACTERIANOS

Nome da Bactéria	Ocorrência	Severidade da doença
Anaplasma platys	Comum	Leve a grave
Ehrlichia canis	Comum	Leve a grave
Bordetella bronchiseptica	Comum	Leve
Lepstopira interrogans	Comum	Grave
Brucella canis	Rara?	Moderada a grave
Rickettsia rickettsii	Rara?	Moderada a grave
Borrelia burgdorferi	Rara?	Moderada a grave

Ehrlichia sp

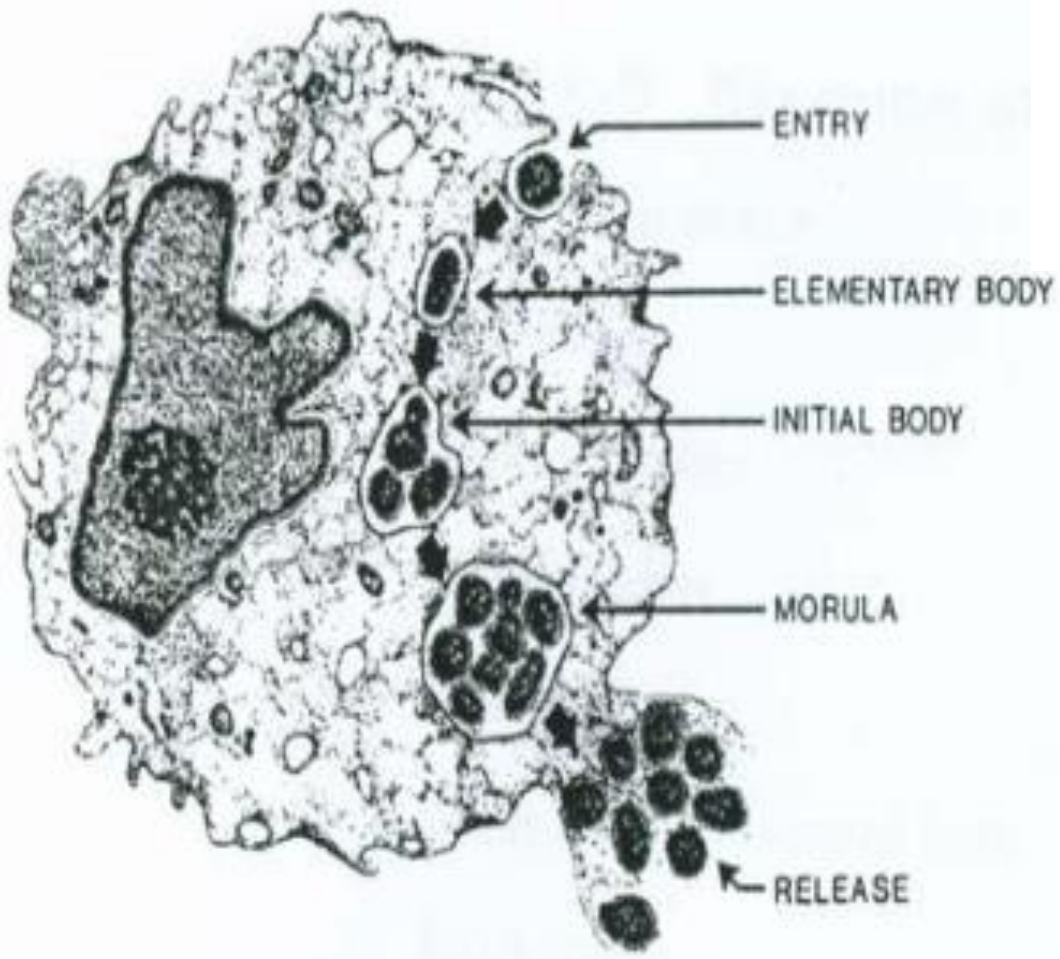


Figure 1: Schematic representation of the growth cycle of ehrlichiae in an infected cell
Source: Forbes *et al.*, 1998.

An insight review on canine ehrlichiosis with emphasis on its epidemiology and pathogenesity importance

Teshager Dubie[1*], Yasin Mohammed[1], Getachew Terefe[1], Yimer Muktar[2] and Juhar Tesfaye[1]

[1]College of Veterinary Medicine and agriculture, Addis Ababa University, P.O. Box 34, Debre Zeit, Ethiopia.
[2]College of Veterinary Medicine and Agriculture, Haramaya University, P. O. Box 138, Dire Dewa, Ethiopia.

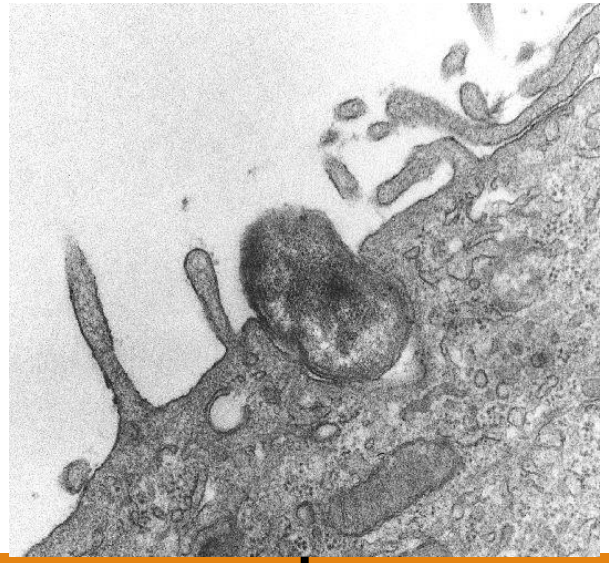
- Um organismo único adere-se à membrana plasmática (Figura 1), invagina-se e divide-se por fissão binária formando *Mórulas*

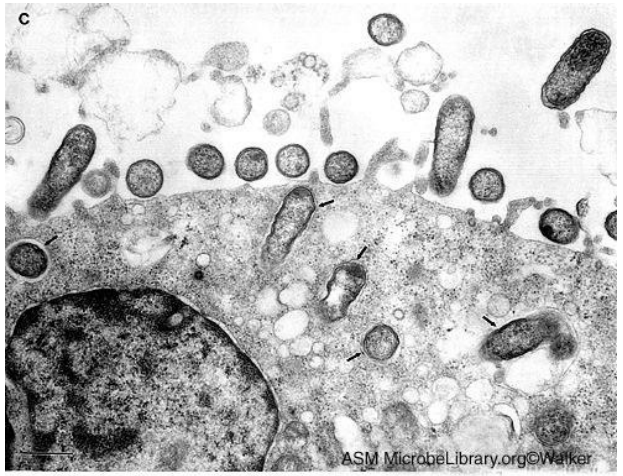
- *Esses corpúsculos elementares* podem deixar as células quando elas *se rompem* ou por *exocitose*.

- A *Ehrlichia sp* pode não destruir a célula – após sua multiplicação ela é liberada pela célula sem matá-la

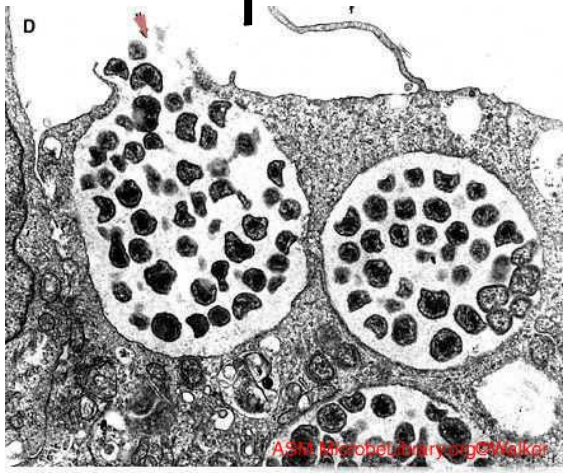
---

- Secreta proteínas que imunomodulam a célula para não ter ativação, não ativar as células vizinhas e infectá-las sucessivamente





Attachment of rickettsiae to the surface of an endothelial cell is followed by their entry into the cell via rickettsia-induced phagocytosis. Following phagocytosis, the phagosome membrane (arrow) is lost and the rickettsiae escape into the host cell cytoplasm. Bar = 0.5 µm



Dense-core cells of *E. chaffeensis* are seen here exiting the host cell following rupture of the morula and the host cell cytoplasmic membrane. These ehrlichiae will now go on to infect additional host cells or they may be ingested by a feeding tick, thus spreading the infection.

Patogenia – Erliquiose

Após um período de incubação de 8 a 20 dias seguem-se três estágios de doença (Erliquiose):

* Fase aguda
* Fase subclínica
* Fase crônica

DE GRUYTER OPEN

Acta Veterinaria-Beograd 2017, 67 (3), 299-317
UDK: 636.7.09:[616.98:579.881.3
DOI: 10.1515/acve-2017-0025

Review article

CANINE MONOCYTIC EHRLICHIOSIS: AN UPDATE ON DIAGNOSIS AND TREATMENT

MYLONAKIS Mathios E.*, THEODOROU Konstantina N.

Companion Animal Clinic, School of Veterinary Medicine, Faculty of Health Sciences, Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki, Greece

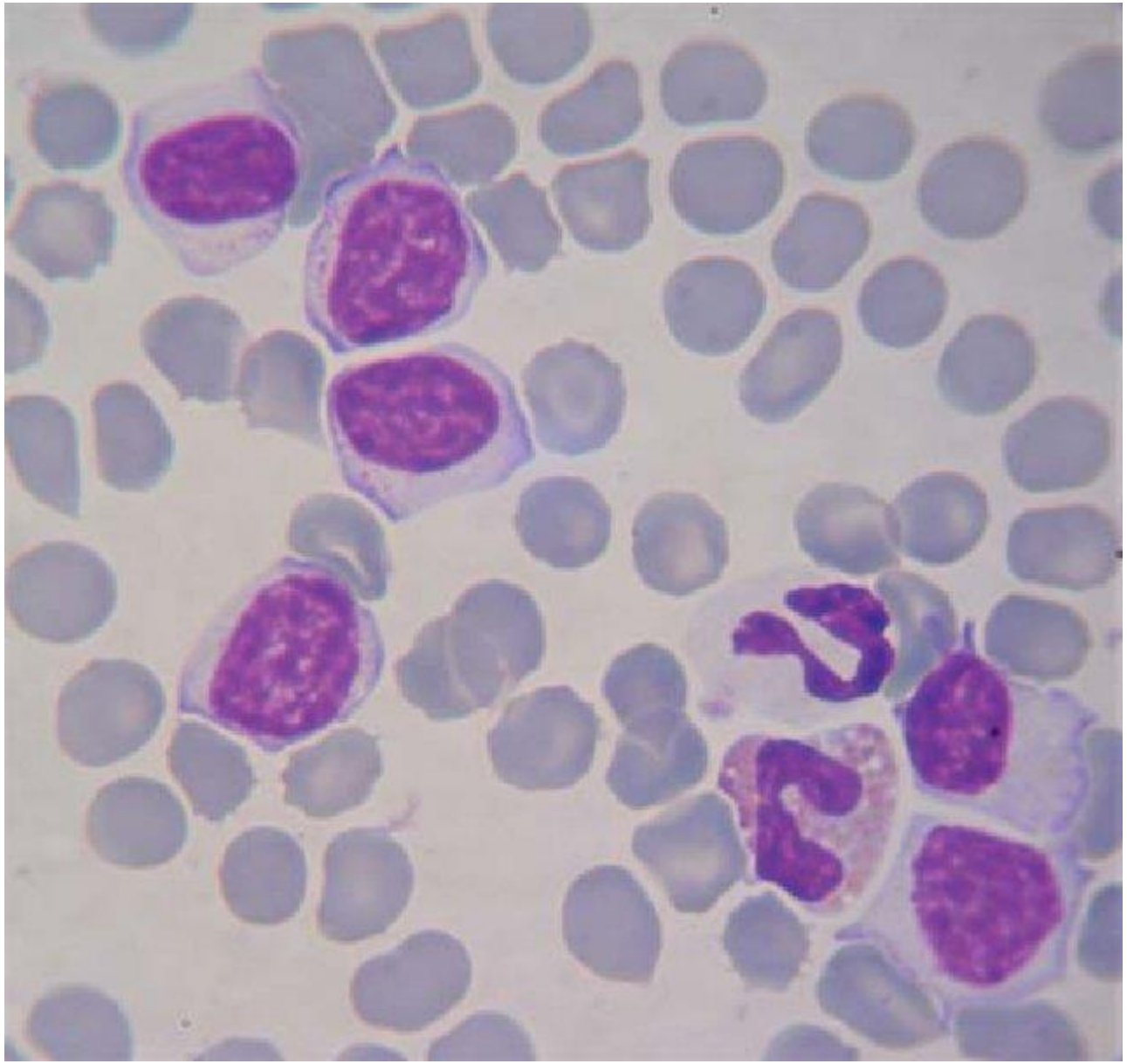


Figura 5. Esfregaço de sangue de um cão com CME (Diff-Quik, objetivo 100x). O cão apresentou linfocitose moderada persistente que se resolveu após a conclusão do tratamento com doxiciclina. São descritos vários linfócitos granulares e trombocitopenia grave.

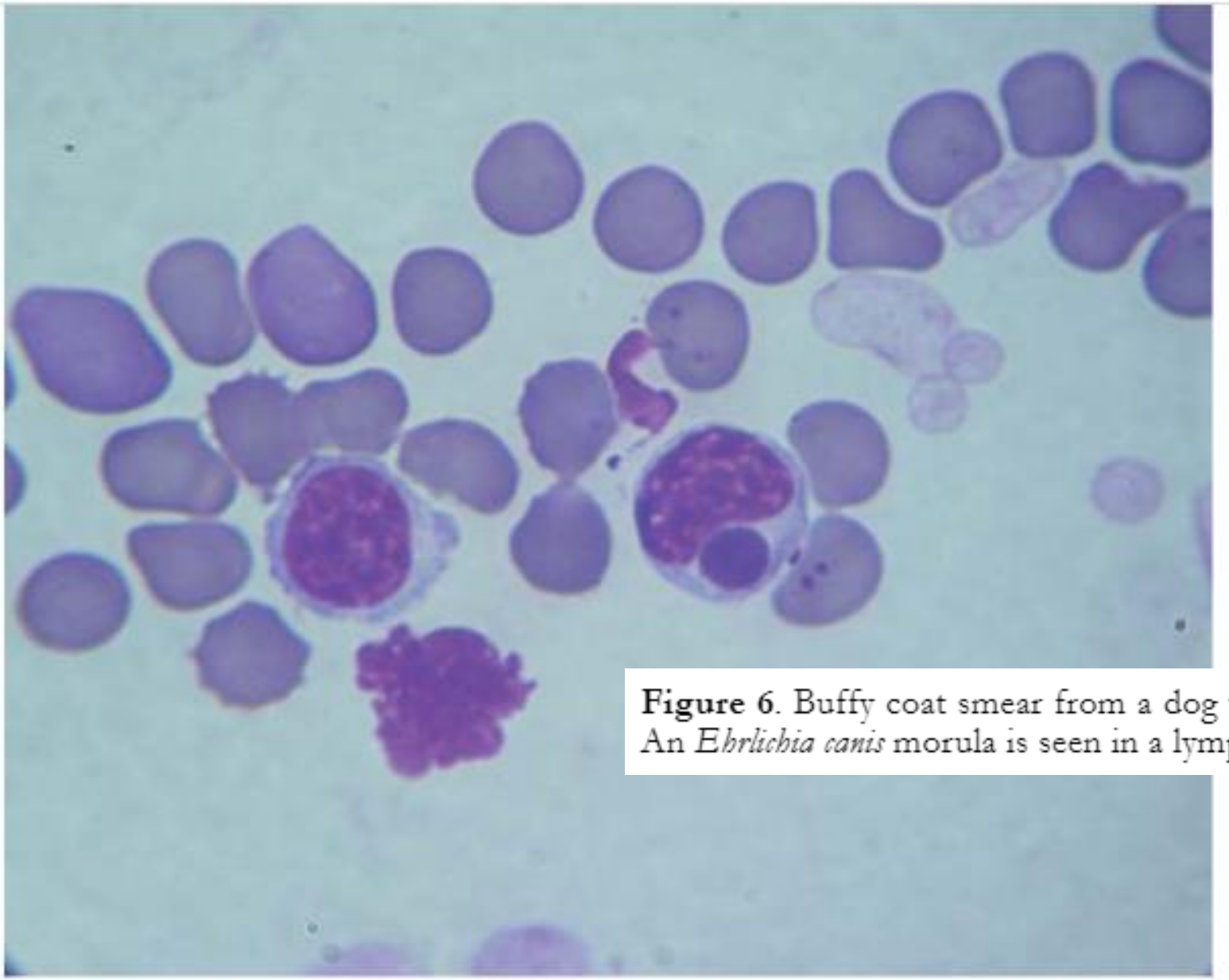


Figure 6. Buffy coat smear from a dog with experimental CME (Diff-Quik, objective 100x). An *Ehrlichia canis* morula is seen in a lymphocyte.

DE GRUYTER OPEN

Acta Veterinaria-Beograd 2017, 67 (3), 299-317
UDK: 636.7.09:[616.98:579.881.3
DOI: 10.1515/acve-2017-0025

Review article

**CANINE MONOCYTIC EHRLICHIOSIS:
AN UPDATE ON DIAGNOSIS AND TREATMENT**

MYLONAKIS Mathios E.*, THEODOROU Konstantina N.

Companion Animal Clinic, School of Veterinary Medicine, Faculty of Health Sciences, Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki, Greece

Material para exame

Sangue (periférico / MO)

Soro

Líquor – predisposição a sangramento

Tecidos

Diagnóstico

- Anamnese
- Sinais clínicos
- Laboratório
  - Alterações plaquetárias
  - Sorologia
  - Proteínas séricas

  ] Triagem / Estadiamento

  - Identificação mórula
  - PCR convencional / PCRun ou PCR TR

  ] Confirmatório

The Veterinary Journal 187 (2011) 292–296

Contents lists available at ScienceDirect

The Veterinary Journal

journal homepage: www.elsevier.com/locate/tvjl

Review

Diagnosis of canine monocytotropic ehrlichiosis (*Ehrlichia canis*): An overview

Shimon Harrus [a,*], Trevor Waner [b]

[a] Koret School of Veterinary Medicine, The Hebrew University of Jerusalem, P.O. Box 12, Rehovot 76100, Israel
[b] Israel Institute for Biological Research, P.O. Box 19, Ness Ziona 74100, Israel

Diagnóstico – Erliquiose / Anaplasmose

- PCR e RIFI positivo sugere Fase Aguda

- PCR positivo e RIFI negativo – inicio da infecção

- PCR negativo e RIFI positivo
  - Fase crônica
  - Assintomática
  - Cura microbiológica

The Veterinary Journal 187 (2011) 292–296

Contents lists available at ScienceDirect

The Veterinary Journal

journal homepage: www.elsevier.com/locate/tvjl

Review

Diagnosis of canine monocytotropic ehrlichiosis (*Ehrlichia canis*): An overview

Shimon Harrus [a,*], Trevor Waner [b]

[a] Koret School of Veterinary Medicine, The Hebrew University of Jerusalem, P.O. Box 12, Rehovot 76100, Israel
[b] Israel Institute for Biological Research, P.O. Box 19, Ness Ziona 74100, Israel

CASO CLÍNICO

SANTOAGOSTINHO
Hospital Veterinário

Veterinário Responsável: Vitor Márcio Ribeiro | CRMV/MG 1883
Suspeita Clínica: SINDROME DIFUSA ALTA

CLÍNICA VETERINÁRIA SANTO AGOSTINHO
DEPARTAMENTO DE NEUROLOGIA
Dr. PhD Vitor Márcio Ribeiro

- Há 14 meses
  - Doença do carrapato - sorologia positiva *Ehrlichia canis* / citologia de MO negativa
  - Desde então – anemia não regenerativa e trombocitopenia
  - Tratamento – 2 series de doxiciclina 10 mg/kg bid - 28 dias
  - Imunossupressores – prednisona
- No dia do atendimento:
  - Cegueira súbita – hemorragia intraocular
  - Grave pancitopenia
  - Tratamento – azatioprina

Exames

Exame	Resultados	Intervalo de referência	BAIXO	NORMAL	ALTO
ProCyte Dx (13 de Agosto de 2018 17:56)					
Eritrócito	1,95 M/µL	5.65 - 8.87	BAIXO		
HCT	12,9 %	37.3 - 61.7	BAIXO		
HGB	4,6 g/dL	13.1 - 20.5	BAIXO		
MCV	66,2 fL	61.6 - 73.5			
MCH	23,6 pg	21.2 - 25.9			
MCHC	35,7 g/dL	32.0 - 37.9			
RDW	14,5 %	13.6 - 21.7			
%RETIC	0,1 %				
RETIC	1,8 K/µL	10.0 - 110.0	BAIXO		
Leucócitos	0,54 K/µL	5.05 - 16.76	BAIXO		
%NEU	* 81,4 %				
%LYM	* 11,1 %				
%MONO	* 5,6 %				
%EOS	0,0 %				
%BASO	1,9 %				
NEU	* 0,44 K/µL	2.95 - 11.64	BAIXO		
BAND	* Suspeita				
LYM	* 0,06 K/µL	1.05 - 5.10	BAIXO		
MONO	* 0,03 K/µL	0.16 - 1.12	BAIXO		
EOS	0,00 K/µL	0.06 - 1.23	BAIXO		
BASO	0,01 K/µL	0.00 - 0.10			
PLQ	0 K/µL	148 - 484	BAIXO		
VPM	--.-- fL	8.7 - 13.2			
PDW	--.-- fL	9.1 - 19.4			
PCT	--.-- %	0.14 - 0.46			

Exame	Resultados	Intervalo de referência	BAIXO	NORMAL	ALTO
Catalyst One (13 de Agosto de 2018 18:21)					
GLU	104 mg/dL	74 - 143			
FRU	--.-- µmol/L	177 - 314			
SDMA	10 µg/dL	0 - 14			
CREA	1,1 mg/dL	0.5 - 1.8			
BUN	21 mg/dL	7 - 27			
BUN/CREA	19				
PHOS	4,5 mg/dL	2.5 - 6.8			
CA	9,5 mg/dL	7.9 - 12.0			
TP	7,1 g/dL	5.2 - 8.2			
ALB	2,4 g/dL	2.3 - 4.0			
GLOB	4,7 g/dL	2.5 - 4.5	ALTO		
ALB/GLOB	0,5				
ALT	133 U/L	10 - 125	ALTO		
ALKP	241 U/L	23 - 212	ALTO		
GGT	9 U/L	0 - 11			
TBIL	0,2 mg/dL	0.0 - 0.9			
CHOL	135 mg/dL	110 - 320			
NH3	0 µmol/L	0 - 98			
TT4	1,6 µg/dL	1.0 - 4.0			

Tempo de coagulação aumentado

SANTOAGOSTINHO
Hospital Veterinário

PCRun™ QUATTRO

Cat. No: 03QTR100
Lote No: 180714

Animal: Lola

Exame solicitado: Detecção molecular para hemoparasitoses

Material enviado: Sangue (Tubo com EDTA).

Resultado:

***Erlichia canis*:** Positivo
***Anaplasma platys*:** Negativo
***Babesia canis*:** Negativo
***Babesia gibsoni*:** Negativo

SANTOAGOSTINHO
Hospital Veterinário

Animal: 34116 - LOLA	Espécie: Caninos	Sexo: Femea
Raça: BULLDOG FRANCES	Idade: 4 anos e 0 meses	Peso: 12,8 Kg

PRESCRIÇÃO DE CANIL

1. MAXITROL - 1 GOTA EM AMBOS OS OLHOS À CADA 6 HORAS

2. DIPIRONA - 13 GOTAS VO ÀS 05:00, 13:00 E 21:00 HORAS (aferir temperatura antes)

3. TETRACICLINA 300mg - 1 CAPS VO ÀS 05:00, 13:00 E 21:00 HORAS

4. COMPRESSA QUENTE NA FACE POSTERIOR DO MEMBRO PÉLVICO DIREITO ÀS 05:00 E 17:00 HORAS

* APLICAÇÃO DE TERRAMICINA LA EM 20/08

SANTOAGOSTINHO
Hospital Veterinário

Nome do Animal: LOLA	Sexo: Fema
Idade: 4 anos e 0 meses	Peso: 12,8
Raça: BULLDOG FRANCES	Espécie : C

Prescrição de Dieta

01. Ração seca Intestinal Royal Canin

Fornecer ao animal 55 gramas em cada refeição

05:00 13:00 21:00

12/08_____

13/08_____

14/08_____

M.V LUCIENE RIBEIRO BOTF
CRMV / MG 15177

SANTOAGOSTINHO
Hospital Veterinário

[redacted]	Data Documento: 13/09/2018
	Sexo: Femea
Idade: 4 anos e 1 meses	Peso: 13,3 Kg
Raça: BULLDOG FRANCES	Espécie : Caninos

USO INTERNO

1 - PREDNISONA 20 MG COMPRIMIDOS ---------- CX.
.DAR 1,5 COMPRIMIDOS UMA VEZ AO DIA, PELA MANHA, ATÉ NOVAS RECOMENDAÇÕES

2 - MICOFENOLATO 500 MG COMPRIMIDOS ---------- CX.
.DAR 1/4 DO COMPRIMIDO DE 12/12 HORAS ATÉ NOVAS RECOMENDAÇÕES.

3 - CLORIDRATO DE TETRACICLINA 300 MG CÁPSULAS ---------- 60 CÁPSULAS
.DAR 1 CÁPSULA DE 8/8 HORAS POR MAIS 30 DIAS.

> APLICAÇÃO DE CÉLULAS TRONCO - DIA 21 DE AGOSTO DE 2018 - PROXIMA APLICAÇÃO PREVISTA PARA DIA 11 DE SETEMBRO DE 2018.

> DIETA - RAÇÃO SENIOR - ROYAL CANIN // HILL'S // PREMIER

Mantida a medicação

Zoolabi Veterinário

Raça: BULLDOGUE FI

Atendimento: 03-038208

Data: 19/06/2019 Horario: 13:00

Convênio: SÃO JOSÉ - VET

Impressão: 19/06/2019 15:10:05

RESULTADOS

HEMOGRAMA COMPLETO VETERINARIO CANINO

Data Coleta: 19/06/2019
Material: Sangue Método: Automatizado - Citometria de fluxo / Microscopia óptica

ERITROGRAMA			Valores de Referência
Hemácias...:	8,42	milhões/mm³	5,5 - 8,5
Hemoglobina:	17,4	g/dL	12,0 - 18,0
Hematócrito:	50,0	%	37 - 55
VCM.....:	59,4	fL	60 - 77
HCM.....:	20,7	pg	21 - 26
CHCM.....:	34,8	%	30 - 36

Observação.:Hemácias normocíticas e normocrômicas

LEUCOGRAMA			
Leucócitos - Global:	4.500 céls./mm³		6.000 a 17.000
Diferencial			
Basófilos.....:	0,0	0 /mm³	
Eosinófilos.....:	02,0	90 /mm³	(2 a 10)
Mielócitos.....:	0,0	0 /mm³	
Metamielócitos.....:	0,0	0 /mm³	
Bastonetes.....:	0,0	0 /mm³	(0 a 2)
Segmentados.....:	65,0	2925 /mm³	(50 a 70)
Linfócitos Tipicos.:	27,0	1215 /mm³	(15 a 30)
Linfócitos Atipicos:	0,0	0 /mm³	
Monócitos.....:	06,0	270 /mm³	(3 a 9)

Observação.....:Contagem diferencial da série leucocitária confirma óptica.

Leucopenia;

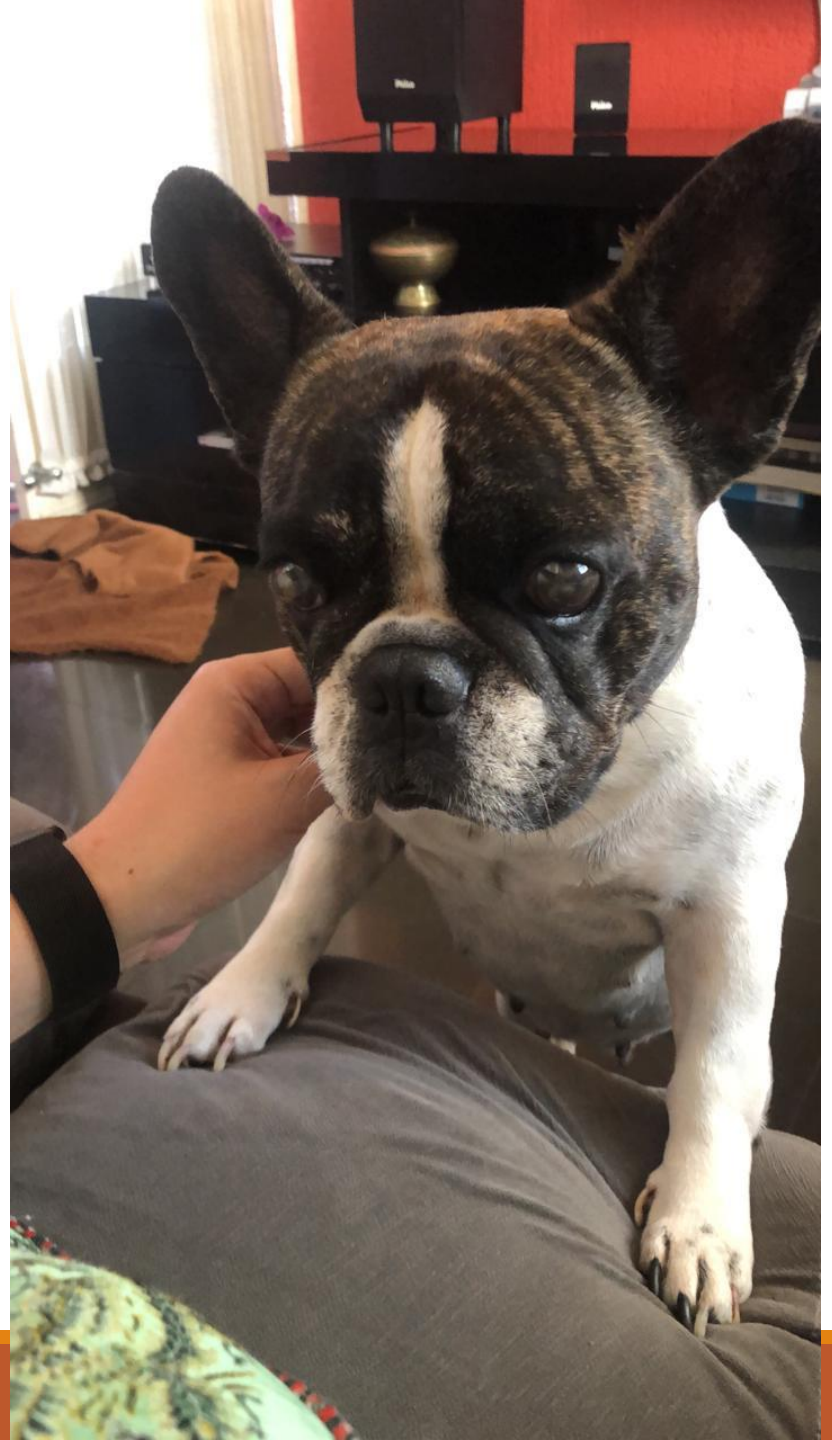
PLAQUETAS.....: 314.000 /mm³ 200.000 a 500.000

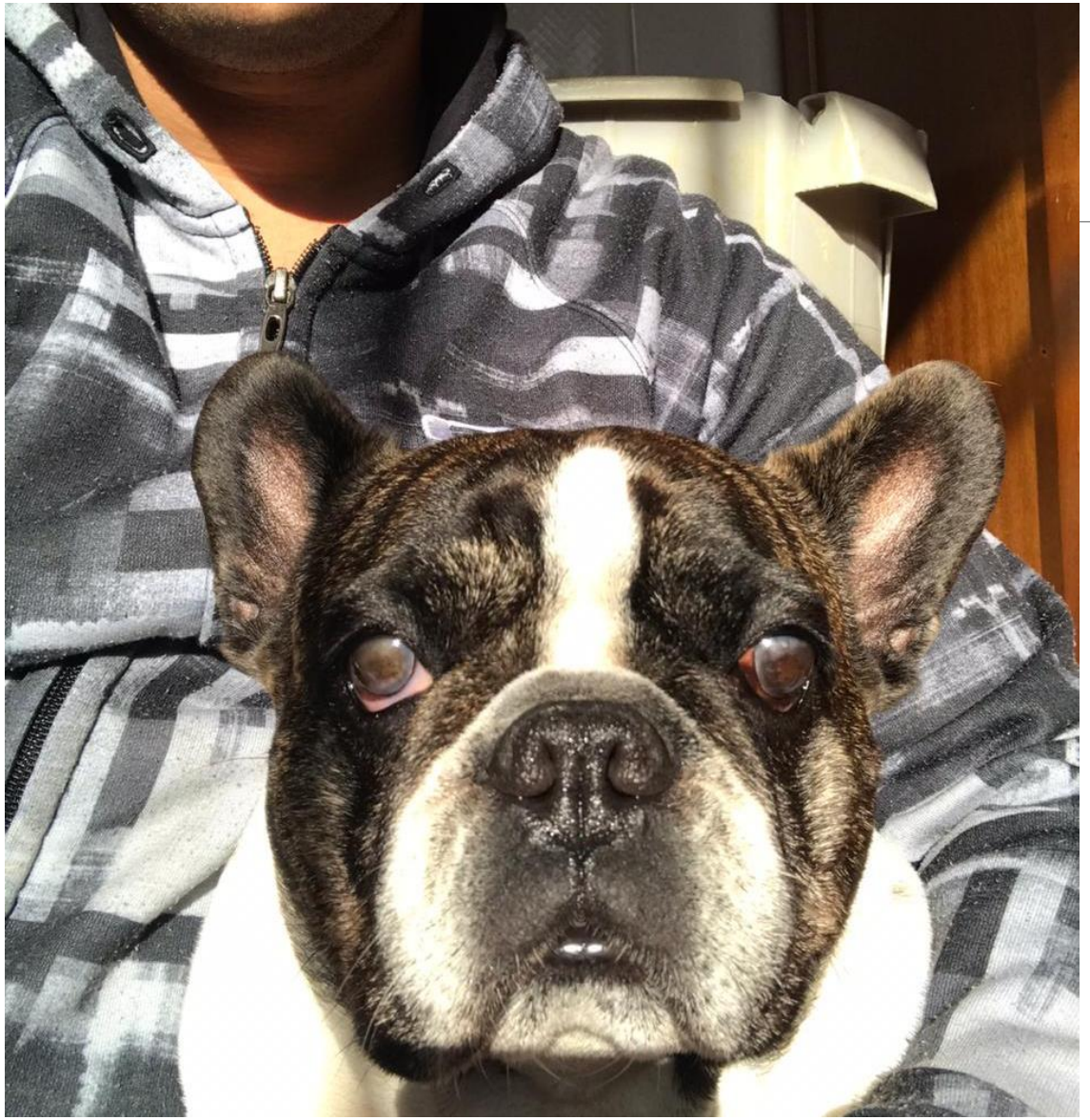
OBSERVAÇÃO.....: Contagem de Plaquetas confirmada por dois método

Referência até 6 meses	
Hemácias	4,73 - 6,56 Milhões /mm³
Hemoglobina	10,4 - 14,40 g/dl
Hematócrito	33,1 - 44,0 %
VCM	60 - 70,1 fl
HCM	20,7 - 22,8 pg
CHCM	30,1 - 33 g/dl
Global de Leucócitos	11.200 a 15.300 /mm³

Nota: *Valores de referência atualizados de acordo com:*
WEISS, D.J; WARDROP, K.J. Schalm's Veterinary Hematology. 6ed Blackwell Publishing Ltd

19/06/2019
Controle





Convênio: SÃO JOSÉ - VET Impressão: 27/04/2020 13:38:57

RESULTADOS

HEMOGRAMA COMPLETO VETERINARIO CANINO

Data Coleta: 27/04/2020
Material: Sangue Método: Automatizado - Citometria de fluxo / Microscopia óptica

ERITROGRAMA

			Valores de Referência
Hemácias...:	7,14	milhões/mm³	5,5 - 8,5
Hemoglobina:	16,4	g/dL	12,0 - 18,0
Hematócrito:	47,4	%	37 - 55
VCM.....:	66,4	fL	60 - 77
HCM.....:	23,0	pg	21 - 26
CHCM.....:	34,6	%	30 - 36

Observação.:Hemácias normocíticas e normocrômicas

LEUCOGRAMA

Leucócitos - Global:	6.600 céls./mm³		6.000 a 17.000
Diferencial			
Basófilos.....:	0,0	0 /mm³	
Eosinófilos.....:	02,0	132 /mm³	(2 a 10)
Mielócitos.....:	0,0	0 /mm³	
Blastos.....:	0,0	0 /mm³	
Bastonetes.....:	0,0	0 /mm³	(0 a 2)
Segmentados.....:	69,0	4554 /mm³	(50 a 70)
Linfócitos Tipicos.:	23,0	1518 /mm³	(15 a 30)
Linfócitos Atipicos:	0,0	0 /mm³	
Monócitos.....:	06,0	396 /mm³	(3 a 9)

Observação.....:Contagem diferencial da série leucocitária confirmada por micro
óptica.

PLAQUETAS.....: 470.000 /mm³ 200.000 a 500.000

OBSERVAÇÃO.....: Contagem de Plaquetas confirmada por dois métodos

Referência até 6 meses	
Hemácias	4,73 - 6,56 Milhões /mm³
Hemoglobina	10,4 - 14,40 g/dl
Hematócrito	33,1 - 44,0 %
VCM	68 - 70,1 fl
HCM	20,7 - 22,8 pg
CHCM	30,1 - 33 g/dl
Global de Leucócitos	11.300 a 15.300 /mm³

Fonte: *Valores de referência atualizados de acordo com:*
JAGGS, D.J; WARDROP, K.J. Schalm's Veterinary Hematology. 6ed Blackwell Publishing Ltda, 2010. 1206

09/07/2020

The Veterinary Journal 246 (2019) 45–53

Contents lists available at ScienceDirect

The Veterinary Journal

journal homepage: www.elsevier.com/locate/tvjl

Review

An update on the treatment of canine monocytic ehrlichiosis (*Ehrlichia canis*)

Mathios E. Mylonakis[a,*], Shimon Harrus[b], Edward B. Breitschwerdt[c]

Três drogas são indicadas:

- Doxiciclina (tratamento de primeira linha)
- Minociclina e Rifampicina (tratamentos de segunda linha)

O tratamento confere

- Cura clinica na maioria dos casos
- Porém não é invariavelmente eficaz na eliminação da infecção

Diagnóstico – Erliquiose / Anaplasmose

- PCR e RIFI positivo sugere Fase Aguda (OCASIONAL FASE CRÔNICA)

- PCR positivo e RIFI negativo – inicio da infecção

- PCR negativo e RIFI positivo
  - Fase crônica
  - Assintomática
  - Cura microbiológica

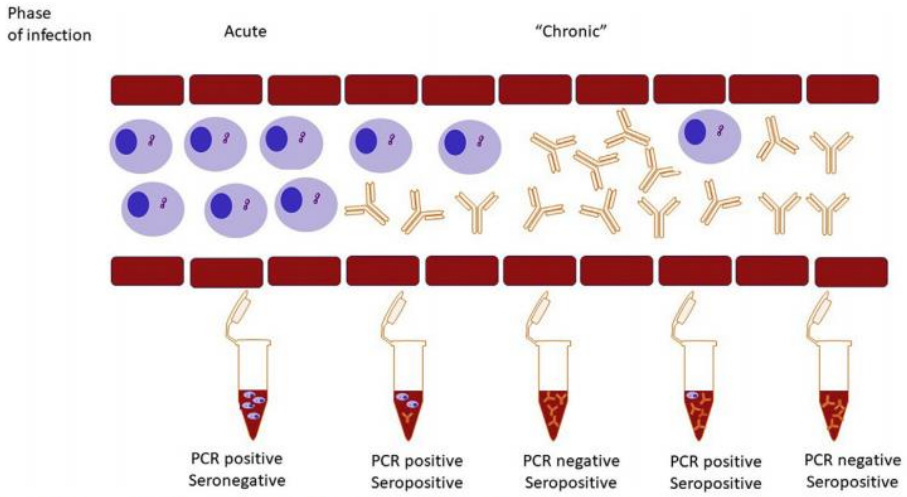


Fig. 1. Theoretical results of PCR and serologic testing for an organism that causes both acute and chronic infection. (*Courtesy of* Linda Kidd, DVM, PhD, Pomona, CA.)

Revisões – estadiamento

Rever recaídas

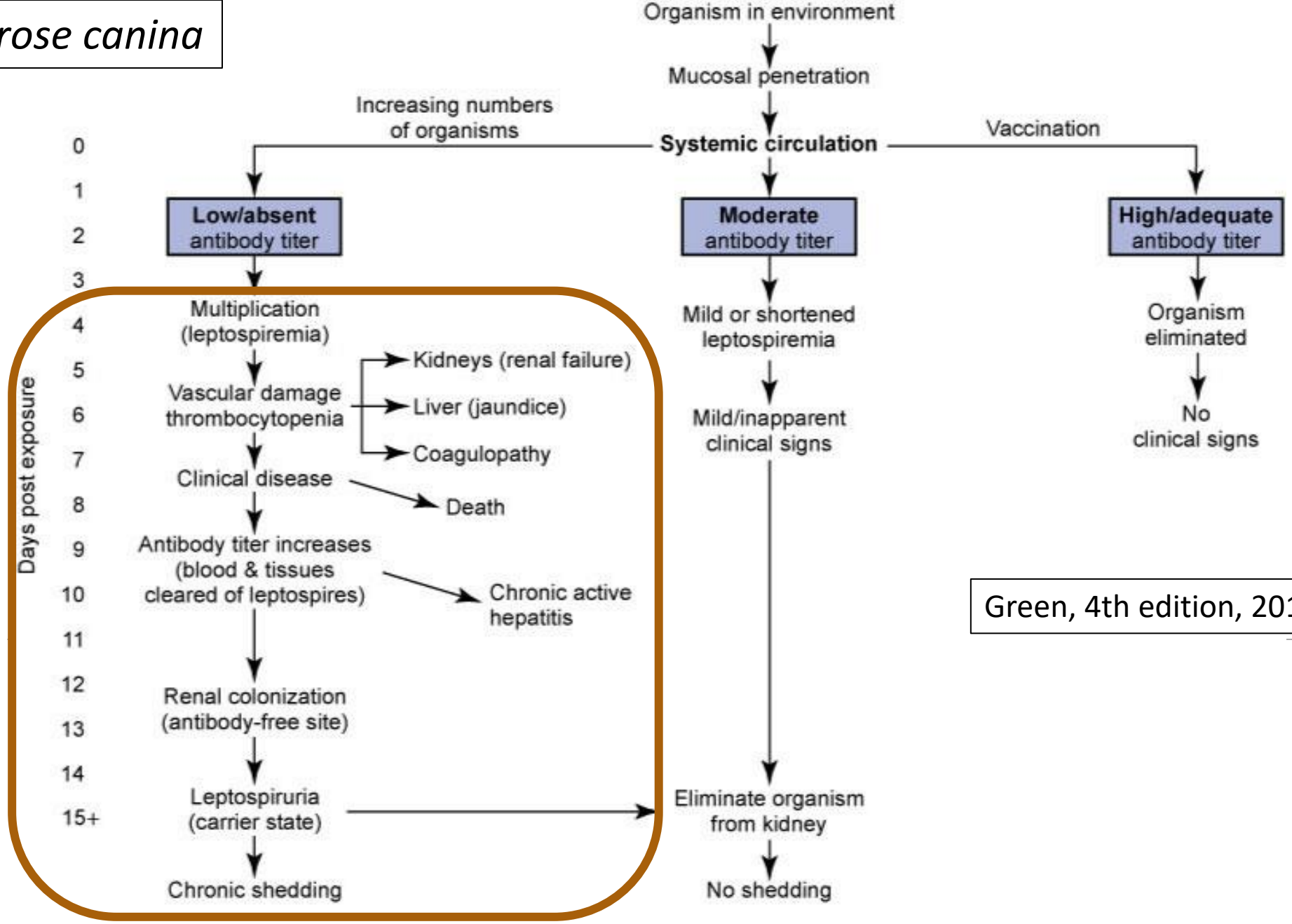
Possibilidade de manutenção da infecção - RECIDIVA

Acompanhamento sorológico quantitativo pode ser orientador

PCR no sangue para controle de parasitemia

Leptospira interrogans

Leptospirose canina



Green, 4th edition, 2012

Fig. 42-2. Pathogenesis of leptospirosis.

Greene: Infectious Diseases of the Dog and Cat, 4th Edition
Copyright © 2012, 2006, 1998, 1990 by Saunders, an imprint of Elsevier Inc.

CASO CLÍNICO

SANTOAGOSTINHO
Hospital Veterinário

[redacted]	Data da Consulta: 29/11/2020
Nome do Animal: JHULLY	Sexo: Femea
Idade: 4 anos e 9 meses	Peso: 5,9 Kg
Raça: S.R.D CANINO MEDIO	Espécie : Caninos
Veterinário Responsáv[redacted]	CRMV/MG 8614
Suspeita Clínica: PANCREATITE	

ANAMNESE - CLÍNICA GERAL

Descrição do proprietário: Animal não está se alimentando a quatro dias. Tutora preparou comida caseira e bateu no liquidificador para dar a ela na seringa. Normlamente quando fica com apetite caprichoso tutora oferece comida e ela come. Mas dessa vez está sendo necessário forçar. Tutora foi pegá-la no colo e ela chorou. Está bem prostrada e tuora acredita que possa ter tido febre esses dias pois estava com o focinho quente. Tomou 2 anos de fenobarbital por orientação de colega e ficou com sequela hepática. Apresentou fezes amolescida em pequeno volume.

Resumo do atendimento: animal com quadro de frebre, inapetência e prostração. No exame clínico apresenta ainda sensibilidade abdominal e ao longo de toda a coluna vertebral.

29/11/2020

ProCyte Dx (29 de Novembro de 2020 14:17)

				11:32
Eritrócito	5,94 M/µL	5.65 - 8.87		7,85 M/µL
HCT	30,5 %	37.3 - 61.7	BAIXO	40,6 %
HGB	10,7 g/dL	13.1 - 20.5	BAIXO	14,0 g/dL
MCV	51,3 fL	61.6 - 73.5	BAIXO	51,7 fL
MCH	18,0 pg	21.2 - 25.9	BAIXO	17,8 pg
MCHC	35,1 g/dL	32.0 - 37.9		34,5 g/dL
RDW	16,5 %	13.6 - 21.7		19,8 %
%RETIC	0,4 %			0,5 %
RETIC	21,4 K/µL	10.0 - 110.0		41,6 K/µL
RET-He	16,3 pg	22.3 - 29.6	BAIXO	19,4 pg
Leucócitos	25,92 K/µL	5.05 - 16.76	ALTO	10,04 K/µL
%NEU	* 73,4 %			72,1 %
%LYM	* 8,3 %			16,1 %
%MONO	* 17,8 %			6,3 %
%EOS	0,5 %			5,4 %
%BASO	0,0 %			0,1 %
NEU	* 19,04 K/µL	2.95 - 11.64	ALTO	7,24 K/µL
BAND	* Suspeita			
LYM	* 2,14 K/µL	1.05 - 5.10		1,62 K/µL
MONO	* 4,62 K/µL	0.16 - 1.12	ALTO	0,63 K/µL
EOS	0,12 K/µL	0.06 - 1.23		0,54 K/µL
BASO	0,00 K/µL	0.00 - 0.10		0,01 K/µL
PLQ	* 39 K/µL	148 - 484	BAIXO	173 K/µL
VPM	15,0 fL	8.7 - 13.2	ALTO	11,3 fL
PDW	--.-- fL	9.1 - 19.4		11,9 fL
PCT	0,06 %	0.14 - 0.46	BAIXO	0,20 %

Exame	Resultados	Intervalo de referência	BAIXO	NORMAL	ALTO

ProCyte Dx (29 de Novembro de 2020 14:17) — 25/06/20 11:32

2. RETIC-HGB baixa: disponibilidade de ferro reduzida (considerar: inflamação, deficiência de ferro, PSS, microcitose relativa à raça)

2. Monocitose: considerar inflamação (se linfopenia, considerar resposta a glicocorticoide)

Catalyst One (29 de Novembro de 2020 14:31) — 25/06/20 11:40

GLU	46 mg/dL	74 - 143	BAIXO	133 mg/dL
CREA	0,2 mg/dL	0.5 - 1.8	BAIXO	0,1 mg/dL
BUN	11 mg/dL	7 - 27		2 mg/dL
BUN/CREA	50			19
PHOS	2,8 mg/dL	2.5 - 6.8		1,9 mg/dL
CA	7,7 mg/dL	7.9 - 12.0	BAIXO	8,1 mg/dL
TP	4,9 g/dL	5.2 - 8.2	BAIXO	5,2 g/dL
ALB	1,9 g/dL	2.3 - 4.0	BAIXO	2,2 g/dL
GLOB	3,1 g/dL	2.5 - 4.5		3,0 g/dL
ALB/GLOB	0,6			0,7
ALT	222 U/L	10 - 125	ALTO	330 U/L
ALKP	711 U/L	23 - 212	ALTO	139 U/L
GGT	0 U/L	0 - 11		0 U/L
TBIL	1,1 mg/dL	0.0 - 0.9	ALTO	< 0,1 mg/dL
CHOL	113 mg/dL	110 - 320		95 mg/dL
Na	144 mmol/L	144 - 160		149 mmol/L
K	3,8 mmol/L	3.5 - 5.8		3,8 mmol/L
Na/K	37			40
Cl	109 mmol/L	109 - 122		119 mmol/L
Osm Calc	281 mmol/kg			292 mmol/kg
Ácidos biliares Pré-prandiais	140,2 µmol/L	0.0 - 14.9	ALTO	

SANTOAGOSTINHO
Hospital Veterinário

29/11/2020

REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE – PCR

LEPTOSPIROSE CANINA

PCRun™

Cat. No: 30CLP104
Lote No: 201003
Validade: 21/12/2021

Animal: Jhully

Exame solicitado: Detecção molecular para Leptospirose Canina

Material enviado: Sangue em tubo com EDTA e urina (coleta por cistocentese)

Resultado:

Sangue total: NEGATIVO
Urina: NEGATIVO

SANTOAGOSTINHO
Hospital Veterinário

29/11/2020

REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE – PCR

PCRun™ QUATTRO

Cat. No: 30QTR102
Lote No: 200729
Validade: 20/10/2021

Animal: Jhully

Exame solicitado: Detecção molecular para hemoparasitoses

Material enviado: Sangue periférico em tubo com EDTA.

Resultado:

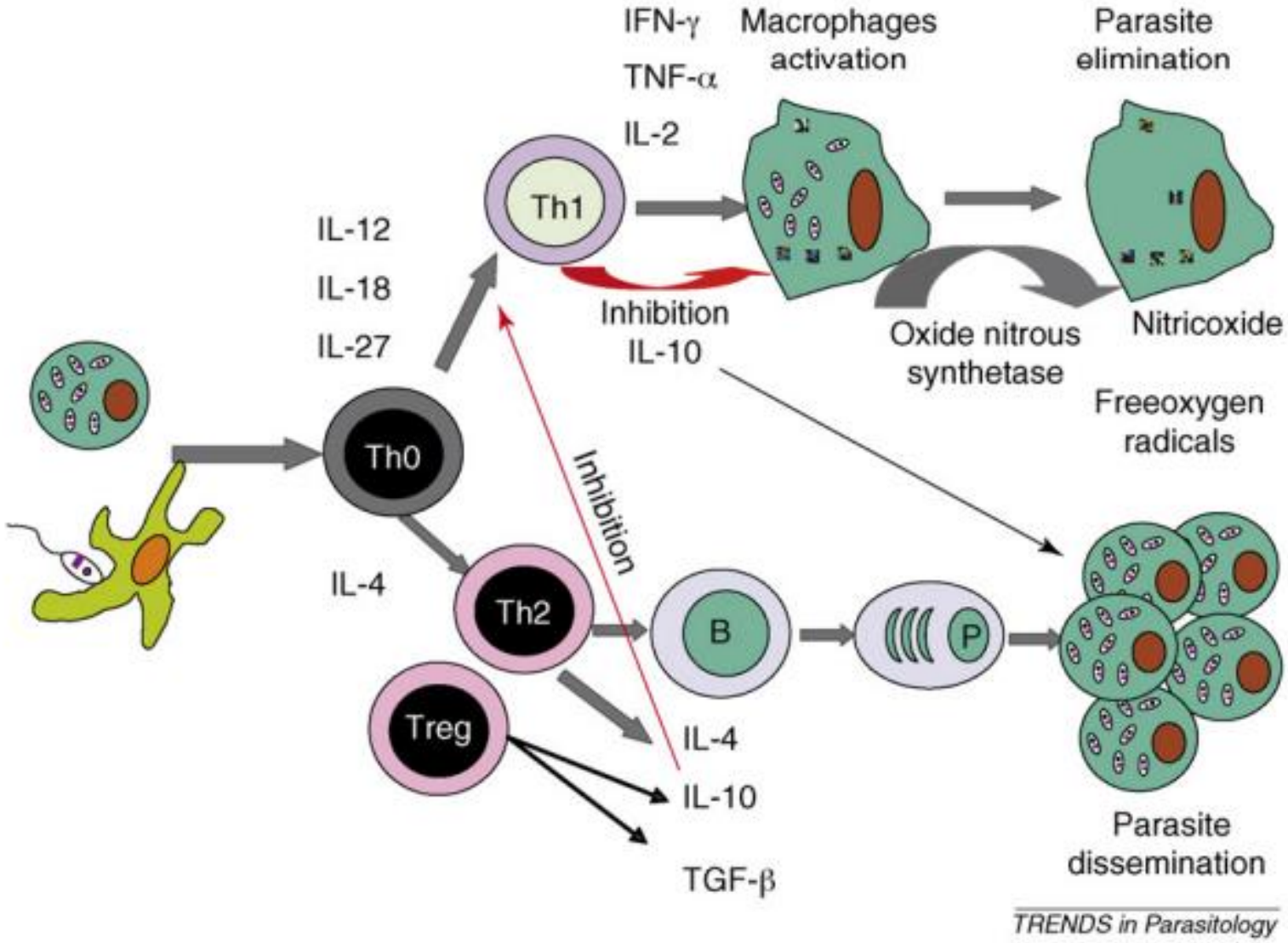
***Erlichia canis*:** NEGATIVO
***Anaplasma platys*:** NEGATIVO
***Babesia canis*:** NEGATIVO
***Babesia gibsoni*:** NEGATIVO

AGENTES PROTOZOÁRIOS

Nome da Bactéria	Ocorrência	Severidade da doença
Babesia vogeli	Comum	Leve a grave
Babesia gibsoni	Comum	Leve a grave
Leishmania infantum	Comum	Leve
Rangelia vittali	Comum	Grave
Trypanosoma sp	Rara?	Moderada a grave
Giardia lamblia (assemblages)	Rara?	Moderada a grave
Hepatozoon canis	Rara?	Moderada a grave

O QUE ACONTECE NUMA INFECÇÃO

- Diferentes protozoários parasitam diferentes células:
  - Dois principais
    - *Babesia sp* – parasitam hemácias
    - *Leishmania sp* – parasitam células do sistema mononuclear fagocitário (SMF)
  - Outros – *Rangelia vitalli, Giardia lamblia, Trypanosoma sp, Hepatozoon canis*


IFN-γ
TNF-α
IL-2
Macrophages activation
Parasite elimination
Th1
IL-12
IL-18
IL-27
Inhibition
IL-10
Oxide nitrous synthetase
Nitricoxide
Freeoxygen radicals
Th0
Inhibition
IL-4
Th2
B
P
Treg
IL-4
IL-10
TGF-β
Parasite dissemination
TRENDS in Parasitology

Babesia sp

Espécies encontradas no Brasil

- *Babesia vogeli*

Available online at www.sciencedirect.com
SCIENCE DIRECT®
ELSEVIER
Veterinary Parasitology 127 (2005) 81–85
veterinary parasitology
www.elsevier.com/locate/vetpar

Short communication

First molecular detection of *Babesia vogeli* in dogs from Brazil

Lygia Maria Friche Passos[a,*], Stefan M. Geiger[b], Múcio Flávio Barbosa Ribeiro[c], Kurt Pfister[b], Monika Zahler-Rinder[b,d]

[a]*Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), C.P. 567, Belo Horizonte 30123-970, Minas Gerais, Brazil*
[b]*Institute for Comparative Tropical Medicine and Parasitology, Ludwig-Maximilians-University Munich, Leopoldstr. 5, D-80802 Munich, Germany*
[c]*Departamento de Parasitologia-ICB, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), C.P. 486, Belo Horizonte 31270-901, Minas Gerais, Brazil*
[d]*National Research Center for Protozoal Diseases, Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine, Obihiro shi, Inada-cho, Hokkaido 080-8555, Japan*

Parasitology Research
https://doi.org/10.1007/s00436-019-06515-3

PROTOZOOLOGY - SHORT COMMUNICATION

Check for updates

Babesiosis caused by *Babesia vogeli* in dogs from Uberlândia State of Minas Gerais, Brazil

Camila Oliveira Silva Barbosa[1] · Jaqueline Rosa Garcia[1] · Natália de Melo Nasser Fava[1] · Douglas Alves Pereira[1] · Maria Júlia Rodrigues da Cunha[2] · Yaarit Nachum-Biala[3] · Márcia Cristina Cury[1] · Gad Baneth[3]

Received: 10 March 2019 / Accepted: 15 October 2019
© Springer-Verlag GmbH Germany, part of Springer Nature 2019

ELSEVIER

Available online at www.sciencedirect.com

ScienceDirect

Veterinary Parasitology 141 (2006) 177–180

veterinary parasitology

www.elsevier.com/locate/vetpar

- *Babesia gibsoni*

Short communication

Babesia gibsoni genotype Asia in dogs from Brazil☆

Silvia M. Trapp [a], Joanne B. Messick [b], Odilon Vidotto [c], Flavio S. Jojima [d], Helio S. Autran de Morais [e,*]

[a] *Departamento de Medicina Veterinária, Universidade do Norte do Paraná, Arapongas, Paraná, Brazil*
[b] *Department of Population Medicine and Diagnostic Sciences, Cornell University, Ithaca, New York 14853, USA*
[c] *Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Universidade Estadual de Londrina, 86.051, Londrina, Paraná, Brazil*
[d] *Departamento de Clínicas Veterinárias, Universidade Estadual de Londrina, 86.051, Londrina, Paraná, Brazil*
[e] *Department of Medical Sciences, University of Wisconsin, 2015 Linden Dr, Madison WI 53706, USA*

Received 29 March 2006; received in revised form 19 April 2006; accepted 28 April 2006

Babesia gibsoni was first recognized in India in 1910. Analysis of 18S rRNA has shown that there are at least three distinct isolates that are morphologically identical. Although organisms similar to *B. gibsoni* have been identified in peripheral blood smears from one dog in Brazil, this isolate has not been molecularly characterized. Accordingly, we obtained blood samples from 16 dogs with intraerythrocytic inclusion bodies. DNA was extracted and amplified with primers that detect a segment of the 18S rRNA gene of the *Babesia* genus. Amplicons of the expected size for *B. gibsoni* were observed in 4 of the 16 dogs. The sequence of the 18S rRNA yield a 460 base pair segment that had a 99% homology with the *B. gibsoni* genotype Asia 1. Our findings suggest that the small piroplasm that naturally infects dogs in Brazil is *B. gibsoni* genotype Asia.

© 2006 Elsevier B.V. All rights reserved.

- *Babesia rossi*

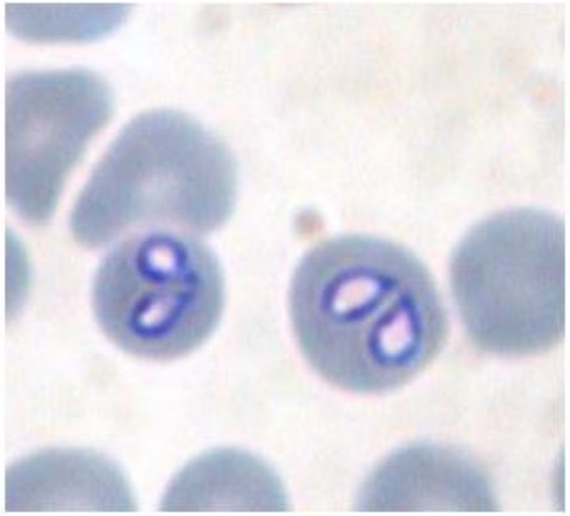


Figura 1. *Babesia* spp. em eritrócito de cão (aumento de 100X-coloração panótico).

Vasconcelos, Marta Freitas
Estudo da infecção por *Babesia* spp. em cães da área periurbana de Brasília, Distrito Federal / Marta Freitas Vasconcelos orientação de Giane Regina Paludo– Brasília, 2010. 85p.: il.
Dissertação de Mestrado (M) – Universidade de Brasília/Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 2010.
1. *Babesia spp.* 2. Cães. 3. Hematologia. 4. Bioquímica 5. PCR. 6. Sub-espécies I. Vasconcelos, M.F. II. Estudo da infecção por Babesia sp. em cães da área periurbana de Brasília, Distrito Federal.

CDD ou CDU
Agris / FAO

Tabela 14. Número total e porcentagem de animais positivos para *Babesia* canis vogeli e *Babesia canis rossi*, nas duas localidades (Fercal e Lago Oeste).

Sub-espécie	Animais positivos/Total de animais estudados	%
Babesia canis vogeli	38/43	88,37
Babesia canis rossi	5/43	11,63

Veterinary Parasitology 254 (2018) 58–63

Contents lists available at ScienceDirect

Veterinary Parasitology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/vetpar

Antiprotozoal treatment of canine babesiosis

Gad Baneth*

Koret School of Veterinary Medicine, Hebrew University of Jerusalem. P.O. Box 12, Rehovot 76100, Israel

B. gibsoni

Veterinary Parasitology 186 (2012) 159–164

Contents lists available at SciVerse ScienceDirect

Veterinary Parasitology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/vetpar

The therapeutic efficacy of two antibabesial strategies against *Babesia gibsoni*

Emerald Cheng-Yi Lin[a,c], Ling-Ling Chueh[b], Chao-Nan Lin[b,d], Li-En Hsieh[b], Bi-Ling Su[a,c,*]

- O dipropionato de imidocarb e o aceturato de diminazeno são considerados ineficazes para o tratamento de infecções por *B. gibsoni* e o tratamento com a combinação de atovaquona e azitromicina é o tratamento atual de escolha para essa infecção, embora a supressão da replicação do parasita por essa combinação possa não estar associada com depuração do parasita (Jefferies et al., 2007b; Lin et al., 2012, Kirk et al., 2017)

Journal of Veterinary Internal Medicine

ACVIM

Open Access

Standard Article

J Vet Intern Med 2017;31:1108–1112

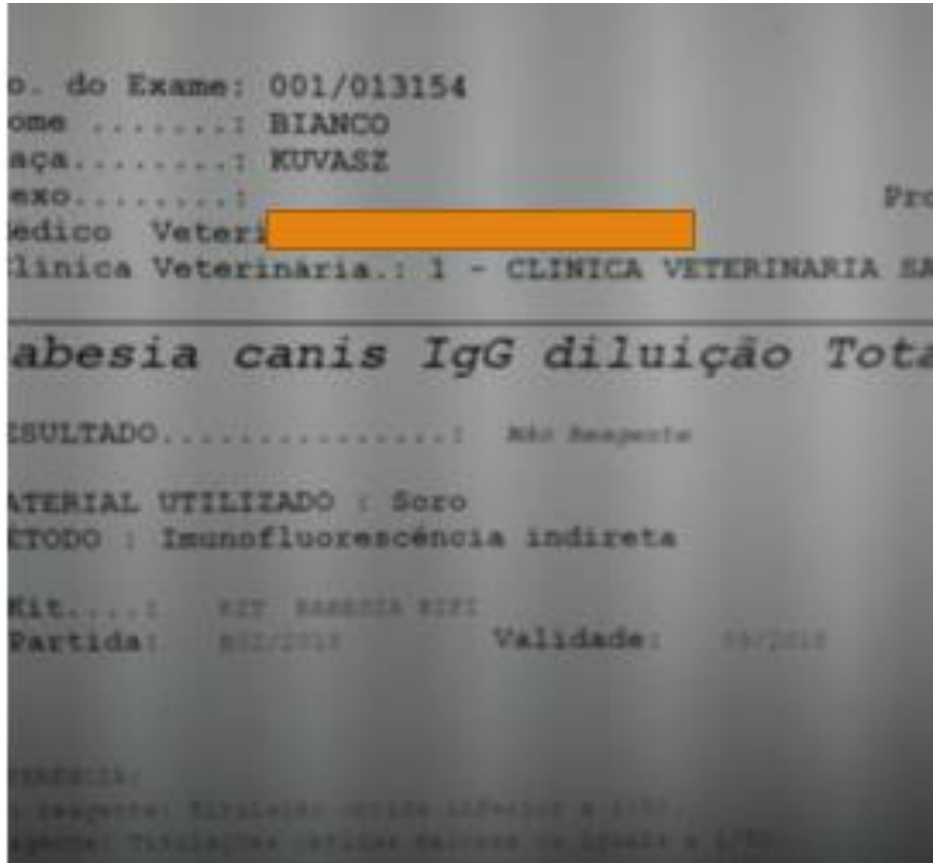
Efficacy of Azithromycin and Compounded Atovaquone for Treatment of *Babesia gibsoni* in Dogs

S.K. Kirk, J.K. Levy, and P.C. Crawford

Conclusões

- Os cães tratados devem ser acompanhados e monitorados quanto à persistência da infecção e parasitemia por exame de sangue e PCR. Além disso, novos e adicionais medicamentos, e os efeitos sinérgicos das combinações atuais de drogas contra infecção por *Babesia* devem ser estudados para encontrar tratamentos eficazes para babesiose canina

Exame	Resultados	Intervalo de referência	BAIXO	NORMAL	ALT
ProCyte Dx (13 de Setembro de 2018 13:52)					
Eritrócito	5,34 M/µL	5.65 - 8.87	BAIXO		
HCT	13,8 %	37.3 - 61.7	BAIXO		
HGB	12,6 g/dL	13.1 - 20.5	BAIXO		
MCV	63,3 fL	61.6 - 73.5			
MCH	23,6 pg	21.2 - 25.9			
MCHC	37,3 g/dL	32.0 - 37.9			
RDW	16,4 %	13.6 - 21.7			
%RETIC	0,2 %				
RETIC	11,7 K/µL	10.0 - 110.0			
Leucócitos	21,56 K/µL	5.05 - 16.76	ALTO		
%NEU	83,1 %				



o. do Exame: 001/013154
ome .....: BIANCO
aça.....: KUVASZ
exo.....:
edico Veteri [redacted]
linica Veterinaria.: 1 - CLINICA VETERINARIA SA

abesia canis IgG diluição Tota

SULTADO.....: Não Reagente

ATERIAL UTILIZADO : Soro
TODO : Imunofluorescência indireta

Kit.....: KIT BABESIA BIFI
Partida: Validade:

o. do Exame: 001/013154
ome .....: BIANCO
aça.....: KUVASZ
exo.....:
lédi [redacted]
linica Veterinaria.: 1 - CLINICA VETERINARIA SA

abesia canis IgG diluição Tota

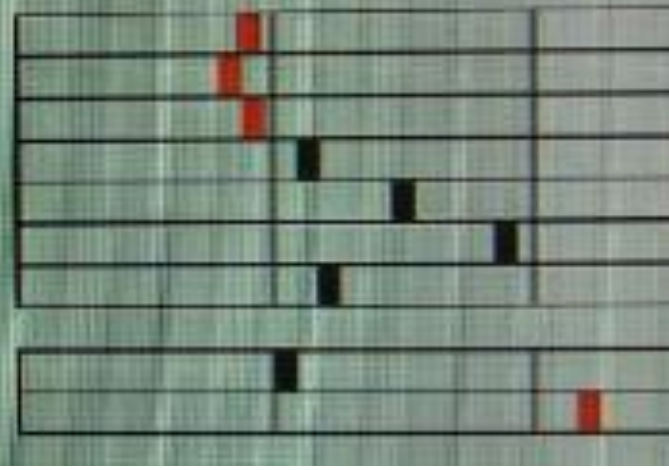
ESULTADO.....: Não Reagente

ATERIAL UTILIZADO : Soro
ETODO : Imunofluorescência indireta

Kit....: KIT BABESIA BIFI
Partida: B02/2018 Validade: 09/2018

ERÊNCIA:
reagente: Titulação obtida inferior a 1/32.
agente: Titulações obtidas maiores ou iguais a 1/32.

Exame	Resultados	Intervalo de referência	
ProCyte Dx (13 de Setembro de 2018 13:52)			
Eritrócito	5,34 M/µL	5.65 - 8.87	BAIXO
HCT	33,8 %	37.3 - 61.7	BAIXO
HGB	12,6 g/dL	13.1 - 20.5	BAIXO
MCV	63,3 fL	61.6 - 73.5	
MCH	23,6 pg	21.2 - 25.9	
MCHC	37,3 g/dL	32.0 - 37.9	
RDW	16,4 %	13.6 - 21.7	
%RETIC	0,2 %		
RETIC	11,7 K/µL	10.0 - 110.0	
Leucócitos	21.56 K/µL	5.05 - 16.76	ALTO
%NEU	83,1 %		



REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE – PCR

PCRun™ QUATTRO

Cat. No: 03QTR100
Lote No: 180714

Dra. Jennifer Ottino
CRMV: 14703

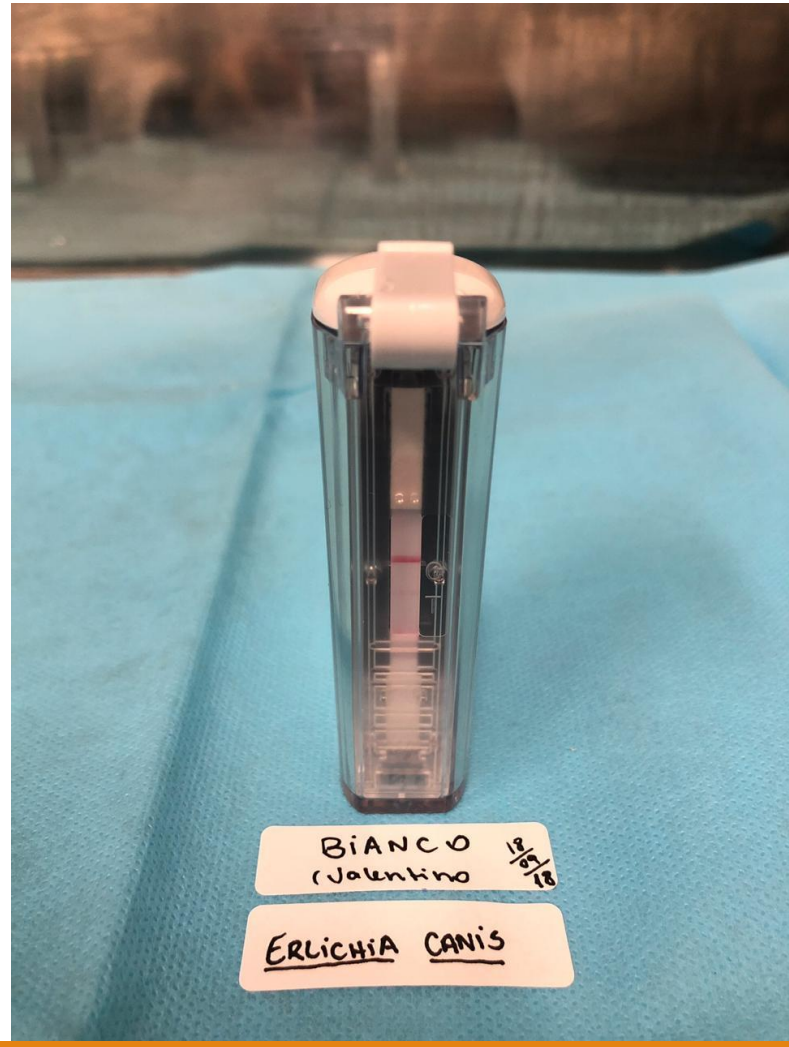
Animal: Bianco

Exame solicitado: Detecção molecular para hemoparasitoses

Material enviado: Sangue (Tubo com EDTA).

Resultado:

***Anaplasma platys*:** NEGATIVO
***Erlichia canis*:** POSITIVO
***Babesia canis*:** NEGATIVO
***Babesia gibsoni*:** POSITIVO



CASO CLÍNICO

Nome do Animal: SHEDY	Sexo: Macho
Idade: 6 anos e 1 meses	Peso: 10,6 Kg
Raça: COCKER SPANIEL AMERICANO	Espécie : Caninos
[redacted]	CRMV/MG 18397
Suspeita Clínica: COLETA DE EXAMES	

RETORNO

[redacted] tutor relata que que o animal teve cistite, inflação no fígado e vesícula com um `barro`informado por ele. Tomou flagyl 15 dias, tomando same, omeprazol, ursacol. Acompanhado pela Dra. [redacted]

Animal veio para coleta de exames, em que o orçamento foi autorizado ontem.

Após a coleta o animal será liberado.

Relata que hoje o animal esta bem, comendo com apetite seletivo ração hepática da equilíbrio, realata que urina estava marrom e agora esta penas concentrada, fezes ontem estava pastosa e hoje estava mais consistente.

Exame	Resultados	Intervalo de referência	BAIXO	NORMAL	ALTO

ProCyte Dx (18 de Setembro de 2018 14:06)

Eritrócito	5,52 M/µL	5.65 - 8.87	BAIXO
HCT	39,3 %	37.3 - 61.7	
HGB	13,0 g/dL	13.1 - 20.5	BAIXO
MCV	71,2 fL	61.6 - 73.5	
MCH	23,6 pg	21.2 - 25.9	
MCHC	33,1 g/dL	32.0 - 37.9	
RDW	14,8 %	13.6 - 21.7	
%RETIC	0,6 %		
RETIC	34,8 K/µL	10.0 - 110.0	
RET-He	25,0 pg	22.3 - 29.6	
Leucócitos	42,87 K/µL	5.05 - 16.76	ALTO
%NEU	* 76,2 %		
%LYM	* 13,0 %		
%MONO	* 10,2 %		
%EOS	0,5 %		
%BASO	0,1 %		
NEU	* 32,67 K/µL	2.95 - 11.64	ALTO
BAND	* Suspeita		
LYM	* 5,58 K/µL	1.05 - 5.10	ALTO
MONO	* 4,37 K/µL	0.16 - 1.12	ALTO
EOS	0,22 K/µL	0.06 - 1.23	
BASO	0,03 K/µL	0.00 - 0.10	
PLQ	401 K/µL	148 - 484	
VPM	10,7 fL	8.7 - 13.2	
PDW	13,3 fL	9.1 - 19.4	
PCT	0,43 %	0.14 - 0.46	

Suspeita de neutrófilos em bastonetes

Nome do paciente: Shedy
Espécie: Canino
Raça: Cocker Spaniel

Sexo: Macho
Peso: 10,60 kg
Idade: 6 Anos
Doutor: Vitor Ribeiro

Santo Agostinho Hospital Veterinário
Av. Amazonas, 2218 - Belo Horizonte - MG
31 3337-2026

Exame	Resultados	Intervalo de referência	BAIXO	NORMAL	ALTO

Catalyst One (18 de Setembro de 2018 11:35)

GLU	103 mg/dL	74 - 143	
SDMA	11 µg/dL	0 - 14	
CREA	0,5 mg/dL	0.5 - 1.8	
BUN	5 mg/dL	7 - 27	BAIXO
BUN/CREA	11		
PHOS	5,3 mg/dL	2.5 - 6.8	
CA	9,4 mg/dL	7.9 - 12.0	
TP	6,8 g/dL	5.2 - 8.2	
ALB	2,4 g/dL	2.3 - 4.0	
GLOB	4,4 g/dL	2.5 - 4.5	
ALB/GLOB	0,6		
ALT	919 U/L	10 - 125	ALTO
ALKP	4746 U/L	23 - 212	ALTO
GGT	178 U/L	0 - 11	ALTO
TBIL	0,9 mg/dL	0.0 - 0.9	
CHOL	505 mg/dL	110 - 320	ALTO
UPRO	148 mg/dL		
UCRE	142 mg/dL		
UPC	1,04		

REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE - PCR

Dr. Jennifer Ottino
CRMV: 14703

PCRun™

Animal: Shedy

Exame solicitado: DETECÇÃO MOLECULAR PARA LEPTOSPIROSE CANINA.

Material enviado: Sangue total em tudo com EDTA.

Resultado:

Negativo

Exame solicitado: DETECÇÃO MOLECULAR PARA LEPTOSPIROSE CANINA.

Material enviado: Urina (coleta por cistocentese).

PCRun™

Resultado

Negativo

SANTOAGOSTINHO
Hospital Veterinário

REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE – PCR

PCRun™ QUATTRO

Cat. No: 03QTR100
Lote No: 180714

Dr. Pedro Paulo de Abreu Teles
CRMV: 14021

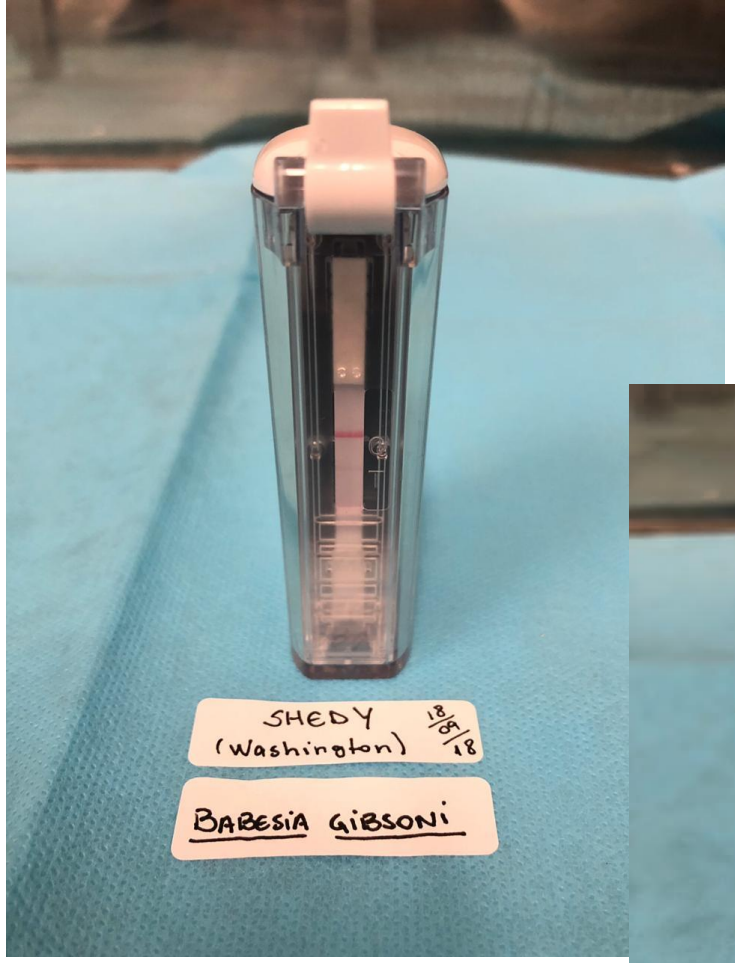
Animal: Shedy

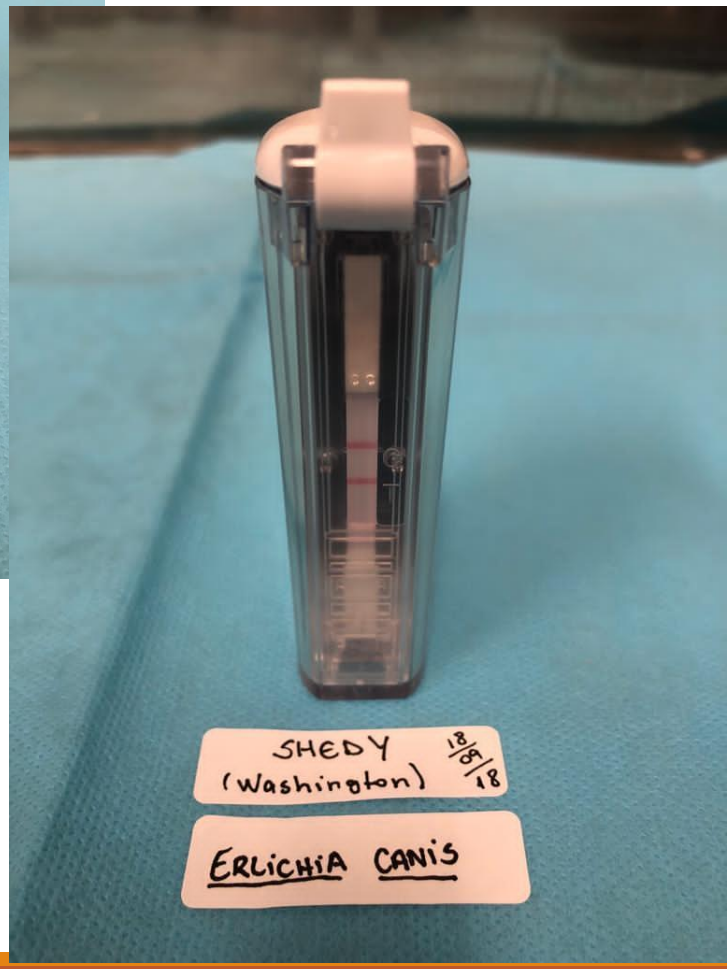
Exame solicitado: Detecção molecular para hemoparasitoses

Material enviado: Sangue (Tubo com EDTA).

Resultado:

***Anaplasma platys*:** NEGATIVO
***Erlichia canis*:** POSITIVO
***Babesia canis*:** NEGATIVO
***Babesia gibsoni*:** POSITIVO





CASO CLÍNICO

SANTOAGOSTINHO
Hospital Veterinário

Número: 109813	Data da Consulta: 27/10/2020
[redacted]	
Nome do Animal: FERDINANDO	Sexo: Macho
Idade: 0 anos e 4 meses	Peso: 6,6 Kg
Raça: S.R.D CANINO PEQUENO	Espécie : Caninos
Veterinário Responsável: LUCIENE RIBEIRO BOTH	CRMV/MG 15177
Suspeita Clínica: Gastroenterite	

Ficha de Retorno

Animal está em lar temporáriop há 15 dias. Antes morova na rua. Foi realizado duas doses de vermifugo. A ultima dose dia 25/10/2020. Estava bem até então mas mantendo fezes mais pastosas. Ontem iniciou com fezes líquidas e diarreia com sangue hoje pela manhã. Mantendo tbm guadro de intensa prostarção e vomitos. Está desidratado.

SANTOAGOSTINHO
Hospital Veterinário

LABORATÓRIO DE PATOLOGIA CLÍNICA VETERINÁRIA

INFORMAÇÕES DO PACIENTE

- **Nome: FERNDINANDO Peso: 6,60kg** **Espécie: CANINO** **Raça: S.R.D.** **Idade: 03 meses**
- **Tutor: MARCUS GUALBERTO**

Data da coleta do exame: 27/10/2020
Data do resultado do exame: 27/10/2020

PESQUISA DE PARVOVIROSE

KIT ALERE

LOTE: 1101D012

VALIDADE:22/04/2021

MATERIAL: Swab retal

RESULTADO:

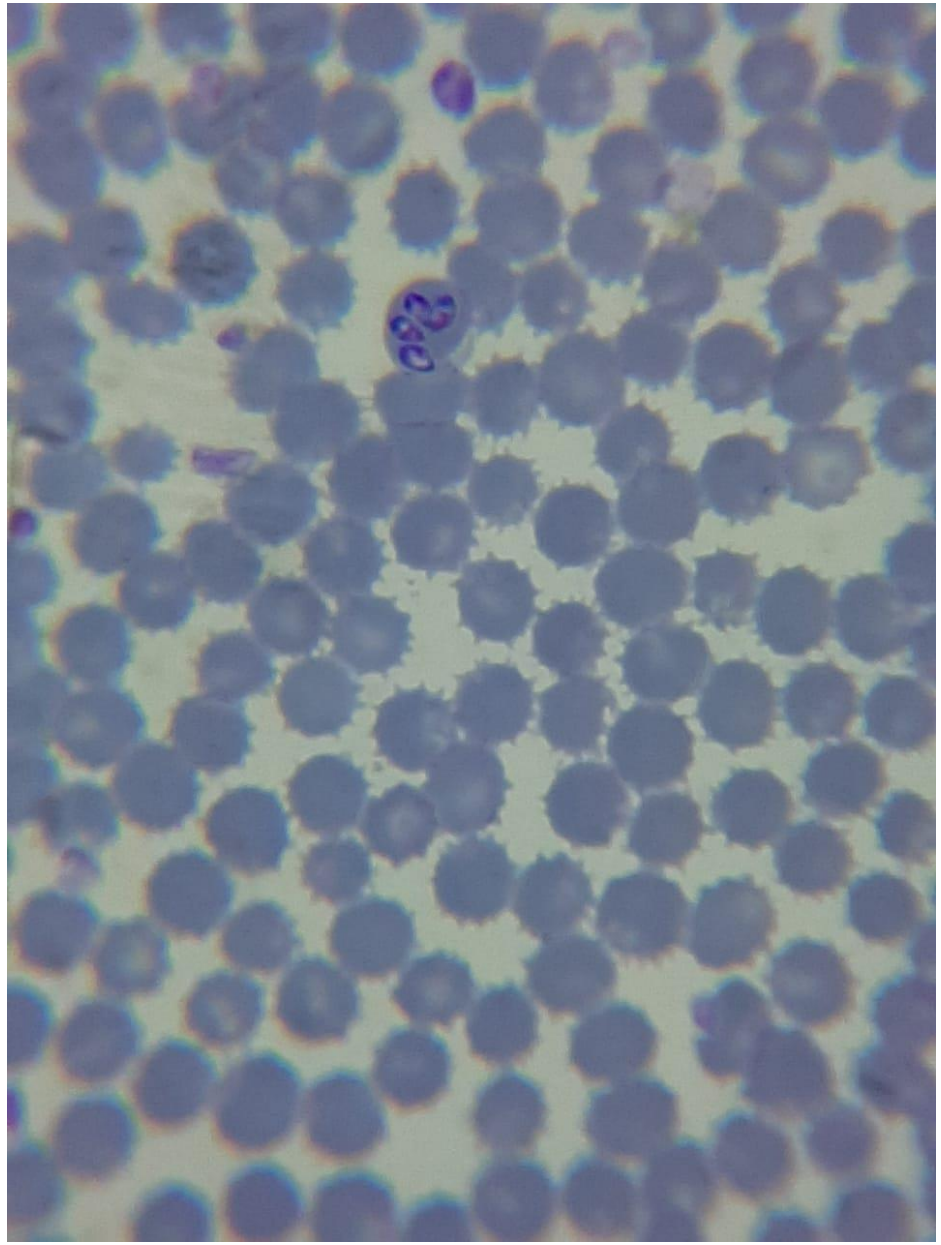
POSITIVO

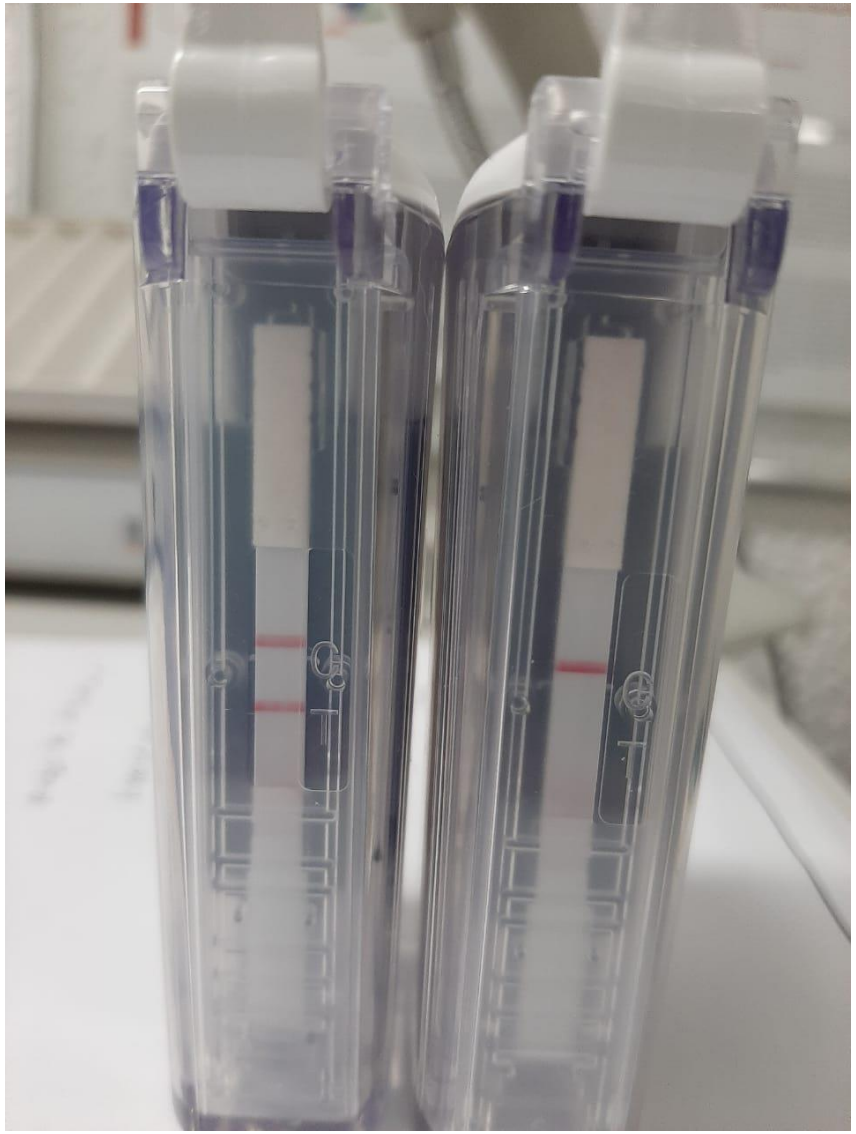
Nome do paciente: Ferdinando
Espécie: Canino
Raça: Mixed

Peso: 6,60 Kgs
Idade: 3 Anos
Doutor: Luciene Ribeiro Both

Veterinário
Av. Amazonas, 2218 - Belo Horizonte - MG
31 3337-2026

Exame	Resultados	Intervalo de referência	BAIXO	NORMAL	ALTO
ProCyte Dx (27 de Outubro de 2020 11:16)					
Eritrócito	4,93 M/µL	5.65 - 8.87	BAIXO		
HCT	32,4 %	37.3 - 61.7	BAIXO		
HGB	10,3 g/dL	13.1 - 20.5	BAIXO		
MCV	65,7 fL	61.6 - 73.5			
MCH	20,9 pg	21.2 - 25.9	BAIXO		
MCHC	31,8 g/dL	32.0 - 37.9	BAIXO		
RDW	16,4 %	13.6 - 21.7			
%RETIC	0,7 %				
RETIC	34,0 K/µL	10.0 - 110.0			
RET-He	19,5 pg	22.3 - 29.6	BAIXO		
Leucócitos	2,71 K/µL	5.05 - 16.76	BAIXO		
%NEU	* 24,3 %				
%LYM	* 58,7 %				
%MONO	* 14,4 %				
%EOS	2,6 %				
%BASO	0,0 %				
NEU	* 0,66 K/µL	2.95 - 11.64	BAIXO		
BAND	* Suspeita				
LYM	* 1,59 K/µL	1.05 - 5.10			
MONO	* 0,39 K/µL	0.16 - 1.12			
EOS	0,07 K/µL	0.06 - 1.23			
BASO	0,00 K/µL	0.00 - 0.10			
PLQ	* 167 K/µL	148 - 484			
VPM	14,6 fL	8.7 - 13.2	ALTO		
PDW	--.-- fL	9.1 - 19.4			
PCT	0,24 %	0.14 - 0.46			





Babesia vogeli // Babesia gibsoni

Leishmania infantum

JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, Feb. 2001, p. 560–563 Vol. 39, No. 2
0095-1137/01/$04.00+0 DOI: 10.1128/JCM.39.2.560–563.2001
Copyright © 2001, American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

Prevalence of *Leishmania infantum* Infection in Dogs Living in an Area of Canine Leishmaniasis Endemicity Using PCR on Several Tissues and Serology

LAIA SOLANO-GALLEGO,[1]* PERE MORELL,[2] MARGARITA ARBOIX,[1] JORDI ALBEROLA,[1] AND LLUIS FERRER[3]

Departament de Farmacologia i Terapèutica[1] and Departament de Medicina i Cirugia Animals,[3] Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra, Barcelona, and Centre Sanitari Municipal, Palma de Mallorca,[2] Spain

TABLE 1. Clinical status, serology, and PCR results, including the three tissues sampled for each dog, in a canine population living in an area of Mallorca where leishmaniasis is endemic

Group no.	Serology ELISA result	Presence of *Leishmania* DNA			Clinical status		
		Bone marrow	Conjunctiva	Skin	No. of symptomatic dogs	No. of asymptomatic dogs	Total no. of dogs
1	+	+	+	+	9	4	13
2	+	−	−	+	2	6	8
3	+	−	−	−	0	4	4
4	+	+	−	−	0	1	1
5	−	−	+	+	0	10	10
6	−	−	−	+	2	17	19
7	−	−	+	−	0	9	9
8	−	+	−	+	0	1	1
9	−	+	−	−	0	2	2
10	−	−	−	−	0	33	33

JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, Feb. 2001, p. 560–563 Vol. 39, No. 2
0095-1137/01/$04.00+0 DOI: 10.1128/JCM.39.2.560–563.2001
Copyright © 2001, American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

Prevalence of *Leishmania infantum* Infection in Dogs Living in an Area of Canine Leishmaniasis Endemicity Using PCR on Several Tissues and Serology

LAIA SOLANO-GALLEGO,[1]* PERE MORELL,[2] MARGARITA ARBOIX,[1] JORDI ALBEROLA,[1] AND LLUIS FERRER[3]

Departament de Farmacologia i Terapèutica[1] and Departament de Medicina i Cirugia Animals,[3] Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra, Barcelona, and Centre Sanitari Municipal, Palma de Mallorca,[2] Spain

- Doença clínica – 13%
- Soropositivos – 26%
- *PCR positivos – 63%*

- 67% - somatório de positivos por sorologia ou por PCR

IMPORTANTE!

- O estudo mostra que

JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, Feb. 2001, p. 560–563 Vol. 39, No. 2
0095-1137/01/$04.00+0 DOI: 10.1128/JCM.39.2.560–563.2001
Copyright © 2001, American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

Prevalence of *Leishmania infantum* Infection in Dogs Living in an Area of Canine Leishmaniasis Endemicity Using PCR on Several Tissues and Serology

LAIA SOLANO-GALLEGO,[1]* PERE MORELL,[2] MARGARITA ARBOIX,[1] JORDI ALBEROLA,[1] AND LLUIS FERRER[3]

Departament de Farmacologia i Terapèutica[1] and Departament de Medicina i Cirugia Animals,[3] Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra, Barcelona, and Centre Sanitari Municipal, Palma de Mallorca,[2] Spain

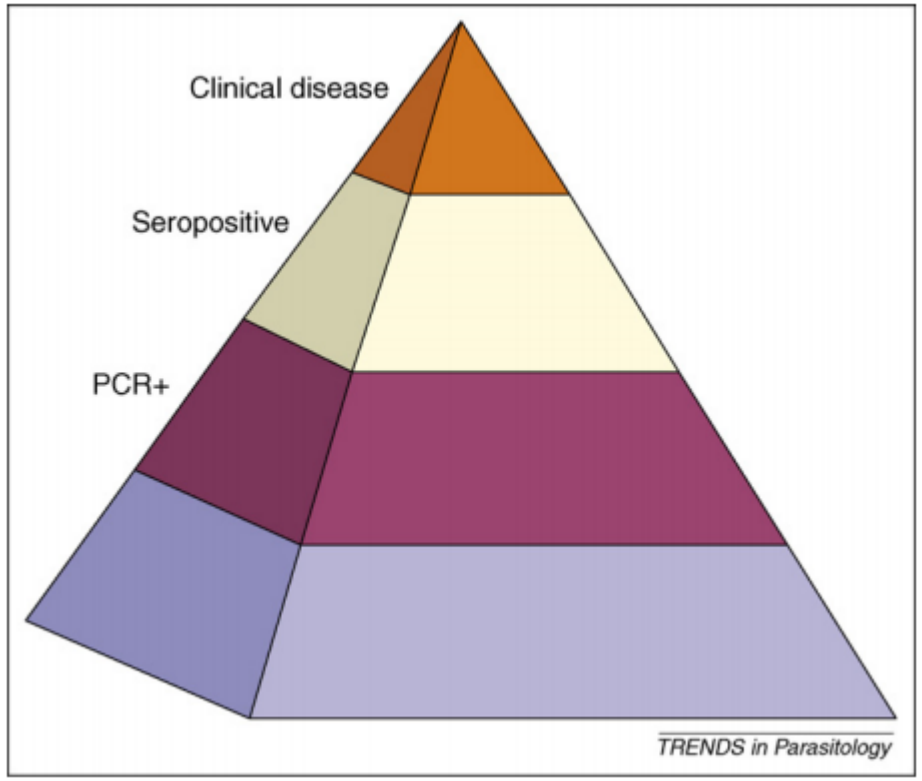
  - a prevalência da infecção por *Leishmania* em uma área enzoóticas é maior do que assumido
  - a principal reserva de tecido do parasita em cães foi a pele
  - Este resultado demonstra a importância de exames sensíveis que detectem a presença do agente etiológico e da proteção dos animais de picadas do vetor

Review

Canine leishmaniosis – new concepts and insights on an expanding zoonosis: part one

Gad Baneth[1*], Alexander F. Koutinas[2*], Laia Solano-Gallego[3*], Patrick Bourdeau[4*] and Lluis Ferrer[5*]

- Distribuição da LCan em foco endêmico:
  - O pico da pirâmide **(laranja)** – cães que apresentam sinais clínicos da doença.
  - Cães soropositivos sem sinais de doença **(bege)**.
  - Cães na doença clínica, soropositivos assintomáticos e sorononegativos seriam PCR+ **(roxo)**
  - Quarto subconjunto inclui cães que são soronegativos e não abrigam parasitas **(azul).**



INFECÇÃO POR *L. infantum*

- Um estudo usando 8 diferentes testes sorológicos em uma coorte clinicamente suspeita para LCan teve 50% das informações sorológicas inconclusivas – com uma mistura de dados soropositivos e soronegativos

www.nature.com/scientificreports

Challenges in the serological evaluation of dogs clinically suspect for canine leishmaniasis

Nuno Santarém[1,2], Susana Sousa[1,2,6], Célia G. Amorim[1,2,7], Nuno Lima de Carvalho[3], Hugo Lima de Carvalho[3], Óscar Felgueiras[4], Margarida Brito[4*] & Anabela Cordeiro da Silva[1,2,5*]

SCIENTIFIC REPORTS | (2020) 10:3099 | https://doi.org/10.1038/s41598-020-60067-6

Veterinary Parasitology 274 (2019) 108920

Contents lists available at ScienceDirect

Veterinary Parasitology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/vetpar

Research paper

Performance of different serological tests in the diagnosis of natural infection by *Leishmania infantum* in dogs

Vitor Márcio Ribeiro[a,b,c,*], Julia Bahia Miranda[c], Andreza Pain Marcelino[d], Hélida Monteiro de Andrade[e], Ilka Afonso Reis[f], Mariana Santos Cardoso[e], Célia Maria Ferreira Gontijo[c,1], Gustavo Fontes Paz[c,1,**]

Os Testes Rápidos (TRs) apresentam maior sensibilidade em amostras de soro com títulos superiores de anticorpos obtidos na RIFI

Os TRs exibiram falsos negativos em amostras com baixos títulos de anticorpos

O uso de TRs para o diagnóstico de LV em cães com baixos títulos de anticorpos, como os assintomáticos, deve ser cuidadosamente avaliado – critério para vacinação

RIFI com maior número de falso positivos

ORIGINAL ARTICLE Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol. 114: e180452, 2019 1|9

Improving the reference standard for the diagnosis of canine visceral leishmaniasis: a challenge for current and future tests

Ana Izabel Passarella Teixeira[1], Debora Marcolino Silva[1], Tamires Vital[1,2], Nadjar Nitz[2], Bruna Caroline de Carvalho[1], Mariana Hecht[2], Diana Oliveira[3], Edward Oliveira[3], Ana Rabello[3], Gustavo Adolfo Sierra Romero[1]/+

OBJETIVO:

- Este estudo teve como objetivo avaliar a acurácia
  - TR-DPP) (Biomanguinhos®)
  - EIE Leishmaniose-Visceral-Canina-Biomanguinhos (EIE-LVC) (Biomanguinhos®)
  - Ensaio imunoenzimático (ELISA) rK39 (in-house)
  - Teste de aglutinação direta (DAT-Canis)
  - Padrão de referência compreendendo parasitológico e técnicas moleculares.

ORIGINAL ARTICLE Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol. 114: e180452, 2019 1|9

Improving the reference standard for the diagnosis of canine visceral leishmaniasis: a challenge for current and future tests

Ana Izabel Passarella Teixeira[1], Debora Marcolino Silva[1], Tamires Vital[1,2], Nadjar Nitz[2], Bruna Caroline de Carvalho[1], Mariana Hecht[2], Diana Oliveira[3], Edward Oliveira[3], Ana Rabello[3], Gustavo Adolfo Sierra Romero[1]/+

123 cães predominantemente assintomáticos

- Residentes em uma área enzoóticas de LVC

CENTO E VINTE E TRES CÃES – 54 NEGATIVOS / 69 POSITIVOS		
TESTE	***SENSIBILIDADE % IC 95%***	***ESPECIFICIDADE % IC 95%***
TR-DPP	21,74	92,59
EIE-LVC	11,59	90,74
ELISA Rk39	37,68	83,33
Dat-Canis	18,84	96,3

ORIGINAL ARTICLE *Mem Inst Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, Vol. *114*: e180452, 2019 1|9

Improving the reference standard for the diagnosis of canine visceral leishmaniasis: a challenge for current and future tests

Ana Izabel Passarella Teixeira[1], Debora Marcolino Silva[1], Tamires Vital[1,2], Nadjar Nitz[2], Bruna Caroline de Carvalho[1], Mariana Hecht[2], Diana Oliveira[3], Edward Oliveira[3], Ana Rabello[3], Gustavo Adolfo Sierra Romero[1]/+

CONCLUSÃO

- Necessidade de melhoria dos testes em sensibilidade e especificidade em cães assintomáticos

Cite this article: de Carvalho FLN *et al* (2018). Canine visceral leishmaniasis diagnosis: a comparative performance of serological and molecular tests in symptomatic and asymptomatic dogs. *Epidemiology and Infection* **146**, 571–576. https://doi.org/10.1017/S0950268818000225

Epidemiology and Infection

cambridge.org/hyg

Canine visceral leishmaniasis diagnosis: a comparative performance of serological and molecular tests in symptomatic and asymptomatic dogs

Flávio Luiz Nunes de Carvalho[1,*], Emeline de Oliveira Riboldi[2,*], Graziele Lima Bello[1], Raquel Rocha Ramos[3], Regina Bones Barcellos[4], Mirela Gehlen[1], Maria Laura Halon[4], Pedro Roosevelt Torres Romão[5,6], Eliane Dallegrave[2,5,†] and Maria Lucia Rosa Rossetti[1,4]

- O diagnóstico da LV ainda é um desafio devido à falta de um protocolo sensível, principalmente em diferentes cenários de prevalência
- Este estudo demonstrou que a PCR em tempo real identificou a presença de DNA de *Leishmania* em cães assintomáticos que tiveram resultado negativo em testes sorológicos recomendados pelo protocolo oficial brasileiro para CVL
- Levando isso em consideração, nossos resultados reforçam que o método molecular é fundamental para a confirmação do diagnóstico de LVC principalmente em animais assintomáticos de regiões não endêmicas

CASO CLÍNICO

SANTOAGOSTINHO
Hospital Veterinário

Número: 064271	Data da Consulta: 25/02/2014
Proprietário: WASHINGTON FRANCISCO DE OLIVEIRA	
Nome do Animal: KALVIN (SONIA SANTIAGO)	Sexo: Macho
Idade: 5 anos e 11 meses	Peso: 11,5 Kg
Raça: COCKER SPANIEL AMERICANO	Espécie : Caninos
Veterinário Responsável: Vitor Márcio Ribeiro	CRMV/MG 1883
Suspeita Clínica: leishmaniose	

ANAMNESE - CLÍNICA GERAL

Descrição do proprietário: ANIMAL FOI PARA EXAME EM INICIO DE FEVEREIRO COM A DRA. CARMEN EM FUNÇÃO DE EMAGRECIMENTO E DIFICULDADE DE URINAR E DEFECAR. NESSE ATENDIMENTO FORAM FEITO EXAMES GERIAS E DE LV. A URINA REVELOU CISTITE E TRATAMENTO COM CIPROFLOXACINO, MAS NAO TEVE RESULTADO DE MELHORA. HEMOGRAMA NORMAL. TESTE SOROLOGICO DE EHRLICHIA CANIS NEGATIVO, HORMONIOS TIREOIDE COM T4 TOTAL LIGEIRAMENTE DIMINUIDOS, US REVELANDO HIPERPLASIA PROSTATICA, FC 48 BPM SEM OUTRAS ANORMALIDADES. FEZ RECENTE PUNÇÃO DE MEDULA ÓSSEA PARA CITOLOGIA E O RESULTADO NA PESQUISA DE LEISHMANIA FOI NEGATIVO. VEIO PARA EXAMES GERAIS, CISTOCENTESE PARA CULTURAS E PUNÇÃO DE MEDULA OSSEA PARA CULTURA DE LEISHMANIA.

Doenças e/ou cirurgias anteriores: NAO TEM HISTORICO DE DOENÇAS
Medicação atual: FINASTERIDA A PARTIR DE 05/02/2014. TERMINOU COM CIPROFLOXACINA HA CINCO DIAS.
Vida reprodutiva - último cruzamento - parto - cio: PROSTATA AUMENTADA E DIVERSOS CRUZAMENTOS COM FILHOTES - É PADREADOR
Alimentação habitual: PROPLAN ADULTO
Exame de leishmaniose: FORAM FEITOS - 3 SOROLOGIAS (IMUNOCROMATOGRAFIA + // RIFI NEGATIVO // ELISA POSITIVO). NA DILUIÇÃO TOTAL NO ICB FOI 1:80.

CLÍNICA VETERINÁRIA SANTO AGOSTINHO

LABORATÓRIO DE LEISHMANIOSE - ICB/UFMG

EXAME: SOROLOGIA PARA LEISHMANIOSE

MÉTODO: RIFI - **POSITIVO**

TÍTULO: **1/80**

25/02/2014

CLÍNICA VETERINÁRIA SANTO AGOSTINHO

LABORATÓRIO DE LEISHMANIOSE - ICB/UFMG

EXAME: SOROLOGIA PARA LEISHMANIOSE

MÉTODO: RIFI - **POSITIVO**

TÍTULO: **1/80**

MÉTODO: ELISA - POSITIVO

09/04/2014

CLÍNICA VETERINÁRIA SANTO AGOSTINHO

LABORATÓRIO DE LEISHMANIOSE - ICB/UFMG

EXAME: SOROLOGIA PARA LEISHMANIOSE

MÉTODO: RIFI - **POSITIVO**

TÍTULO: **1/320**

MÉTODO: ELISA - **POSITIVO**

29/08/2014

Demais exames:

- Imunocromatografia de pele – negativo
- Cultura de MO – negativo

SANTOAGOSTINHO
Hospital Veterinário

Número: 074289	Data da Consulta: 06/05/2015
[redacted]	
	Sexo: Macho
Idade: 7 anos e 2 meses	Peso: 11 Kg
Raça: COCKER SPANIEL AMERICANO	Espécie : Caninos
Veterinário Responsável: Bruno Galli Pozzebon	CRMV/MG 10466
Suspeita Clínica: A DEFINIR	

06/05/2015

ANAMNESE - CLÍNICA GERAL

Descrição do proprietário: ANIMAL VEIO PARA COLETA DE PCR DE SEMEN E SWAB DE PREPULCIO E GLANDE PENIANA PARA PESQUISA DE LVC. CASO OS OEXAMES VENHAM NEGATIVOS SERÀ REALIZADO ACASALAMENTO POR MONTA NATURAL.

Vida reprodutiva - último cruzamento - parto - cio: NÃO CASTRADO
Alimentação habitual: RAÇÃO SECA
Exame de leishmaniose: SOROLOGIA REAGENTE A DEFINIR QUADRO
Vacina contra leishmaniose: IMUNOTERAPIA COM DR CARMEN

CLÍNICA VETERINÁRIA SANTO AGOSTINHO

LABORATÓRIO DE LEISHMANIOSE - ICB/UFMG

RESULTADO DE EXAME PCR LEISHMANIOSE

[redacted] - PACIENTE: Kalvin

DATA: 11/05/2015

ALVO: kDNA – 120 pb

AMOSTRA: Swab peniano

OBS: Integridade do DNA avaliada

Resultado : **NEGATIVO**

PCR

[redacted]

PACIENTE: Kalvin

DATA: 11/05/2015

ALVO: kDNA – 120 pb

AMOSTRA: Semen

OBS: Integridade do DNA avaliada

NEGATIVO

11/05/2015

AVANÇO NOS DIAGNÓSTICOS MOLECULARES - PAINÉIS

Gizzi *et al. BMC Veterinary Research* 2014, **10**:23
http://www.biomedcentral.com/1746-6148/10/23

BMC Veterinary Research

RESEARCH ARTICLE Open Access

Presence of infectious agents and co-infections in diarrheic dogs determined with a real-time polymerase chain reaction-based panel

Aline Baumann da Rocha Gizzi[1*], Simone Tostes Oliveira[1], Christian M Leutenegger[2], Marko Estrada[2], Denise Adamczyk Kozemjakin[3], Rafael Stedile[4], Mary Marcondes[5] and Alexander Welker Biondo[1,6]

Table 3 Individual infectious agents in the real-time PCR canine diarrhea panel of dogs from Southern Brazil

Pathogen	(Diarrheic dogs)		(Control dogs)		
	No. positive (%) (n = 104)	95% CI	No. positive (%) (n = 43)	95% CI	P value
Overall rate*	71 (68.3)	58.3- 76.9	13 (30.2)	17.67 - 46.3	< 0.001
Canine distemper virus**	9 (8.7)	4.3 - 16.2	0 (0)	0 – 10.2	0.058
Canine parvovirus type 2*	36 (34.6)	25.7 - 44.7	0 (0)	0 – 10.2	0.001
***Salmonella* spp.**	1 (1)	0.05 - 6.01	0 (0)	0 – 10.2	1
***Cryptosporidium* spp.**	8 (7.7)	3.6 - 15.0	2 (4.7)	0.8 - 17.1	0.723
Giardia spp.	14 (13.5)	7.8 - 21.9	2 (4.7)	0.8 - 17.1	0.151
Canine coronavirus	12 (11.5)	6.4 - 19.7	3 (7)	1.8- 20.1	0.554
C. perfringens* alpha toxin gene	40 (38.5)	29.2 – 48.5	6 (14)	5.8 – 28.6	0.006

*Significantly ($P < 0.05$) different between Diarrhea Group and Control Group.
**Significantly ($P < 0.1$) different between Diarrhea Group and Control Group.

CASO CLÍNICO

Nome do Animal: LEOPOLDO	Sexo: Macho
Idade: 4 anos e 11 meses	Peso: 2,7 Kg
Raça: PERSA HIMALAIO	Espécie : Felinos
Veterinário Responsável: Vitor Márcio Ribeiro	CRMV/MG 1883
Suspeita Clínica: SINDROME CEREBRAL	

TECSA Laboratórios No.002651685/01
Nome .....: LEOPOLDO
Especie.....: FELINO
Sexo.....: MACHO
[redacted]
Medico Vet..: VITOR MARCIO RIBEIRO
Clínica Vet.: SANTO AGOSTINHO - BH

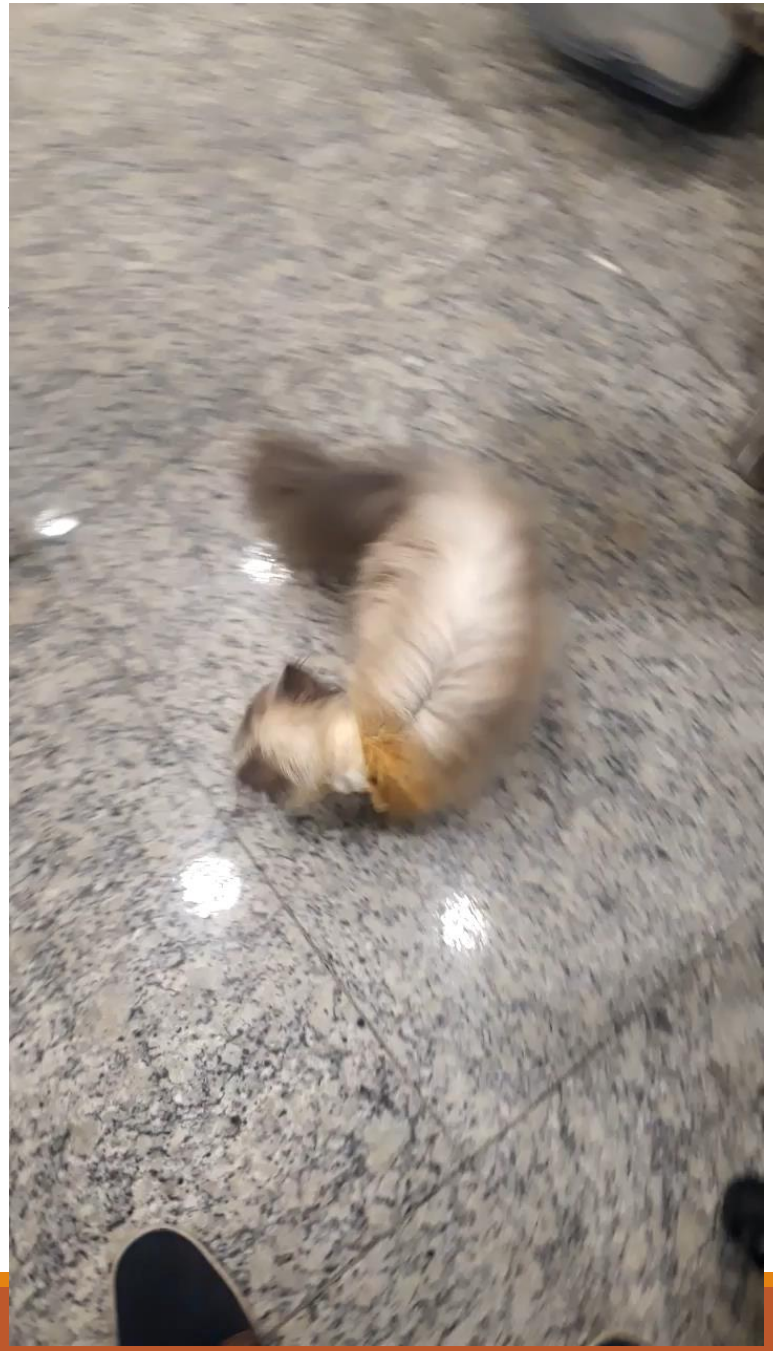
Raça..:PERSA HIMALAIO
Idade..:4 Ano(s) Mes(es)
Entrega..:SITE SEM IMPRIMIR
Data do Cadastro: 16/10/2020
Tel.: 3133372026 Fax:0

Herpesvirus felino (FHV-1) - REAL TIME PCR QUALITATIVO

MATERIAL UTILIZADO: ***POOL DE SWABS - OROFARINGEO E NASAL***
Há material disponível para inclusão de exames complementares.

INFORMES CLÍNICOS: ***Suspeita - Síndrome cérebro-vestibular***
MÉTODO: qPCR (REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE EM TEMPO REAL)

RESULTADO: ***POSITIVO***



RETORNO

DATA DO ULTIMO ATENDIMENTO 15/10/2020

INFORMAÇÃO DE EVOLUÇÃO

ANIMAL ESTÁ PROXIMO DO NORMAL. ANDANDO COM AGILIDADE CONFORME VIZUALIZADO NO FILME. J´[A ESTÁ ATÉ FUGINDO DOS MEDICAMENTOS. AS FEZES ESTÃO CONM PADRÃO PASTOSO E PRESENÇA DE SANGUE.

TRATAMENTO E MEDICAÇÃO ATUAL

MEDICAÇÃO ATUAL:

tobradex colírio -.aplicar na orelha direita - 3 gotas - de 8/8 horas (INICIO EM 09/10/2020)// prednisolona 3 mg / ml -.dar 1 ml pela boca uma vez ao dia - essa dose é a metade da que ele tomou nos ultimos 30 dias, ela iniciou no dia 09/10/2020 e será mantida até o dia 30/10/2020 // Famotidina 3 mg + ondansetrona / SAM-e 180 mg sid / Penvir 125 / Acetilcisteina + Vitamina E.

ESTADO MENTAL

- NÍVEL DE CONSCIENCIA (Tronco Encefálico e Córtex – SARA)

ANIMAL NESSES DIAS ESTÁ AINDA MELHOR EM PARTICIPAÇÃO. EM RELAÇÃO A ESCUTAR E ENXERGAR NÃO TEVE MUDANÇA. ONTEM ESTEVE MAIS QUIETO E A TUTORA ACHA QUE PODE SER RELACIONADO AS FEZES.

Espécie:	Felino	**CRMV:**	1883 MG	**Data de coleta:**	06/11/2020
Raça:	Persa	**Lab ID:**	C16741019000129	**Data de entrada:**	06/11/2020
Gênero:	Macho	**Cliente ID:**	Santo Agostinho Hospital Ve	**Data do resultado:**	14/11/2020
Idade:	4 ano(s)	**Endereço:**	Avenida Amazonas 2218	**Material encaminhado:**	Fezes
Paciente ID:	P20200147599				

BIO MOLECULAR

Teste	Resultado
Toxoplasma gondii RealPCR™ Teste	Negativo
Tritrichomonas foetus/ blagburni RealPCR™ Teste	Positivo
Cryptosporidium spp. RealPCR™ Teste	Negativo
Giardia spp. RealPCR™ Teste	Negativo
Salmonella spp. RealPCR™ Teste	Negativo
Coronavírus Felino (FCoV) RealPCR™ Teste	Positivo
Panleucopenia Viral Felina RealPCR™ Teste	Negativo
Campylobacter jejuni RealPCR™ Teste	Negativo
Campylobacter coli RealPCR™ Teste	Negativo
C. perfringens Alpha Toxina CPA Gene Quant RealPCR	Negativo

Daniels, J. B. (2013). *Molecular Diagnostics for Infectious Disease in Small Animal Medicine. Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice, 43(6), 1373–1384.*
doi:10.1016/j.cvsm.2013.07.006

Os exames moleculares mais utilizados para detecção dos nucleicos são:

- 1. Reação em cadeia da polimerase (PCR) convencional
- 2. Quantitativo (qPCR) ou PCR em tempo real
- 3. PCR de transcrição reversa (RT-PCR)
- 4. PCR duplex e multiplex ou PCR em tempo real
- 5. Sequenciamento de DNA

AACC
Better health through laboratory medicine.

Molecular Point-of-Care Testing in Clinical Laboratories

Laboratorians can lead a new era in rapid testing with expertise in quality control and result interpretation

Author: Paige M.K. Larkin, PhD, M(ASCP), and Omai B. Garner, PhD, D (ABMM) // **Date:** JUL.1.2020 // **Source:** Clinical Laboratory News

NOVOS TEMPOS

Molecular Point-of-Care Testing in Clinical Laboratories

Laboratorians can lead a new era in rapid testing with expertise in quality control and result interpretation

Author: Paige M.K. Larkin, PhD, M(ASCP), and Omai B. Garner, PhD, D (ABMM) // **Date:** JUL.1.2020 // **Source:** Clinical Laboratory News

- A microbiologia molecular revolucionou o campo da microbiologia reduzindo o tempo de resposta de exames de semanas para HORAS

- Proporcionou elevação da SENSIBILIDADE – ESPECIFICIDADE – QUANTIFICAÇÃO

- Os ensaios moleculares proporcionam melhora de DIAGNOSTICO em suspeitas de eventos infecciosos bacterianos, virais e por protozoários

Molecular Point-of-Care Testing in Clinical Laboratories

Laboratorians can lead a new era in rapid testing with expertise in quality control and result interpretation

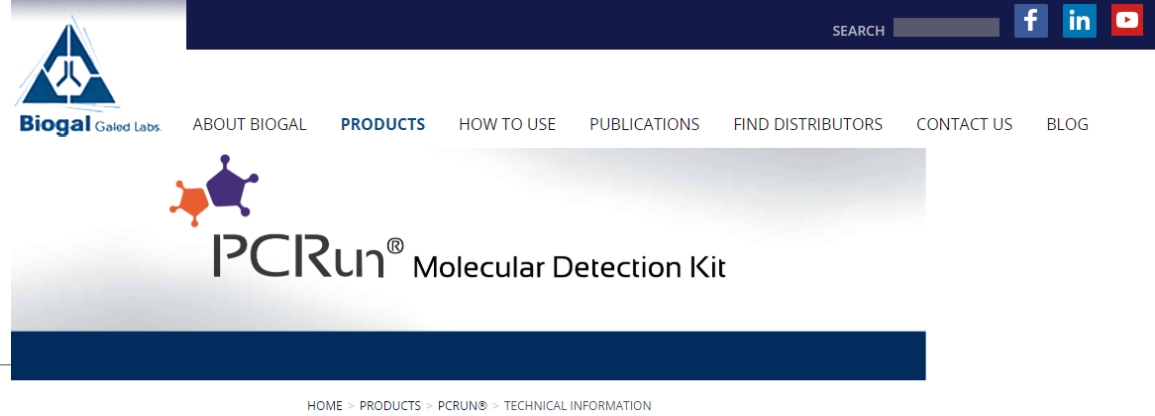
Author: Paige M.K. Larkin, PhD, M(ASCP), and Omai B. Garner, PhD, D (ABMM) // **Date:** JUL.1.2020 // **Source:** Clinical Laboratory News

- As abordagens da microbiologia molecular como a REAÇÃO EM CADEIA DE POLIMERASE (PCR) buscam:
  - Detectar porções-alvo de material genético (DNA ou RNA) de amostras biológicas
  - O material é amplificado – produz grande número de cópias e detecta até mesmo quantidades muito pequenas de material genético microbiano

- De forma geral esses métodos moleculares são considerados
  - De complexidade moderada ou alta
  - Requerem treinamento extensivo
  - Técnica estéril
  - Análise pós-analítica
  - Leva horas para sua execução

→ Isso os torna inviáveis em muitos laboratórios

INOVAÇÃO



- Ensaios mais recentes de amostra para resposta são simplificados e envolvem processamento mínimo e tempo prático

- Isso permite que com esses ensaios moleculares simplificados mais tecnólogos e laboratórios realizem esses testes fora dos laboratórios de microbiologia clínica, aumentando sua utilização e o número de pessoas envolvidas no processo.

ASSIM

- O diagnóstico molecular POINT OF CARE permite atualmente:
  - A pesquisa dos principais agentes etiológicos do dia a dia
  - Realização com resultados em menos de duas horas
  - Realização dentro da própria clínica
  - Após triagem com testes rápidos possibilidade de confirmação em tempo curto PCR POC
  - A implicação prognóstica de um tratamento adequado guiado pelo diagnóstico molecular de forma rápida e o acompanhamento da “cura” (AVALIAÇÃO QUALITATIVA / QUANTITATIVA)

POC EM AGENTES CANINOS - PCRun

1. Kit de detecção molecular canina de *Ehrlichia canis*
2. Kit de detecção molecular de *Anaplasma platys*
3. Kit de detecção molecular canina *Babesia canis*
4. Kit de detecção molecular canina *Babesia gibsoni*
5. Kit de detecção molecular de *Leptospira* patogênica canina
6. Kit de detecção molecular canina *Leishmania infantum*
7. Kit de detecção molecular de vírus parvo canino
8. Kit de detecção molecular de RNA de cinomose canina

POC EM AGENTES FELINOS - PCRun

1. Detecção molecular do vírus da Panleucopenia felina
2. Detecção molecular de *Mycoplasma haemofelis* felino
3. Detecção molecular de Feline FeLV DNA Provirus
4. Detecção Provirus Feline FeLV RNA

MATERIAIS P/ ENVIO

eco

PCRun

Instruções para coleta de amostras clínicas para testes de PCRun

Doença	Tipo de amostra	Tubo coleta	Volume/Recomendações	Condições de Armazenamento
Erliquiose	Sangue Medula óssea Aspirarado Baço	EDTA	±10% volume recomendado Homogeneizar após coleta	TA várias horas 4°C – 24 hrs -20°C longos períodos
Anaplasmose	Sangue	EDTA	±10% volume recomendado Homogeneizar após coleta	TA várias horas 4°C – 24 hrs -20°C longos períodos
Leishmaniose	Sangue Medula óssea	EDTA	±10% volume recomendado Homogeneizar após coleta	TA várias horas 4°C – 24 hrs -20°C longos períodos
	Swab conjuntiva	Floq Swab	Esfregue com firmeza para coletar amostra Restituir no tubo de coleta	
	Linfonodo poplíteo	Tubo pequeno + PBS	-	
Mycoplasmose	Sangue	EDTA	±10% volume recomendado Homogeneizar após coleta	TA várias horas 4°C – 24 hrs -20°C longos períodos
Leptospirose	Sangue	EDTA	±10% volume recomendado Homogeneizar após coleta	TA várias horas 4°C – 24 hrs -20°C longos períodos
	Urina	2ml	Neutralizado e concentrado de acordo com as instruções	
Babesiose (canis and gibsoni)	Sangue	EDTA	±10% volume recomendado Homogeneizar após coleta	TA várias horas 4°C – 24 hrs -20°C longos períodos
Parvovirose Canina	Swab retal Swab fecal Swab faríngeo	Floq Swab	Recolha a amostra e coloque no tubo	TA várias horas 4°C – 24 hrs -20°C longos períodos
	Sangue	EDTA	±10% volume recomendado Homogeneizar após coleta	TA várias horas 4°C – 24 hrs -20°C longos períodos
Vírus da cinomose	Sangue	EDTA (Leucócitos e plaquetas)	±10% volume recomendado Homogeneizar após coleta	4°C – 24 hrs -800C longos períodos
	Swab faríngeo Swab nasal	Floq Swab	Recolha a amostra e coloque no tubo	4°C – 24 hrs -800C longos períodos
	Urina	2 ml	Neutralizado e concentrado de acordo com as instruções	4°C – 24 hrs -800C longos períodos
FeLV DNA	Sangue	EDTA	±10% volume recomendado Homogeneizar após coleta	TA vários 4°C – 24 hrs -20°C longos períodos

TA = Temperatura Ambiente

INCLUSIVIDADE / EXCLUSIVIDADE

Limite de Detecção, Inclusão e Exclusão das Reações PCRun®

Patógeno	Limite de detecção analítica*,1	Inclusividade**,2	Exclusividade
Babesiagibsoni	10^1	*B. gibsoni*	*B. rossi, B. vogeli, B. canis,E.canis, A. platys*
Babesia canis	10^2	*B. canis, B. vogeli*	*B. rossi, B. microti, B. gibsoni, E. canis, A. platys*
Anaplasmaplatys	10^2(10^1 -83%)#	*A. platys*	
Ehrlichia canis	10^2 (10^1 - 84%)#	*E. canis, E.chaffeensis, E.phagocytophilum(weak)*	*E. ewingii, B. gibsoni, A.platys, B. canis*
Parvovirus canino	10^3	*Parvovirus canino, Panleucopenia felina a virus*	*DistemperVirus, Adenovirus*
Mycoplasmahaemofelis	10^2	*M. haemofelis, M. haemocanis*	*Bartonellasp., C.M. haemominutum, C. M. turicensis*
Leptospirose	10^2 (10^1 - 83%)#	*Leptospiras* patogênicas (Veja o arquivo anexado)	Leptospiras saprófitas
Leishmania infantum	10^3	*L. infantum, L. tropica*	*L. major, L. donavani*
Vírus da Leucemia felina	10^2	Vírus da Leucemia Felina e Provírus da Leucemia Felina	Sequências relacionadas com FeLV endógenas conservadas
Vírus da Cinomose canina	10^2	Vírus da cinomose canina	*Parvovirus*

refere-se à% de amostras positivas conhecidas na concentração específica que retornou uma resposta positiva em 60 min

Optimal Vector-borne Disease Screening in Dogs Using Both Serology-based and Polymerase Chain Reaction–based Diagnostic Panels

Linda Kidd, DVM, PhD

Kidd, Linda (2019). *Optimal Vector-borne Disease Screening in Dogs Using Both Serology-based and Polymerase Chain Reaction–based Diagnostic Panels. Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice, (), S0195561619300415–.* doi:10.1016/j.cvsm.2019.02.011

Ainda assim – LEMBRE-SE!

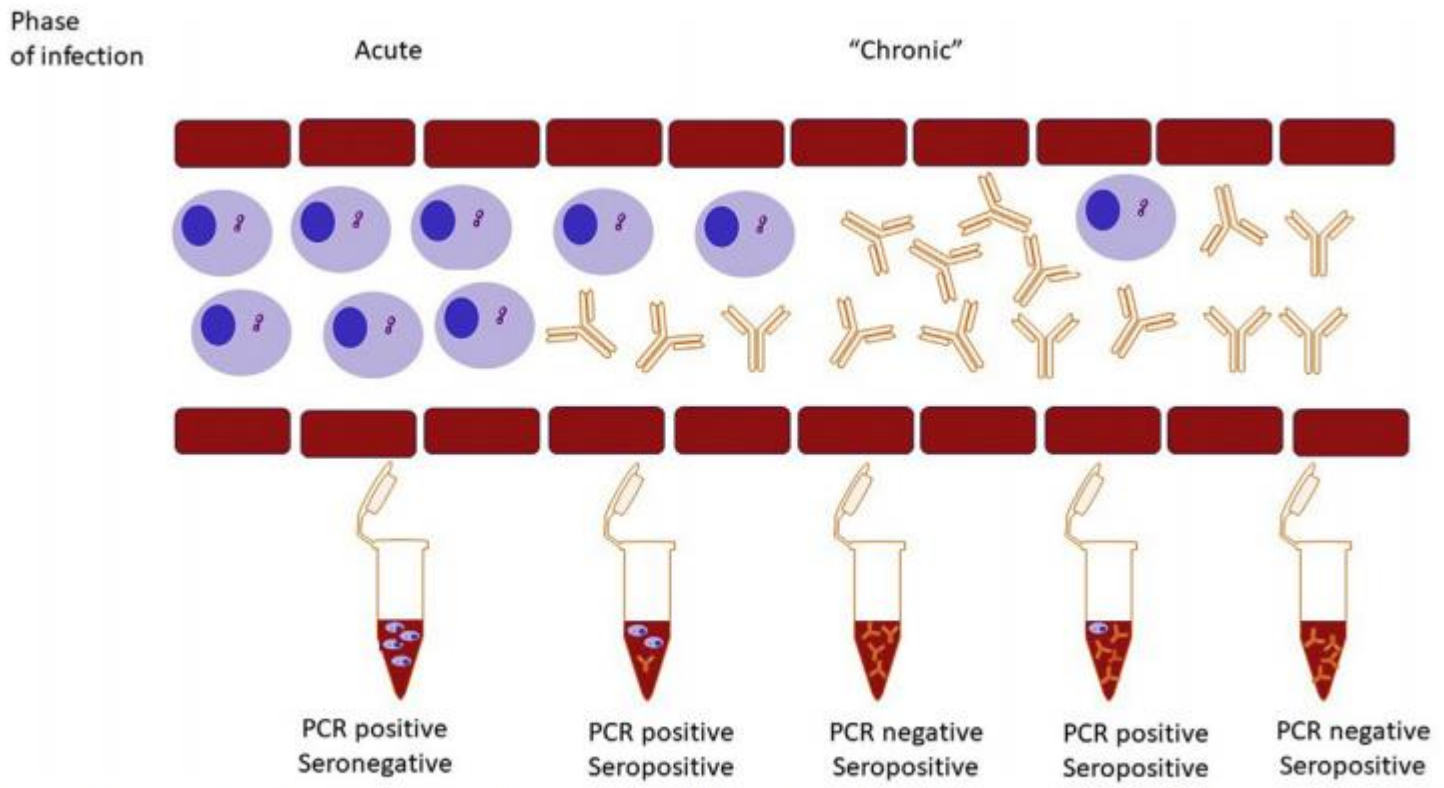
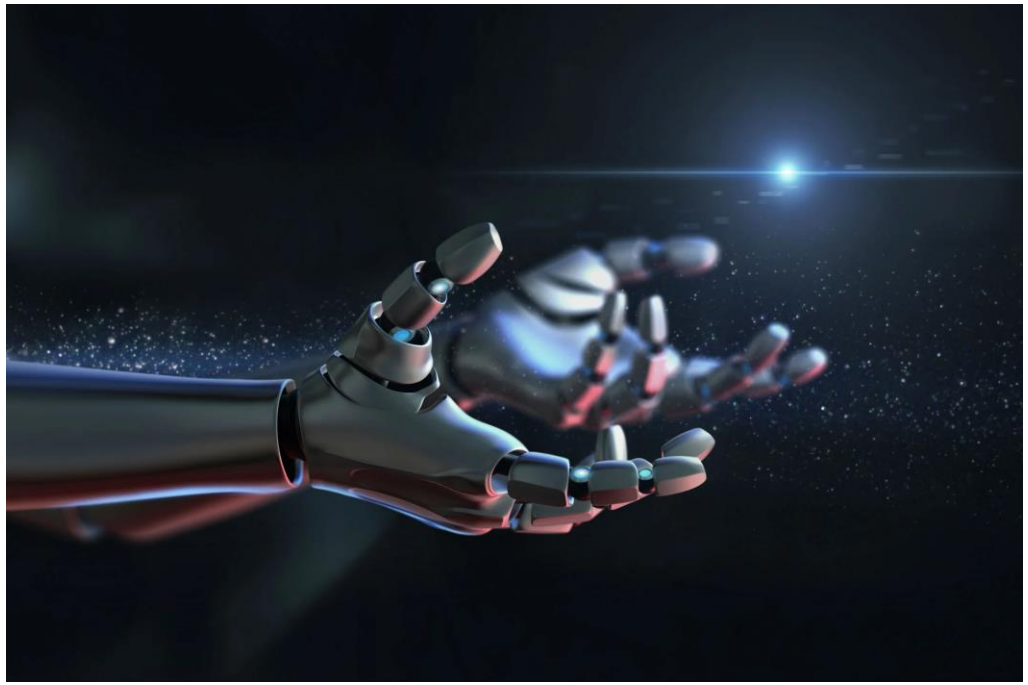


Fig. 1. Theoretical results of PCR and serologic testing for an organism that causes both acute and chronic infection. (*Courtesy of* Linda Kidd, DVM, PhD, Pomona, CA.)

CONCLUSÕES

- AVANÇOS TÊM PROPORCIONADO MAIORES POSSIBILIDADES DE DIAGNOSTICO
- BUSQUE ASSOCIAR OS MÉTODOS E PROCURE SEMPRE INTERPRETÁ-LOS PARA TOMADA DE DECISÕES
- AS CLINICAS E HOSPITAIS PODEM USUFRUIR DE TECNOLOGIAS AVANÇADAS E DE SIMPLES EXECUÇÃO
- ESSAS METODOLOGIAS TÊM SIDO CADA VEZ MAIS RÁPIDAS EM EMITIR RESULTADOS – ANTES TINHAMOS GRANDE DIFICULDADE DE AGILIDADE
- OS EXAMES MOLECULARES DEVEM CONSTAR NO ESTADIAMENTO DE TODAS AS MOLÉSTIAS

OS AVANÇOS NUNCA PARAM ....

ribeirovm@yahoo.com.br