



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA

**REVISÃO BIBLIOGRÁFICA: INFECÇÃO DE *Cytauxzoon* spp EM
FELINOS DOMÉSTICOS**

Matheus Almeida Duarte

Orientadora: Prof^a. Dr^a.Giane Regina Paludo

BRASÍLIA – DF

FEVEREIRO / 2022



MATHEUS ALMEIDA DUARTE

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA: INFECÇÃO DE *Cytauxzoon* spp EM FELINOS DOMÉSTICOS

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao programa de pós graduação na modalidade de residência *lato sensu* em Área Profissional em Patologia Clínica Veterinária, junto à Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília.

Orientadora: : Prof^a. Dr^a.Giane Regina Paludo

BRASÍLIA – DF
FEVEREIRO / 2022

Introdução

O gato doméstico (*Felis catus*) possui participação importante na história humana e na sociedade atual seja como animal de companhia, seja no controle populacional de animais sinantrópicos. Há cerca de 10.000 anos no Oriente Médio, na região do Crescente Fértil, deu-se início o processo de domesticação natural dessa espécie, que inicialmente vivia de forma comensal com os humanos, protegendo indiretamente os alimentos estocados nos primeiros assentamentos (DRISCOLL et al., 2009). Posteriormente, no século XIX, surgiram as primeiras seleções artificiais (WASTLHUBER, 1991) e, atualmente, o gato é considerado um animal de companhia com ampla distribuição mundial e muitas vezes considerado como membro da família. No Brasil, em 2019, estima-se que havia uma população de 23,9 milhões de gatos domiciliados (BRASIL, 2019), enquanto nos Estados Unidos, de 58,4 milhões (AVMA, 2018), ficando atrás apenas para o número de total de cães em ambos os países.

Cytauxzoon sp. é um hemoparasita com ampla distribuição geográfica, com ocorrência em todos os continentes, exceto na Oceania e na Antártida (WANG et al., 2017). É o agente etiológico da cytauxzoonose, doença geralmente grave de curso rápido e fatal, para qual não há vacina nem tratamento com alta taxa de eficácia. Os sinais clínicos incluem febre, depressão, letargia, dispneia, vômito, icterícia, dor generalizada e hipotermia. A detecção do parasita em sangue periférico é realizada por PCR, podendo estar associada à visualização do agente em esfregaço sanguíneo. Formas teciduais do parasita podem ser visualizadas na histopatologia. A profilaxia se baseia no uso de coleiras acaricidas, uma vez que a infecção ocorre após a picada do carrapato infectado (LLORET et al., 2015). Contudo, o perfil clínico e epidemiológico das infecções está mais bem estabelecido para as infecções que ocorrem nos Estados Unidos. No Brasil, não foram estabelecidos os vetores, os reservatórios envolvidos e tampouco realizada caracterização molecular detalhada das cepas envolvidas. Apesar disso, relatos cada vez mais frequentes no país têm sido realizados não só em gatos domésticos como em felídeos silvestres (MAIA et al., 2013; ANDRÉ et al., 2015, 2017; FURTADO et al., 2017).

Portanto, *Cytauxzoon* sp. é um parasita de importância médico-veterinária com impacto direto na saúde de gatos domésticos e conseqüentemente em seus tutores. A patogenia das diferentes cepas e espécies, porém, ainda precisa ser determinada considerando diferentes perfis clínico-epidemiológicos ao redor do mundo. Adicionalmente, considera-se possibilidade de que alguns desses animais sejam

reservatórios, dado que muitos gatos são assintomáticos e desenvolvem uma eritroparasitemia crônica (CARLI et al., 2014; WANG et al., 2017). A presente revisão bibliográfica tem como objetivo trazer informações sobre taxonomia, histórico da doença, ciclo biológico, transmissão, epidemiologia, caracterização molecular, diagnóstico, tratamento e profilaxia.

Taxonomia

Filo: Apicomplexa

Ordem: Piroplasmida

Família: Theileriidae

Espécies: *Cytauxzoon felis*

Cytauxzoon manul

Cytauxzoon eurapaeus

Cytauxzoon otrantorum

Cytauxzoon banethi

Cytauxzoon spp., diferentemente de *Babesia* spp. e *Theileria* spp., constitui um grupo monofilético de protozoários hemoparasitas que infectam primariamente felídeos. Pertencem ao filo Apicomplexa, estando incluídos na ordem Piroplasmida, dentro da família Theileriidae. Por muitos anos, sua classificação taxonômica confundia-se com o gênero *Theileria* spp. A presença de esquizontes em linfócitos ou em macrófagos era critério utilizado para classificar um isolado ou como pertencente a *Theileria* spp. ou a *Cytauxzoon* spp. Porém, já está estabelecido que espécies de *Theileria* podem infectar ambos os tipos celulares (SPOONER et al., 1988, 1989), levando à utilização de marcadores moleculares para diferenciar os dois gêneros (NIJHOF et al., 2005) .

Neitz & Thomas (1948) descreveram pela primeira vez o gênero ao sugerirem uma nova espécie, *Cytauxzoon sylvicaprae*, em um antílope africano, *Sylvicapra grimmia*. Buscando sugerir um gênero diferente de *Theileria*, por não encontrarem esquizontes em linfócitos, mas sim em macrófagos, o gênero *Cytauxzoon* (do grego, Kytos = célula + auxē = aumento + zoon = animal) foi proposto. Posteriormente, outras

espécies foram descritas em ruminantes na África, especificamente *Cytauxzoon strepsicerosi* e *Cytauxzoon taurotragi* (NEITZ, 1957; MARTIN; BROCKLESBY, 1960). Contudo, Grootenhuis et al. (1979) renomearam *C. taurotragi* como *Theileria taurotragi*, o que foi confirmado posteriormente por análises filogenéticas do gene rRNA 18S (ALLSOPP et al., 1994). Portanto, sugere-se a possibilidade de que *C. sylvicaprae* e *C. strepsicerosi* sejam na verdade pertencentes ao gênero *Theileria* e não a *Cytauxzoon*, considerando a patologia e os sinais clínicos nas infecções (NIJHOF et al., 2005). Contudo, não é possível ratificar essa hipótese uma vez que dados moleculares desses isolados não se encontram disponíveis. Outros casos de infecção classificados como cytauxzoonose na África, sem atribuição de uma espécie em particular, foram relatados em girafas e outros antílopes (MCCULLY; KEEP; BASSON; 1970; JARDINE, 1992). Da mesma forma, dados moleculares não foram disponibilizados para confirmar se de fato se tratava de infecções por *Cytauxzoon* sp. Atualmente, existem cinco espécies de *Cytauxzoon* amplamente reconhecidas com caracterização molecular: *C. felis* (WAGNER, 1976), *C. manul* (KETZ-RILEY et al., 2003), *C. europaeus*, *C. otrantorum* e *C. banethi* (PANAIT et al., 2021), todas com descrição em felídeos. A primeira espécie relatada comprovadamente pertencente ao gênero *Cytauxzoon* é *C. felis*.

O primeiro relato de *C. felis* foi descrito em 1976, no Missouri, Estados Unidos, no qual 4 gatos parasitados por carrapatos apresentavam palidez de mucosas, icterícia, febre e desidratação. Identificaram-se merozoítos intraeritrocitários e, na histopatologia, esquizontes associados a endotélio vascular de pulmão, fígado, baço e linfonodo (WAGNER, 1976). Na Europa, o primeiro relato de infecção por *Cytauxzoon* sp. foi em um tigre-de-bengala (*Panthera tigris tigris*), resultando em um caso fatal (JAKOB; WESEMEIER, 1996). No Brasil, o primeiro relato foi em dois leões (*Panthera leo*) no Rio de Janeiro (PEIXOTO et al., 2007), que também foram a óbito. Em 2004 e 2013, foram relatados os primeiros casos confirmados de *Cytauxzoon* sp. em gatos domésticos na Europa (CRIADO-FORNELIO et al., 2004) e no Brasil (MAIA et al., 2013), respectivamente.

Ciclo Biológico

De acordo com o estágio do parasita, o *Cytauxzoon* pode ser encontrado como esquizonte em tecidos ou como merozoíto intraeritrocitário, com diâmetros variando de 1 μm a 2 μm em diferentes formas (Fig.1). A principal forma visualizada no esfregaço sanguíneo é a de anel de sinete. Outras formas incluem a de “alfinete” oval bipolar, corpos anaplasmoide e tétrades. O ciclo pode ser dividido em uma fase sexual e outra assexual. Inicialmente, os esporozoítos são inoculados durante a picada do carrapato, hospedeiro definitivo, e passam a infectar macrófagos. Nestas células, os esporozoítos sofrem processo de esquizogonia, produzindo esquizontes maduros que causam lise celular liberando merozoítos. Os merozoítos por sua vez infectam eritrócitos e se multiplicam por fissão binária em seu interior, ocasionando ruptura celular e liberação de mais merozoítos. Alguns destes merozoítos tornam-se gametócitos, que são ingeridos pelo carrapato durante o repasto sanguíneo. No intestino do carrapato, os gametócitos se diferenciam em micro e macrogametas, fundem-se e formam um zigoto diploide pelo processo de gamogonia. Ainda no epitélio intestinal, originam células haploides denominadas de cinetos. Estas células migram para as glândulas salivares onde originarão novos esporozoítos por meio de esporogonia (Fig.2) (WANG et al., 2017). Como não migram para ovários, não ocorre transmissão transovariana, somente transtadial. Portanto, em contraste com os piroplasmas do grupo *Babesia* sensu stricto, há o processo de esquizogonia, não ocorrendo transmissão transovariana do *Cytauxzoon* spp. (JALOVECKA, 2019).

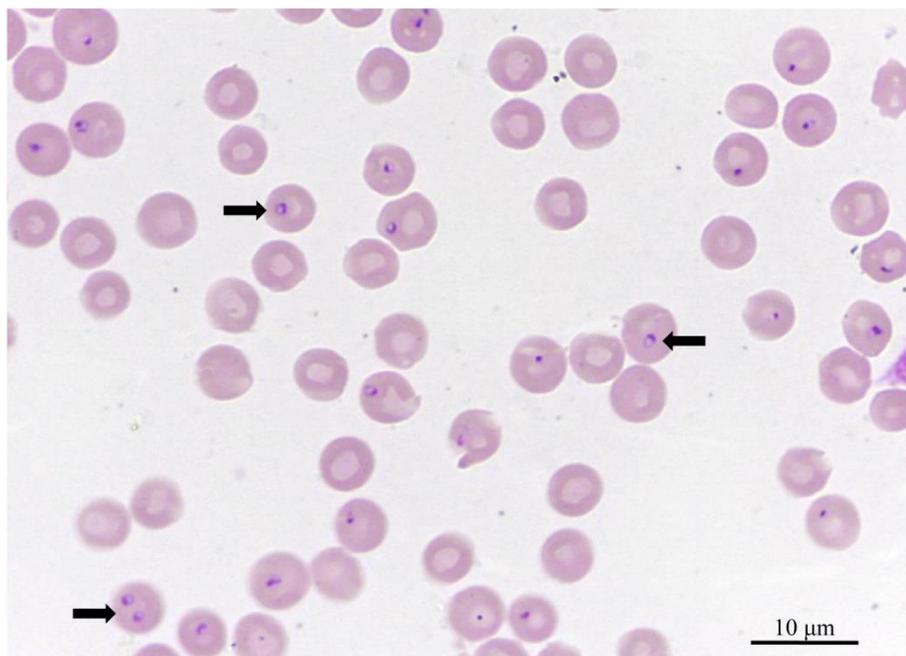


Figura 1. Formas intraeritrocitárias em anel de sinete de *Cytauxzoon* sp (PANAIT et al., 2020).

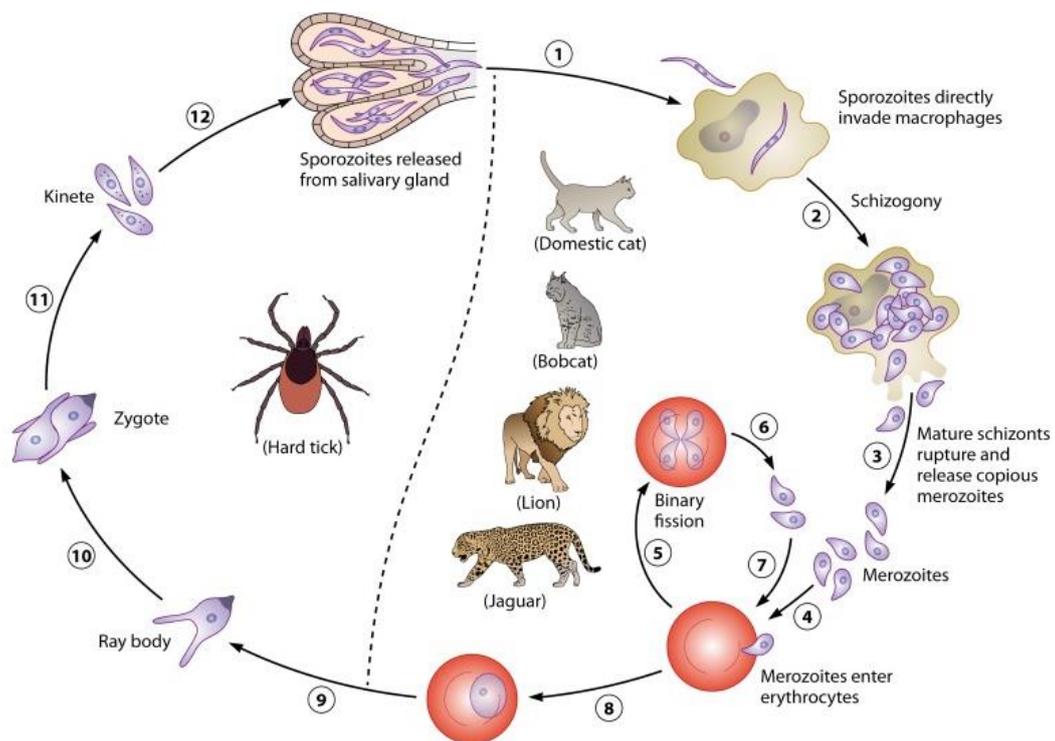


Figura 2. Representação do ciclo de vida de *C. felis* (WANG et al., 2017).

Transmissão e Hospedeiros

Em relação à transmissão do parasita, apesar de novas evidências científicas, o ciclo epidemiológico do *Cytauxzoon* sp. ainda não está bem estabelecido, especialmente para regiões como Brasil, Europa e Ásia. Já foram realizadas tentativas de infecção experimental com merozoítos de sangue periférico e com tecidos homogeneizados contendo esquizontes em diversas espécies incluindo animais de laboratório (ex.: camundongo, rato, hamster, porquinho-da-índia), animais domésticos (ex.: bovinos, cabras, ovinos, suínos) e animais silvestres (ex.: raposa vermelha, coioote, guaxinim, pequeno morcego marrom). Porém, em nenhuma destas espécies, demonstrou-se consistentemente doença clínica ou parasitemia, indicando que outras espécies de animais a princípio não são suscetíveis à infecção por *C. felis* (KIER; WIGHTMAN; WAGNER, 1982).

Em outro cenário, já foi demonstrada a ocorrência de doença clínica em gatos domésticos inoculados experimentalmente com esquizontes. Contudo, a introdução de merozoítos, oriundos de sangue periférico, não foi capaz de causar cytauxzoonose em

gatos, embora pode-se observar parasitemia persistente (MEINKOTH et al., 2000; WANG et al., 2017). Apesar disso, em áreas endêmicas, preconiza-se a testagem de gatos doadores de sangue para *Cytauxzoon* sp. (REINE, 2004; WARDROP et al., 2005). Quanto à transmissão vertical de *C. felis*, Lewis et al. (2012) não identificaram parasitemia em nenhum dos 14 filhotes nascidos de duas gatas positivas para *C. felis*.

Os carrapatos *Dermacentor variabilis* e *Amblyomma americanum* são os únicos vetores com evidência de participação no ciclo epidemiológico ou com pelo menos capacidade de transmissão de *Cytauxzoon* sp. Contudo, os resultados encontrados se aplicam aos Estados Unidos (WANG et al., 2017). Atualmente, não se sabe quais vetores estão envolvidos no Brasil. Na Europa, é possível que *Dermacentor* sp. e *Ixodes ricinus* desempenhem papel no ciclo de transmissão, embora nenhum estudo de transmissão tenha sido conduzido (LLORET et al., 2015). A infecção de *D. variabilis* foi demonstrada apenas experimentalmente, com evidências de competência vetorial para transmissão de *C. felis* de lince-vermelho (*Lynx rufus*) para lince-vermelho (BLOUIN et al., 1987), de lince vermelho para gato doméstico (BLOUIN et al., 1984), e entre gatos domésticos (KOCAN et al., 1992). Em ambos os casos, os gatos domésticos desenvolveram cytauxzoonose. Todavia, outros estudos não identificaram carrapatos *D. variabilis* positivos na PCR para *C. felis*, somente em *A. americanum* (REICHARD et al., 2009, 2010), assim como demonstraram capacidade vetorial apenas para *A. americanum*. Thomas et al. (2017) relataram que são necessárias mais de 36 horas para transmissão de *C. felis* para gatos domésticos tendo como vetor *A. americanum*, não se observando infecção nesses animais por ingestão experimental desse carrapato. Devido ao ciclo do carrapato, existem picos sazonais da doença nos Estados Unidos, com maior ocorrência entre a primavera e o início do outono (BIRKENHEUER et al., 2006).

Os hospedeiros já identificados para cepas americanas de *Cytauxzoon* sp. incluem jaguatrica (*Leopardus pardalis*), onça-pintada (*Panthera onca*) (ANDRÉ et al., 2009), leão (*Panthera leo*) (PEIXOTO et al., 2007), tigre (*Panthera tigris*) (GARNER et al., 1996), onça-parda (*Puma concolor*), lince-vermelho (*Lynx rufus*) (SHOCK et al., 2011), gato-do-mato (*Leopardus tigrinus*) (AMARAL, 2002) e gato doméstico (ANDRÉ et al., 2015). Para *C. manul*, gato-de-pallas (*Otocolobus manul*), lince-ibérico (*Lynx pardinus*) e leão (*Panthera leo*). Para as cepas europeias de *Cytauxzoon* sp., gatos domésticos (DÍAZ-REGAÑÓN et al., 2017), gato-selvagem (*Felis silvestris*), lince-euroasiático

(*Lynx lynx*) (GALLUSOVÁ et al., 2016) e lince-ibérico (*Lynx pardinus*) (MELI et al., 2009).

Adicionalmente, na África do Sul, Leclaire et al. (2014) relataram a presença de isolados de *Cytauxzoon* em suricatos (*Suricata suricata*), aparentemente nenhum com manifestação clínica de doença. No mesmo estudo, sequenciou-se o gene rRNA 18S quase completo, que apresentou 95% de identidade com outro isolado de *C. felis*, levantando a possibilidade de ser uma espécie distinta. No Japão, Jinnai et al. (2010) descreveram um isolado de *Cytauxzoon* em filhote de urso-marrom (*Ursus arctos yesoensis*). O animal apresentava sinais clínicos e foi a óbito. Contudo, o animal apresentava alta infestação de carrapatos e coinfeção com *Babesia* sp. O gene rRNA 18S quase completo também foi sequenciado, revelando identidades de 90,1% e 90,2% com isolados de *C. felis* e *C. manul*, fornecendo indícios de tratar-se de outra espécie, embora uma melhor caracterização molecular fosse necessária.

Epidemiologia

No mundo, a prevalência molecular de infecção em gatos domésticos por *Cytauxzoon* sp. varia de 0,3 % (HABER et al., 2007) a 41,9% (ANDRÉ et al., 2022) (De Oliveira, 2021). A maioria dos casos de infecção por *Cytauxzoon* sp. é relatada nos Estados Unidos, seguidos pelo Brasil e pela Europa (WANG et al., 2017). Nos Estados Unidos, é endêmica no Sul e no Sudeste, com diversos registros de cytauxzoonose fatal por *C. felis* em gatos domésticos (WANG et al., 2017), e infrequentemente em lince-vermelhos (NIETFELD; POLLOCK, 2002), com um caso em tigre (GARNER et al., 1996). Porém, diferentemente dos Estados Unidos, a maioria dos outros casos de infecção ao redor do mundo se manifestam de maneira subclínica.

Na América do Sul, só há três casos fatais confirmados de cytauxzoonose, um relatado por Peixoto et al. (2007) em dois leões no Rio de Janeiro, no qual se identificaram esquizontes em tecido na necropsia, e outro, por Guizelini et al. (2021) em uma onça-pintada de cinco meses, com esquizontes em diversos tecidos em Minas Gerais. Esse foi o primeiro relato de cytauxzoonose fatal em onça já relatado. Na Europa, há três casos de doença confirmados, um em um tigre (JAKOB; WESEMEIER, 1996) e outro em gato doméstico na Alemanha (PANAIT et al., 2021), ambos fatais, além de outro de cytauxzoonose em um gato doméstico na Espanha (CRIADO-FORNELIO et al., 2004).

Na Ásia, há um possível caso de cytauxzoonose no Irã em gato doméstico (RASSOULI et al., 2015), porém sem confirmação molecular, e em gato-selvagem (ZAEEMI; RAZMI; KHOSHNEGAH, 2015), e possivelmente outro na Índia em gato doméstico (VARSHNEY et al., 2009).

No Brasil, as demais infecções por *Cytauxzoon* sp., porém sem confirmação de cytauxzoonose, ocorreram em gato doméstico (MAIA et al., 2013; ANDRÉ et al., 2015, 2017), gato-do-mato (AMARAL, 2002), onça-parda (ANDRÉ et al., 2009), onça-pintada (ANDRÉ et al., 2009; FURTADO et al., 2017), e jaguatirica (ANDRÉ et al., 2009; FILONI et al., 2012). Em relação à distribuição das infecções no Brasil, existem relatos no Nordeste, no Norte, no Centro-Oeste, no Sudeste e no Sul (ANDRÉ et al., 2022) (DE OLIVEIRA, 2021). Na América do Sul, além do Brasil, outra possível ocorrência de *Cytauxzoon* sp. pode ser no Chile, embora não haja publicação a respeito, e somente o depósito das sequências parciais do gene rRNA 18S no GenBank. No Zimbábue, África, há relato de infecção de *C. manul* em leões (KELLY et al., 2014), assim como relato de infecções assintomáticas em felídeos na Europa (MILLÁN et al., 2007; MELI et al., 2009) e na Ásia (WANG et al., 2017; MOGHADDAM; ZAEEMI; RAZMI, 2020; MALANGMEI et al., 2021).

Caracterização molecular

Cytauxzoon spp. é um grupo monofilético de hemoparasitas assim como *Babesia* sensu stricto e *Theileria* sensu stricto. Anteriormente, em análises filogenéticas utilizando sequências parciais do gene rRNA 18S, observava-se inconsistências nas topologias entre diversos estudos, o que ocorria devido ao tamanho dos fragmentos, à complexidade dos alinhamentos devido à estrutura secundária, aos diversos algoritmos utilizados nas análises de bioinformática e aos números de sequências e espécies incluídas nas árvores filogenéticas (SCHREEG et al., 2016). Dois estudos se destacam quanto ao esclarecimento do gênero *Cytauxzoon* dentro dos piroplasmídeos.

O primeiro deles, realizado por Schreeg et al. (2016), utiliza sequências completas do gene rRNA 18S e genoma mitocondrial. Nele, propõe-se uma revisão taxonômica dos gêneros *Theileria* e *Cytauxzoon* por se agruparem em único clado com alto suporte, o que poderia sugerir serem incluídos em um único gênero. Mais especificamente, o gênero *Cytauxzoon* estaria mais próximo filogeneticamente de *Theileria parva*, *T. annulata* e *T.*

orientalis, que constituem o grupo *Theileria* sensu stricto. Ainda no mesmo estudo, utilizando o gene mitocondrial *cox1*, obtiveram uma topologia da árvore filogenética dos piroplasmídeos similar à árvore obtida pelo rRNA 18S e genoma mitocondrial concatenados. Isso demonstra a importância desse marcador mitocondrial nas análises filogenéticas dentro da ordem, embora atualmente existam poucas sequências depositadas quando comparadas ao gene rRNA 18S. Contudo, como os próprios autores apontam, o número reduzido de sequências e espécies utilizadas se torna um fator limitante no estudo, inclusive a não inclusão de grupos específicos, como o de babésias que infectam aves, e a inclusão de theilérias somente sensu stricto, além de *Theileria equi*.

O segundo estudo foi realizado por Jalovecka et al. (2019), fornecendo a filogenia mais completa atualmente dentro da ordem dos piroplasmídeos. Por meio de análises filogenéticas utilizando o gene rRNA 18S completo, obteve-se dez clados monofiléticos com bons suportes. Nele, observa-se que *Theileria* e *Babesia* constituem grupos polifiléticos. *Cytauxzoon* spp. constitui o clado VII e se mostra mais próximo do grupo Rhinocerotidae dentro dos piroplasmídeos, do qual *Theileria bicornis* participa (Fig.3). No mesmo estudo, para a construção da árvore filogenética, foram incluídas mais sequências e espécies, o que trouxe novas evidências sobre as relações filogenéticas dentro da ordem e que a princípio não foram demonstradas por Schreeg et al. (2016). Logo, *Cytauxzoon* spp. não se encontra próximo necessariamente de outros theilerídeos, estando mais próximo de *Babesia vogeli* do que *Theileria ornythorhynchi*, por exemplo. Outra informação interessante obtida é a de que as linhagens de piroplasmídeos evoluíram principalmente por coespeciação com seus hospedeiros de forma geral. Isso pode ser observado pela separação desses dez clados pela filogenia, que também se separam pela ordem e/ou classe taxonômica de seus hospedeiros (JALOVECKA et al., 2019). Da mesma forma, nota-se esse fenômeno dentro do gênero do *Cytauxzoon*, cujos hospedeiros são em sua grande maioria felídeos.

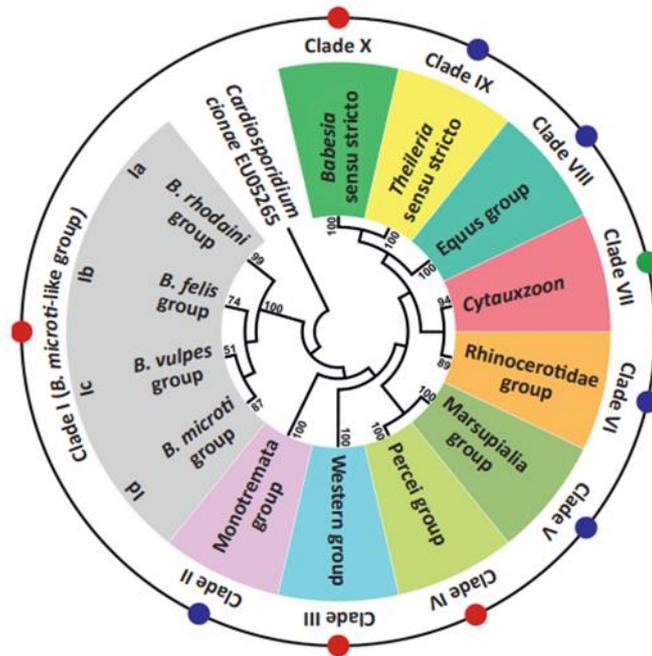


Figura 3. Árvore filogenética da ordem Piroplasmida baseada no gene completo rRNA 18S (JALOVECKA et al., 2019).

Porém, é necessário a caracterização de mais sequências completas do gene rRNA 18S e genes mitocondriais de diferentes espécies para que as relações filogenéticas a nível de gênero e espécie estejam melhor estabelecidas. Idealmente, a filogenômica seria a melhor forma de caracterizar essas relações, embora sua ampla execução seja de difícil realização. Atualmente, a caracterização de novas espécies tem sido realizada com o uso dos genes rRNA 18S, *cox1* e *cytb* (PANAIT et al., 2021; WILLI et al., 2022). A nível de espécie, esses três marcadores definem dois clados principais distintos, um formado por cepas americanas, que inclui as brasileiras, e outro por cepas europeias, asiáticas e africanas. Dentro do clado americano, se observa duas subdivisões, uma formada por cepas norte-americanas, e outra por cepas brasileiras (PANAIT et al., 2021; WILLI et al., 2022). Por meio da análise do gene parcial rRNA 18S dos isolados identificados em suricatos da África do Sul, e no urso-marrom do Japão, revelou-se com bom suporte uma posição basal e distante filogeneticamente em relação aos isolados identificados em felinos, o que torna os isolados de *Cytiauxzoon* de felinos um grupamento monofilético (Fig.4) (PANAIT et al., 2021).

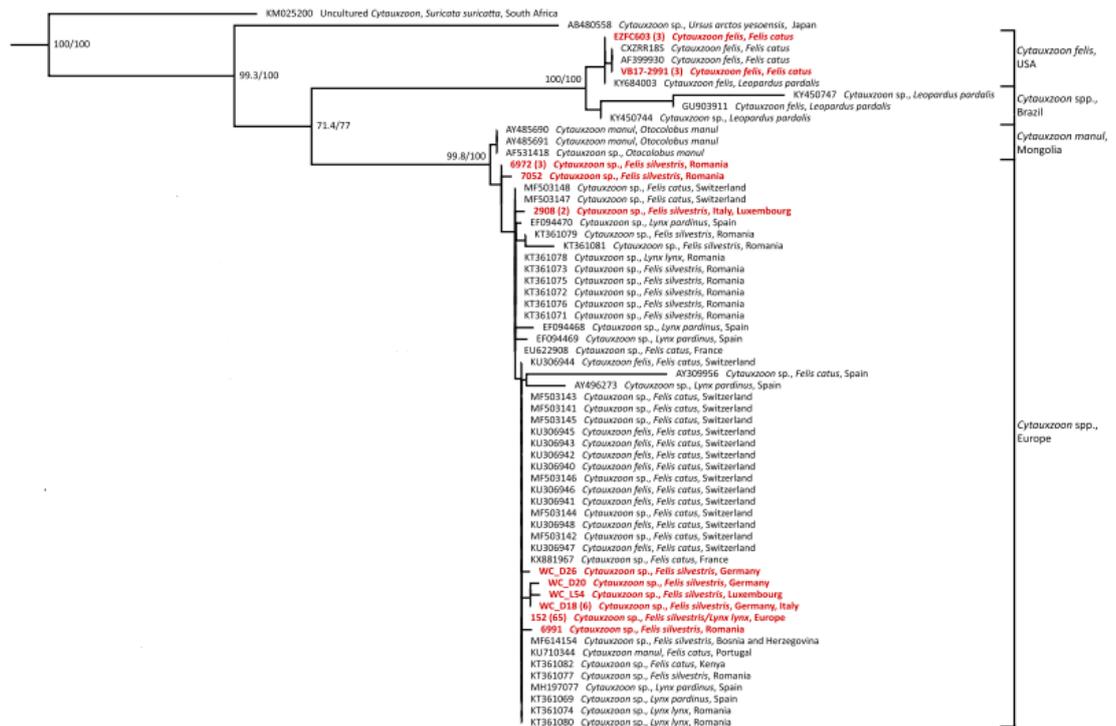


Figura 4. Árvore filogenética de isolados de *Cytosporidium* baseado no gene rRNA 18S (PANAIT et al., 2021).

A primeira espécie descrita com dados moleculares dentro do gênero foi *C. felis*, de ocorrência comprovada nos Estados Unidos (ALLSOPP et al., 1994). A partir de então, centenas de outras sequências têm sido depositadas, a maior parte delas referentes ao gene rRNA 18S. A segunda espécie, *C. manul*, foi descrita em gato-de-pallas na Mongólia utilizando-se o gene rRNA 18S (KETZ-RILEY et al., 2003; REICHARD et al., 2005). O segundo relato dessa espécie ocorreu em leões no Zimbábue (KELLY et al., 2014). Cabe ressaltar que morfológicamente *C. felis* e *C. manul* não se distinguem. Recentemente, três novas espécies dentro do grupo europeu foram aceitas com base nas análises filogenéticas dos genes rRNA 18S, *cox1* e *cytb*, sem descrição morfológica das cepas: *C. europaeus*, isolado de gato-selvagem e lince-euroasiático na Alemanha, Romênia, Luxemburgo, Bósnia e Herzegovina, República Tcheca e Itália; *C. otrantorum* e *C. banethi*, ambos isolados de gato-selvagem na Romênia (PANAIT et al., 2021). Diversas cepas europeias identificadas em países como Espanha, França e Portugal são consideradas como *Cytosporidium* sp. (WANG et al., 2017). Contudo, recentemente, Willi et al. (2022), na Europa Central, especificamente na Suíça, identificaram cepas em gatos domésticos como pertencentes a *C. europaeus* por meio dos genes rRNA 18S, *cox1* e *cytb*, o que não havia sido feito anteriormente para as outras cepas europeias. Isso pode sugerir que *C. europaeus* seja a principal espécie de *Cytosporidium* na Europa. Além disso, no mesmo

estudo, a mesma espécie foi descrita em felinos silvestres na França. Associado aos resultados demonstrados por Panait et al. (2021), isso pode sugerir que felinos silvestres possam ser reservatórios para *C. europaeus* (WILLI et al., 2022).

É importante acrescentar que, apesar desses três marcadores moleculares fornecerem topologias semelhantes, esses genes possuem taxas de mutação distintas, sendo *cox1* e *cytb* mais conservados que o rRNA 18S (WILLI et al., 2022). Quanto à diversidade genética dentro de *C. felis*, 22 genótipos já foram descritos com base nos marcadores ITS-1 e ITS-2, havendo correlação entre alguns genótipos e casos fatais, embora mais evidências sejam necessárias (WANG et al., 2017).

No Brasil, os dois primeiros isolados caracterizados molecularmente foram identificados em uma onça e um tigre, pertencentes ao mesmo zoológico em que foram descritos os dois primeiros casos fatais de *Cytauxzoonose* em leões no Brasil (Peixoto et al., 2007). Os isolados especificamente desses leões não foram caracterizados molecularmente. Desde então, novos isolados têm sido descritos. Porém, apenas sequências de rRNA 18S, ITS-1 e ITS-2 foram caracterizadas até o momento, não fornecendo diversidade interespecífica suficiente dentro do gênero para se analisar se de fato os isolados brasileiros pertencem à espécie *C. felis* ou se constituiriam uma nova espécie. Mais marcadores são necessários, com destaque para os genes mitocondriais, para se analisar filogeneticamente esses grupos. Outro ponto importante é que a maior parte das sequências brasileiras são sequências curtas e identificadas em felinos silvestres, com poucas sequências em felinos domésticos. Contudo, para uma avaliação filogenética mais adequada, é necessário que se obtenha um fragmento completo ou quase completo do gene utilizado. Das sequências brasileiras, apenas duas cumprem esse requisito, sendo um dos poucos fragmentos brasileiros utilizados nas árvores filogenéticas para caracterização de novas espécies de *Cytauxzoon*. Logo, de acordo com André et al. (2022), sugere-se que os isolados brasileiros sejam considerados *Cytauxzoon* sp. e não *C. felis*, apesar de serem próximos filogeneticamente, até que surjam novas evidências moleculares, considerando que se diferem muito quanto à patogenicidade.

Doença Clínica e Patogenia

Quanto à manifestação clínica da doença, os principais sinais incluem febre, inapetência, depressão, letargia, dispneia, vômito, icterícia, taquicardia, dor generalizada,

hipotermia e vocalização. Achados laboratoriais incluem anemia, que pode ser regenerativa ou não regenerativa, trombocitopenia, leucopenia, linfopenia, aumento da atividade enzimática de AST e ALT, azotemia pré-renal, hiperbilirrubinemia, bilirrubinúria e proteinúria. Em exames de imagem como radiografia e ultrassonografia, pode-se observar esplenomegalia (LLORET et al., 2015). A doença clínica é ocasionada pelo desenvolvimento de esquizontes em macrófagos associados a células endoteliais de diversos órgãos. Dessa forma, há obstrução de capilares e ocorrência de vasculites levando a anemia hemolítica, possível coagulação intravascular disseminada e comprometimento circulatório tecidual, em especial dos pulmões, fígado, baço e rins (LLORET et al., 2015; WANG et al., 2017). Associado a esse processo, demonstrou-se a existência de uma resposta inflamatória sistêmica que possivelmente tem papel importante na patogenia da doença (FRONTERA-ACEVEDO et al., 2013). Por sua vez, diferentemente de outros hemoparasitas, a eritroparasitemia ocorre posterior à fase de esquizogonia (WANG et al., 2017).

A doença por *C. felis* nos Estados Unidos é tipicamente fatal, com curso rápido e com a maioria dos gatos indo a óbito dentro de 9 a 15 dias após infecção (LLORET et al., 2015). Contudo, como já dito anteriormente, a maioria das infecções por *Cytauxzoon* sp. fora dos Estados Unidos é subclínica. Infecções de *Cytauxzoon* sp. na Europa se assemelham às infecções de *C. felis* em felinos silvestres. Considerando a possibilidade de eritroparasitemia persistente e não ocorrência de doença, postula-se que o gato doméstico possa ser também um reservatório, além dos felídeos silvestres (CARLI et al., 2012). Para lincos-vermelhos, que são o reservatório natural nos Estados Unidos, a esquizogonia de *C. felis* é comumente transiente com patogenicidade limitada e com fase eritroparasitêmica crônica, sendo *A. americanum* o vetor transmissor (WANG et al., 2017). Porém, há relatos de cytauxzoonose fatal nesses animais (NIETFELD; POLLOCK, 2002). No Brasil, não se sabe quais felídeos seriam reservatórios, porém a onça-pintada poderia desempenhar esse papel (FURTADO et al., 2017).

Diagnóstico, Tratamento e Profilaxia

O diagnóstico pode ser realizado por meio da visualização de merozoítos intraeritrocitários no esfregaço sanguíneo durante a fase aguda, especificamente no período tardio da doença (WANG et al., 2017). Assim, em 50% dos casos de

cytauxzoonose fatal em felinos, não se verifica a presença de merozoítos nas hemácias (FERRIS, 1979). É importante ressaltar que a eritroparasitemia pode permanecer por anos em gatos que se recuperaram da doença. Portanto, a visualização de merozoítos nos esfregaços sanguíneos deve ser associada à presença de sinais clínicos. Adicionalmente gatos com doença subclínica podem apresentar merozoítos intraeritrocitários, ainda que com baixa parasitemia (LLORET et al., 2015). Métodos sorológicos podem não ser úteis na detecção de doença aguda em gatos domésticos uma vez que os animais apresentam baixos títulos nesse período (WANG et al., 2017). Já o diagnóstico molecular por PCR possui maior sensibilidade que a visualização do piroplasma em esfregaço sanguíneo, e maior especificidade. A utilização de marcadores mitocondriais, como *cox3*, pode aumentar a sensibilidade de detecção quando comparado aos marcadores nucleares rRNA 18S, ITS1 e ITS-2 devido ao número de cópias presentes na célula (SCHREEG et al., 2016). É importante ressaltar que não é possível fazer a diferenciação entre *Babesia* sp., *Theileria* sp. e *Cytauxzoon* sp. por meio da microscopia óptica.

Apesar de casos de sucesso no tratamento de cytauxzoonose em gatos domésticos com imidocarb, Cohn et al. (2011) relatou taxa de sobrevivência de apenas 25,9% utilizando esse fármaco quando comparado a 60,4% utilizando uma combinação de azitromicina e atovaquona em gatos na fase aguda, sendo este o tratamento mais recomendado nestes casos (LLORET et al., 2015). A azitromicina tem como alvo os ribossomos mitocondriais enquanto a atovaquona, o citocromo b. Um genótipo de *Cytauxzoon* foi associado a maior taxa de sobrevivência de gatos domésticos quando tratados com azitromicina e atovaquona, o genótipo *cytb1*. Ele se difere de outros genótipos apenas por mutações sinônimas. Apesar de não causarem nenhuma mudança na sequência de aminoácidos, esse tipo de mutação pode afetar a estrutura secundária do mRNA e cinética da tradução (SCHREEG et al., 2013). Contudo, Hartley et al. (2020) identificaram duas mutações não sinônimas associadas à resistência à atovaquona, as mutações M128V e M128I. Em relação à profilaxia, colares acaricidas são a melhor opção, pois atualmente não há nenhuma vacina disponível comercialmente apesar de avanços no seu desenvolvimento (TARIGO et al., 2013).

Considerações Finais

Cytauxzoon spp. constitui um grupo de hemoparasitas de felinos com ampla distribuição. Estão associados a diversas infecções graves em felinos domésticos nos Estados Unidos, geralmente de curso rápido e fatal. Porém, esse padrão epidemiológico não se repete em outras regiões do mundo. No Brasil, embora com diversos casos de infecção por *Cytauxzoon* sp. em felinos domésticos, nenhum caso comprovado de cytauxzoonose nesses animais foi relatado, somente em felinos silvestres. Da mesma forma, não se sabe quais são os vetores envolvidos na transmissão desse agente e tampouco qual espécie de *Cytauxzoon* ocorre no Brasil. Mais estudos são necessários para esclarecer essas relações, em especial os relacionados com transmissão vetorial, caracterização molecular e identificação de possíveis reservatórios.

Referência Bibliográfica

ALLSOPP, M. T. et al. Phylogeny and evolution of the piroplasms. **Parasitology**, v. 108, n. 2, p. 147–152, 1994.

AMARAL, A.S. Caracterizações Morfológica, Morfométrica e Ultraestrutural de Formas Intraeritrocitárias de *Cytauxzoon felis simile*. Tese (Mestrado em Ciências Veterinárias)- Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 2002.

ANDRÉ, M. R. et al. Molecular detection of cytauxzoon spp. in asymptomatic brazilian wild captive felids. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 45, n. 1, p. 234–237, 2009.

ANDRÉ, M. R. et al. 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. et al. Co-infection with arthropod-borne pathogens in domestic cats. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinaria**, v. 26, n. 4, p. 525–531, 2017.

ANDRÉ, M. R. et al. Molecular Detection of Tick-Borne Agents in Cats from Southeastern and Northern Brazil. **Pathogens**, v. 11, n. 1, 2022.

AVMA. **U.S. pet ownership statistics**. Disponível em: <<https://www.avma.org/resources-tools/reports-statistics/us-pet-ownership-statistics>>.

BIRKENHEUER, A. J. et al. Cytauxzoon felis infection in cats in the mid-Atlantic states:

34 Cases (1998-2004). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 228, n. 4, p. 568–571, 2006.

BLOUIN, E. F. et al. Transmission of *Cytauxzoon* Cats by from Bobcats , to Domestic and Distribution of Larvae of *Trichinella* sp . in Cougars , *Felis concolor* L ., and Grizzly Bears , *Ursus arctos* L ., in Alberta. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 20, n. 3, p. 241–242, 1984.

BLOUIN, E. F. et al. Evidence of a limited schizogonous cycle for *Cytauxzoon felis* in bobcats following exposure to infected ticks. **Journal of wildlife diseases**, v. 23, n. 3, p. 499–501, 1987.

BRASIL, I. P. **Censo Pet**. Disponível em: <<http://institutopetbrasil.com/imprensa/censo-pet-1393-milhoes-de-animais-de-estimacao-no-brasil/>>.

CARLI, E. et al. *Cytauxzoon* sp. infection in the first endemic focus described in domestic cats in Europe. **Veterinary Parasitology**, v. 183, n. 3–4, p. 343–352, 2012.

CARLI, E. et al. *Cytauxzoon* sp. infection in two free ranging young cats: clinicopathological findings, therapy and follow up. **Türkiye parazitolojii dergisi / Türkiye Parazitoloji Derneği = Acta parasitologica Turcica / Turkish Society for Parasitology**, v. 38, n. 3, p. 185–189, 2014.

CRIADO-FORNELIO, A. et al. The “expanding universe” of piroplasms. **Veterinary Parasitology**, v. 119, n. 4, p. 337–345, 2004.

COHN, L. A. et al. Efficacy of Atovaquone and Azithromycin or Imidocarb Dipropionate in Cats with Acute *Cytauxzoonosis*. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 25, n. 1, p. 55–60, 2011.

DE OLIVEIRA, C.M. Infecção por Piroplasmídeos em Cães e Gatos no Distrito Federal. Tese (Doutorado em Ciências Animais) - Faculdade de Agronomia e Veterinária, Universidade de Brasília. Brasília, 2021.

DÍAZ-REGAÑÓN, D. et al. Molecular detection of *Hepatozoon* spp. and *Cytauxzoon* sp. in domestic and stray cats from Madrid, Spain. **Parasites and Vectors**, v. 10, n. 1, p. 1–9, 2017.

DRISCOLL, C. A. et al. The Taming of the Cat. **Scientific American**, v. 300, n. 6, p. 68–75, 2009.

FERRIS, D. H. A progress report on the status of a new disease of American cats: Cytauxzoonosis. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v. 1, n. 4, p. 269–276, 1979.

FILONI, C. et al. Surveillance using serological and molecular methods for the detection of infectious agents in captive Brazilian neotropic and exotic felids. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 24, n. 1, p. 166–173, 2012.

FRONTERA-ACEVEDO, K. et al. Systemic immune responses in Cytauxzoon felis-infected domestic cats. **American Journal of Veterinary Research**, v. 74, n. 6, p. 901–909, 2013.

FURTADO, M. M. et al. Is the free-ranging jaguar (*Panthera onca*) a reservoir for *Cytauxzoon felis* in Brazil? **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 8, n. 4, p. 470–476, 2017.

GALLUSOVÁ, M. et al. *Cytauxzoon* Infections in Wild Felids from Carpathian-Danubian-Pontic Space: Further Evidence for a Different *Cytauxzoon* Species in European Felids. **Journal of Parasitology**, v. 102, n. 3, p. 377–380, 2016.

GARNER, M. M. et al. Fatal cytauxzoonosis in a captive-reared white tiger (*Panthera tigris*). **Veterinary Pathology**, v. 33, n. 1, p. 82–86, 1996.

GROOTENHUIS, J.G. et al. Characteristics of *Theileria* species (eland) infections in eland and cattle. **Res Vet Sci**, v.27 ,p.59-68, 1979

HABER, M. D. et al. The detection of *Cytauxzoon felis* in apparently healthy free-roaming cats in the USA. **Veterinary Parasitology**, v. 146, n. 3–4, p. 316–320, 2007.

HARTLEY, A. N.; MARR, H. S.; BIRKENHEUER, A. J. *Cytauxzoon felis* cytochrome b gene mutation associated with atovaquone and azithromycin treatment. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 34, n. 6, p. 2432–2437, 2020

JAKOB, W.; WESEMEIER, H. H. A fatal infection in a bengal tiger resembling cytauxzoonosis in domestic cats. **Journal of Comparative Pathology**, v. 114, n. 4, p. 439–444, 1996.

JALOVECKA, M. et al. Babesia Life Cycle – When Phylogeny Meets Biology. **Trends in Parasitology**, v. 35, n. 5, p. 356–368, 2019.

JARDINE, J.E. The pathology of cytauxzoonosis in a tsessebe (*Damaliscus lunatus*). **J S**

Afr Vet Assoc, v. 63, p.49-51, 1992.

KELLY, P. et al. Molecular detection of tick-borne pathogens in captive wild felids, Zimbabwe. **Parasites and Vectors**, v. 7, n. 1, p. 1–6, 2014.

KETZ-RILEY, C. J. et al. An intraerythrocytic small piroplasm in wild-caught Pallas's cats (*Otocolobus manul*) from Mongolia. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 39, n. 2, p. 424–430, 2003.

KIER, A.B., WIGHTMAN, S.R.; WAGNER, J.E. Interspecies transmission of *Cytauxzoon felis*. **Am J Vet Res.**, v. 43, p. 102-5, 1982.

KOCAN, A. A. et al. A Redescription of Schizogony of *Cytauxzoon felis* in the Domestic Cat. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 653, n. 1, p. 161–167, 1992.

LLORET, A. et al. *Cytauxzoonosis* in cats: ABCD guidelines on prevention and management. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 17, n. 7, p. 637–641, 2015.

MAIA, L. M. P. et al. *Cytauxzoon felis* and “*Candidatus Mycoplasma haemominutum*” coinfection in a Brazilian domestic cat (*Felis catus*). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinaria**, v. 22, n. 2, p. 289–291, 2013.

MALANGMEI, L. et al. Molecular Characterization of Hemoparasites and Hemoplasmas Infecting Domestic Cats of Southern India. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 7, n. January, p. 1–11, 2021.

MCCULLY, R.M.; KEEP, M.E., BASSON, P.A. *Cytauxzoonosis* in a giraffe (*Giraffa camelopardalis* (Linnaeus, 1758)) in Zululand. **Onderstepoort J Vet Res**, v. 37, p. 7-9, 1970.

MEINKOTH, J. et al. Cats surviving natural infection with *Cytauxzoon felis*: 18 cases (1997-1998). **Journal of veterinary internal medicine / American College of Veterinary Internal Medicine**, v. 14, n. 5, p. 521–525, 2000.

MELI, M. L. et al. Feline leukemia virus and other pathogens as important threats to the survival of the critically endangered Iberian lynx (*Lynx pardinus*). **PLoS ONE**, v. 4, n. 3, 2009.

MILLÁN, J. et al. Prevalence of infection and 18S rRNA gene sequences of *Cytauxzoon* species in Iberian lynx (*Lynx pardinus*) in Spain. **Parasitology**, v. 134, n. 7, p. 995–1001,

2007.

MOGHADDAM, M. R.; ZAEEMI, M.; RAZMI, G. R. Preliminary study of Cytauxzoon felis infection in outdoor cats in Mashhad, Iran. **Parasitology Research**, v. 119, n. 12, p. 4177–4183, 2020.

NEITZ, W.O; THOMAS, A.D. Cytauxzoon sylvicaprae gen. nov., spec. nov., a protozoon responsible for a hitherto undescribed disease in the duiker, Sylvicapra grimmia (Linné). **Onderstepoort J Vet Sci Anim Ind**, v.23, p.63-76, 1948.

NEITZ, W. O. Theileriosis, gonderioses and cytauxzoonoses. **Onderstepoort J. Vet. Res.**, v.27 p.275-430, 1957.

NIETFELD, J. C.; POLLOCK, C. Fatal cytauxzoonosis in a free-ranging bobcat (*Lynx rufus*). **Journal of Wildlife Diseases**, v. 38, n. 3, p. 607–610, 2002.

NIJHOF, A. M. et al. Molecular characterization of Theileria species associated with mortality in four species of African antelopes. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 43, n. 12, p. 5907–5911, 2005.

PANAIT, L. C. et al. First report of Cytauxzoon sp. infection in Germany: organism description and molecular confirmation in a domestic cat. **Protozoology**, v. 119, p. 3005-3011, 2020.

PANAIT, L. C. et al. Three new species of Cytauxzoon in European wild felids. **Veterinary Parasitology**, v. 290, n. September 2020, 2021.

PEIXOTO, P. V. et al. Fatal cytauxzoonosis in captive-reared lions in Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 145, n. 3–4, p. 383–387, 2007.

RASSOULI, M. et al. Cytauxzoon felis in a stray cat in Iran. **Comparative Clinical Pathology**, v. 24, n. 1, p. 75–77, 2015.

REICHARD, M. V. et al. A new species of Cytauxzoon from Pallas' cats caught in Mongolia and comments on the systematics and taxonomy of piroplasmids. **Journal of Parasitology**, v. 91, n. 2, p. 420–426, 2005.

REICHARD, M. V. et al. Transmission of Cytauxzoon felis to a domestic cat by Amblyomma americanum. **Veterinary Parasitology**, v. 161, n. 1–2, p. 110–115, 2009.

REICHARD, M. V. et al. Confirmation of Amblyomma americanum (Acari: Ixodidae)

as a vector for cytauxzoon felis (Piroplasmorida: Theileriidae) to domestic cats. **Journal of Medical Entomology**, v. 47, n. 5, p. 890–896, 2010.

REINE, N. J. Infection and blood transfusion: A guide to donor screening. **Clinical Techniques in Small Animal Practice**, v. 19, n. 2, p. 68–74, 2004.

SCHREEG, M. E. et al. Pharmacogenomics of Cytauxzoon felis cytochrome b: Implications for atovaquone and azithromycin therapy in domestic cats with cytauxzoonosis. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 51, n. 9, p. 3066–3069, 2013.

SCHREEG, M. E. et al. Mitochondrial genome sequences and structures aid in the resolution of Piroplasmida phylogeny. **PLoS ONE**, v. 11, n. 11, p. 1–27, 2016.

SHOCK, B. C. et al. Distribution and prevalence of Cytauxzoon felis in bobcats (*Lynx rufus*), the natural reservoir, and other wild felids in thirteen states. **Veterinary Parasitology**, v. 175, n. 3–4, p. 325–330, 2011.

SPOONER, R. L. et al. Bovine mononuclear cell lines transformed by *Theileria parva* or *Theileria annulata* express different subpopulation markers. **Parasite Immunology**, v. 10, n. 6, p. 619–629, 1988.

SPOONER, R. L. et al. *Theileria annulata* and *T. parva* infect and transform different bovine mononuclear cells. **Immunology (Oxford)**, v. 66, n. 2, p. 284–288, 1989.

TARIGO, J. L. et al. A Novel Candidate Vaccine for Cytauxzoonosis Inferred from Comparative Apicomplexan Genomics. **PLoS ONE**, v. 8, n. 8, p. 1–9, 2013.

VARSHNEY, J.P.; DESHMUKH, V.V.; CHAUDHARY, P.S. Fatal cytauxzoonosis in a kitten. **Intas Polivet**, v.10, p.392–393, 2009.

WAGNER, J.E. A fatal cytauxzoonosis-like disease in cats. **J Am Vet Med Assoc**, v.168, p.585–588, 1976.

WANG, J. L. et al. Two tales of cytauxzoon felis infections in domestic cats. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 30, n. 4, p. 861–885, 2017.

WARDROP, K. J. et al. Canine and feline blood donor screening for infectious disease. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 19, n. 1, p. 135–142, 2005.

WASTLHUBER, J. History of domestic cats and cat breeds. In: **Feline Husbandry: Diseases and management in the multiple-cat environment**. [s.l.] Goleta: American

Veterinary Publications, 1991. p. 1–59.

WILLI, B. et al. Cytauxzoon europaeus infections in domestic cats in Switzerland and in European wildcats in France: a tale that started more than two decades ago. **Parasites and Vectors**, v. 15, n. 1, p. 1–17, 2022.

ZAEEMI, M.; RAZMI, G. R.; KHOSHNEGAH, J. The first detection of Cytauxzoon felis in a wild cat (*Felis silvestris*) in Iran. **Comparative Clinical Pathology**, v. 24, n. 1, p. 181–184, 2015.