

Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького.

Серія: Ветеринарні науки

Scientific Messenger of Lviv National University
of Veterinary Medicine and Biotechnologies.

Series: Veterinary sciences

ISSN 2518-7554 print
ISSN 2518-1327 online

doi: 10.32718/nvlvet9719
<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 619:636.7:616.993.192.6:616.155.13

Poikilocytosis under dogs' spontaneous babesiosis

O. A. Dubova, D. V. Feshchenko, O. A. Zghozinska, O. V. Pinsky, T. C. Budnik, I. V. Chala

Zhytomyr National Agroecological University, Zhytomyr, Ukraine

Article info

Received 10.02.2020
Received in revised form
09.03.2020
Accepted 10.03.2020

Zhytomyr National Agroecological
University, Korolyova Str., 39,
Zhytomyr, 10025, Ukraine.
Tel.: +38-098-788-55-95
E-mail: oxdubova@gmail.com

Dubova, O. A., Feshchenko, D. V., Zghozinska, O. A., Pinsky, O. V., Budnik, T. C., & Chala, I. V. (2020). Poikilocytosis under dogs' spontaneous babesiosis. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 22(97), 118–124. doi: 10.32718/nvlvet9719

The article presents the results of studies of changes in the shape of red blood cells during spontaneous babesiosis in dogs. It was found that in 2019, seasonal outbreaks are caused and characterized by the presence of two waves – spring-summer with a peak in June and autumn with a peak in October. The intensity of parasitemia increases synchronously with the extensity of infestation in the first half of the year (a narrow direct correlation), in the future it falls and does not correlate with outbreaks of animal disease. Clinically, the spring-summer wave of the disease is characterized by an acute-subacute typical course with pronounced classic clinical signs. The autumn wave had a predominantly subacute-atypical course, with the development of severe complications with signs of hepatopathy and acute renal insufficiency, cardiomyopathy and myocarditis, lesions of the nervous system, the development of shock with a significant tendency to decompensation. Changes in the shape of red blood cells are bright and indicative markers of the state of animals on babesiosis. Poikilocytosis was detected in 92.3 % of sick dogs. The most common changes are acanthocytosis and vacuolization of erythrocytes (irreversible forms), which qualitatively assess the degree of damage to vital organs. Echinocytes are reversible forms that appear in the early stages and determine the development of renal and hepatic pathologies. Stomatocytes accompany the development of inflammatory and dystrophic pathologies, qualitatively characterize the degree of hemolytic anemia. Their intensity is synchronous with the extent of the invasion. The appearance of schizocytes is a formidable symptom that is pathognomonic for disseminated intravascular coagulation syndrome. This marker requires immediate use of intensive care. The assessment of qualitative changes in the form of red blood cells, the calculation of the intensity of erythrocyte lesions allows you to determine the severity of the condition of the body of sick dogs, the degree of metabolic disorders, hemolytic anemia, hepatopathy, the severity of intoxication, uremic syndrome, spleen hyperplasia, as well as identify the development of DIC syndrome, kidney failure and “shock kidney”. Such an assessment is necessary for making timely and adequate decisions regarding therapeutic measures for spontaneous babesiosis of dogs.

Key words: babesiosis, dog, poikilocytes, acanthocytes, vacuolization, stomatocytes, echinocytes, schizocytes.

Пойкілоцитоз за спонтанного бабезіозу собак

О. А. Дубова, Д. В. Феценко, О. А. Згозінська, О. В. Пінський, Т. С. Буднік, І. В. Чала

Житомирський національний агроєкологічний університет, м. Житомир, Україна

У статті наведено результати досліджень змін форми еритроцитів за перебігу спонтанного бабезіозу в собак. Установлено, що в 2019 році спалахи хвороби сезонно зумовлені та характеризуються наявністю двох хвиль – весняно-літньої з піком у червні та осінньою з піком у жовтні. Інтенсивність паразитемії наростає синхронно з екстенсивністю інвазії у перше півріччя (тісна пряма кореляція), надалі вона падає і не корелює зі спалахами захворюваності тварин. Клінічно весняно-літня хвиля хвороби характеризується гостро-підгострим типовим перебігом, з вираженими класичними клінічними ознаками. Осіння хвиля мала переважно підгостро-атиповий перебіг, з розвитком важких ускладнень з ознаками гепатопатії та гострої ниркової недостатності,

кардіоміопатії та міокардиту, уражень нервової системи, розвитком шокового стану зі значною тенденцією до декомпенсації. Зміни форми еритроцитів є яскравими і показовими маркерами стану тварин за бабезіозу. Пойкілоцитоз виявлено у 92,3 % хворих собак. Найпоширеніші зміни – акантоцитоз та вакуолізація еритроцитів (незворотні форми), що якісно оцінюють ступінь ураження життєво важливих органів. Ехіноцити – оборотні форми, що з'являються на ранніх стадіях і визначають розвиток нирково-печінкових патологій. Стоматоцити супроводжують розвиток запальних та дистрофічних патологій, якісно характеризують ступінь гемолітичної анемії. Їх інтенсивність синхронна з екстенсивністю інвазії. Поява шизоцитів є рідким симптомом, що патогномонічний для синдрому дисемінованого внутрішньосудинного згортання крові. Цей маркер вимагає негайного застосування інтенсивної терапії. Проведення оцінки якісних змін форми еритроцитів, підрахунок інтенсивності еритроцитарних уражень дозволяє визначити важкість стану організму хворих собак, ступінь порушення обміну речовин, гемолітичної анемії, гепатопатії, важкість інтоксикації організму, уремичного синдрому, гіперплазії селезінки, а також ідентифікувати розвиток синдрому ДВЗ, ниркової недостатності та “шокової нирки”. Така оцінка необхідна для прийняття своєчасного і адекватного рішення щодо проведення терапевтичних заходів за спонтанного бабезіозу собак.

Ключові слова: бабезіоз, собака, пойкілоцити, акантоцити, вакуолізація, стоматоцити, ехіноцити, шизоцити.

Вступ

Аналіз та інтерпретація гематологічних показників займають одне з провідних місць у клінічній практиці для розуміння реакції організму на той чи інший вплив (хворобу, фактор навколишнього середовища). Досить інформативними показниками є морфологічні зміни еритроцитів, які виникають за розвитку різноманітних патологій (Guido & Tomaiuolo, 2009; Barabino et al., 2010; Hosseini & Feng, 2012; Tomaiuolo, 2014).

Пойкілоцитоз – це зміна класичної дископодібної форми еритроцитів різного ступеня вираження. Деякі типи пойкілоцитів є специфічними для конкретних хвороб, інші характерні для багатьох патологій (McHedlishvili & Maeda, 2001; Guido & Tomaiuolo, 2009; Moroz et al., 2009; Hosseini & Feng, 2012; Wu & Feng, 2013; Christopher et al., 2014; Tomaiuolo, 2014; Jeican et al., 2017; Tsui et al., 2020).

Бабезіоз собак надзвичайно поширений у Поліському регіоні України, де присутній потужний ареал іксодових кліщів – специфічних векторів розповсюдження збудника (Schetters et al., 2009).

Збудник – *Babesia canis* Piana et Galli-Valerio, 1895, є ендоглобулярним паразитом. Таким чином, перебіг бабезіозу та його наслідки для здоров'я тварин обумовлюються спрямованим впливом збудника на еритроцити через особливості свого паразитування. Отже, первинна індикація поліорганичних порушень за бабезіозу, прогноз і вибір протоколу лікування засновані на аналізі морфологічних показників крові ураженої тварини (Schetters et al., 2009; Dubova & Duboviy, 2018; Dubova et al., 2019).

Мета роботи – виявити патологічні форми еритроцитів за спонтанного бабезіозу собак, дослідити їх співвідношення, визначити зв'язок пойкілоцитозу з інтенсивністю паразитемії та річною екстенсивністю інвазії.

Матеріал і методи досліджень

Матеріалом для досліджень були собаки, яким в умовах навчально-науково-виробничої клініки ветеринарної медицини Поліського національного університету за період 2019 року був встановлений діагноз “гострий спонтанний бабезіоз” (n = 620).

Клінічні дослідження тварин проводили за загальною схемою.

Лабораторно досліджували тонкі фіксовані мазки крові, забарвлені за методом Романовського–Гімзи. Мікроскопію мазків проводили з використанням бінокулярного цифрового мікроскопу EX30-V.

Статистичні матеріали амбулаторних записів опрацьовували методами варіаційної статистики з використанням ІТ-додатку Statistica 13.3. Достовірність отриманих даних оцінювали за F-критерієм Фішера на 5 % довірчому рівні.

Результати та їх обговорення

За період 2019 року захворюваність собак на бабезіоз була високою – всього 620 випадків. Однак сезонна екстенсивність інвазії (ЕІ) відрізнялася в динаміці: перший річний період підвищення ЕІ тривав з лютого до червня (рис. 1). Після відносного двомісячного “затишшя” у липні та серпні, другий сплеск бабезіозу відбувся у вересні-листопаді.

Отже, можна стверджувати, що бабезіоз собак в Поліському регіоні характеризується двома потужними хвилями – весняно-літньою з піком у червні та осінньою з піком у жовтні. Ці хвилі збігаються з особливостями біологічного циклу іксодових кліщів. Наростання ЕІ у лютому спричиняється певним кліматично обумовленим розширенням часу активності кліщів. Спад захворюваності у липні-серпні викликаний спекотною погодою та перебуванням кліщів в стані діапаузи. Аналогічно – у зимовий період зниження ЕІ викликано впаданням кліщів у анабіоз. Оскільки кліматична зима останнім часом характеризується досить теплою погодою, певна частина векторів залишається активною, що й зумовлює спорадичні спалахи бабезіозу серед собак.

Клінічними дослідженнями було встановлено певні особливості перебігу спонтанного бабезіозу у собак. У період весняно-літньої хвилі хвороба перебігала переважно у гострій та підгострій формі, з вираженими класичними ознаками – лихоманкою піретичного типу, анемією гемолітичного типу з подальшим розвитком жовтяниці паренхіматозно-жовтяничного типу (Schetters et al., 2009; Dubova, 2016; Dubova & Duboviy, 2018), гемоглобінурією, а також симптомами загальної інтоксикації організму. Летальність становила близько 7 %.

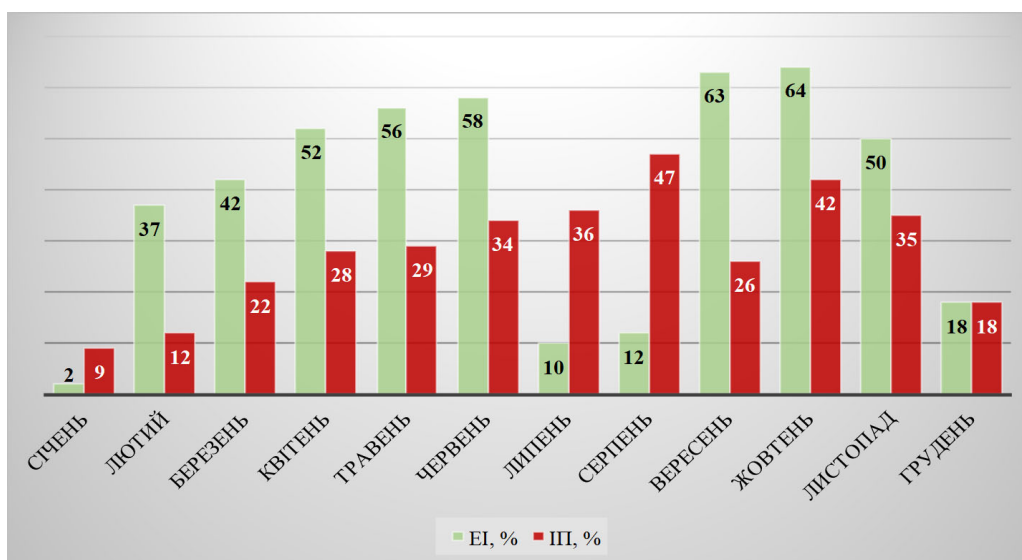


Рис. 1. Екстенсивність інвазії (ЕІ) та інтенсивності паразитемії (ІП) за бабезіозу собак у період 2019 року, %

Під час осінньої хвилі клінічні ознаки були виражені помірно або слабо, часто взагалі атипові. Згодом розвивалися досить важкі ускладнення з ознаками гепатопатії та ниркової недостатності (псевдогепаторенальний синдром (Dubova & Duboviy, 2018), кардіоміопатії та міокардиту, уражень нервової системи (парестезії, судоми, паралічі тощо), розвитку шокового стану зі значною тенденцією до декомпенсації. Летальність становила до 15 %.

Певні динамічні зміни також встановлені в інтенсивності паразитемії (ІП). На діаграмі (рис. 1) наведено середній показник ІП, але діапазон був досить широким (5–50 %), коефіцієнт варіації становив близько 1,0.

ІП динамічно та синхронно з ЕІ зростала до червня 2019 р. ($r = 0,9$; кореляція високого ступеня). Надалі ЕІ різко знижувалась, але ІП продовжувала зростати і

досягала свого піку у серпні. У вересні на фоні зростання ЕІ та підгостро-атипового перебігу бабезіозу ІП після стабільного 9-місячного росту різко знизилась, що могло бути пов'язане з надходженням нової популяції збудника на початку періоду другої хвилі біологічного розвитку іксодових кліщів. Ймовірно, ІП не є відображенням важкості та гостроти бабезіозу, які більше залежать від вірулентності збудника. Це твердження вимагає додаткових досліджень.

Досить яскравими і показовими маркерами за бабезіозу є зміни форми еритроцитів (Guido & Tomaiuolo, 2009; Barabino et al., 2010; Hosseini & Feng, 2012; Christopher et al., 2014). Пойкілоцитоз був виявлений у 572 собак (92,3 %). Найпоширенішими були незворотні трансформації еритроцитів – вакуолізація та поява акантоцитів (рис. 2).

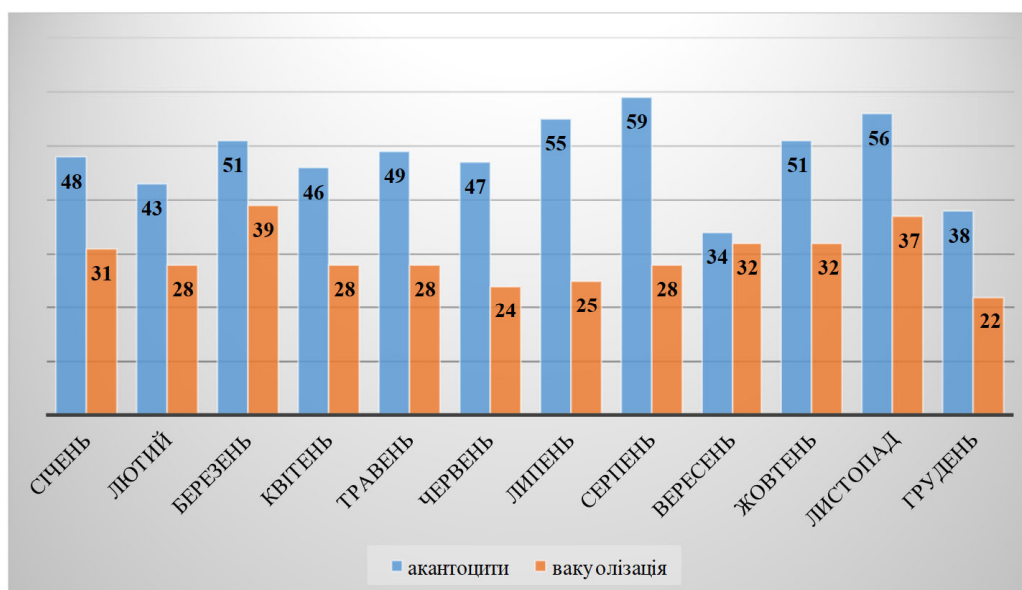


Рис. 2. Акантоцитоз і вакуолізація еритроцитів за бабезіозу собак у період 2019 року (n = 100), % від зразків з виявленими різновидами пойкилоцитів

Відомо (Tsui et al., 2020; Christopher et al., 2014), що акантоцити – це змінені сфероїдальні еритроцити, поверхня яких має зубчасту форму (рис. 3). Об'єм, площа поверхні, вміст гемоглобіну в них зазвичай нормальні.

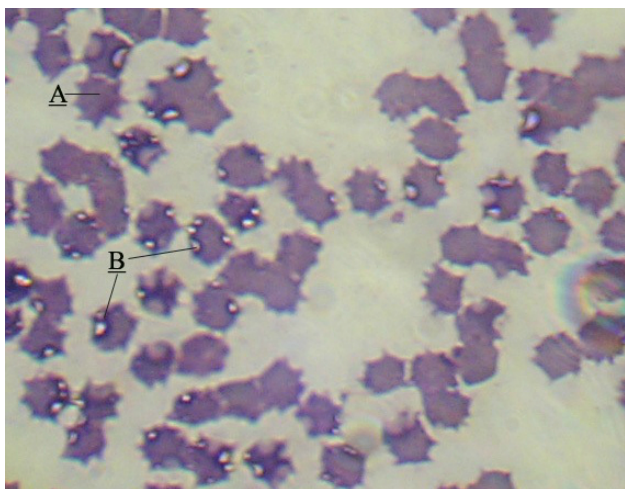


Рис. 3. Акантоцити у фіксованому мазку крові собаки, хворої на бабезіоз: А – акантоцит, В – бабезії (азур II–еозин за Романовським, х 600). Оригінал

Акантоцити з'являються за важких гемолітичних анемії, хвороб печінки, у пацієнтів за спленомегалії та після спленектомії. Враховуючи, що різниця між *min* та *max* значеннями інтенсивності акантоцитозу у наших дослідженнях недостовірні, можна вважати, що впродовж року показник перебував у стабільних межах (35–60 %). Найвищі показники акантоцитозу виявлені після піку хвиль ЕІ, що може вказувати на розвиток ускладнень бабезіозу, відобразником яких і є виявлений показник.

Таким чином, виявляючи акантоцити за бабезіозу собак, можна якісно оцінити ступінь розвитку гемолітичної анемії, печінкової недостатності (Christopher et al., 2014; Dubova, 2016; Dubova & Duboviy, 2018; Tsui et al., 2020), функціонування селезінки як фільтру

крові (Christopher et al., 2014; Dubova, 2016; Dubova et al., 2019). У нашій попередній роботі було показано: за бабезіозу собак селезінка втрачає свої фізіологічні функції внаслідок гіперстимуляції з подальшим розвитком спленомегалії (Dubova, 2016).

Майже синхронно з ЕІ були виявлені коливання показника інтенсивності вакуолізації еритроцитів: ~20–40 % (рис. 2). Вакуолізація (рис. 4) визначає некробіотичні процеси у клітинах і масово з'являється за важких інтоксикацій (Dubova & Duboviy, 2018; Tsui et al., 2020). За спонтанного бабезіозу собак ця патологія може якісно визначати потужність ендогенної інтоксикації організму і опосередковано характеризувати ступінь ураження нирок, печінки та інших життєво важливих органів.

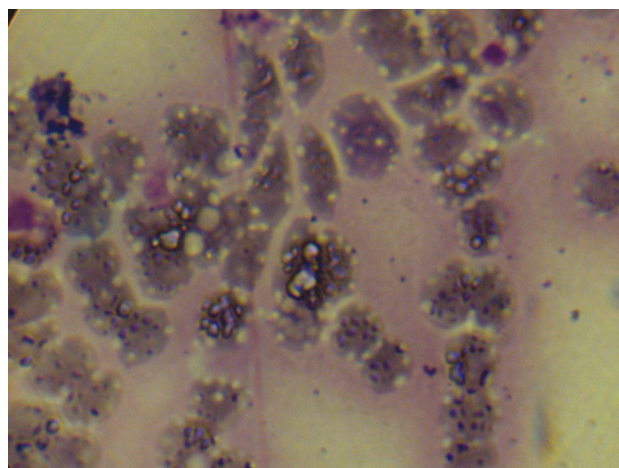


Рис. 4. Вакуолі в еритроцитах у фіксованому мазку крові собаки, хворої на бабезіоз (азур II–еозин за Романовським, х 600). Оригінал.

Інші форми пойкилоцитів за бабезіозу траплялися або рідше (шизоцити), або мали зворотний (ехіноцити) чи частково зворотний (стоматоцити) характер (рис. 5).

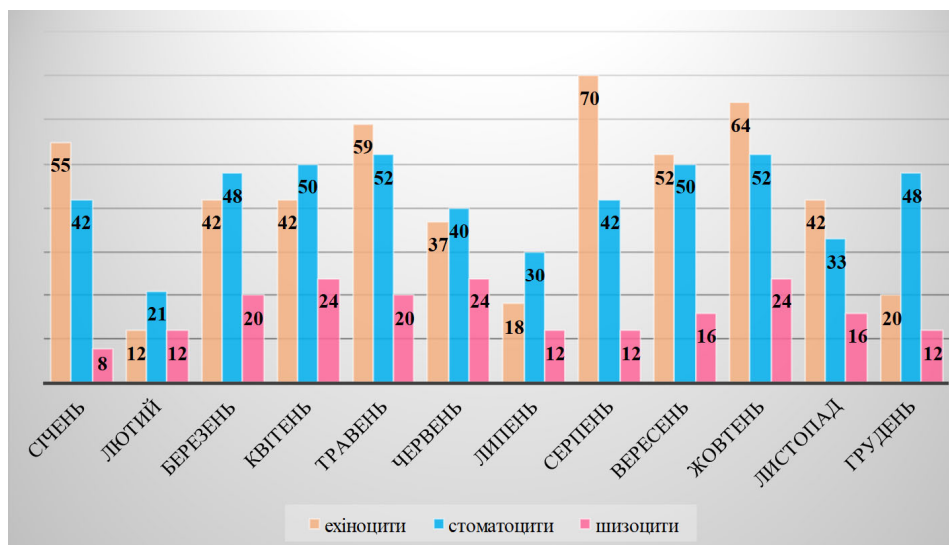


Рис. 5. Категорії пойкилоцитів за бабезіозу собак у період 2019 року (n = 100), %

Ехіноцити – це сферичні клітини, на поверхні яких досить регулярно розміщується 30–50 спікул (рис. 6). Стівідношення поверхні до об’єму нормальне. Трансформація з дискоциту в ехіноцит на початковій стадії оборотна. Надалі ехіноцит перетворюється у необоротну форму – акантоцит (Owen et al., 1985; Hosseini & Feng, 2012; Christopher et al., 2014). Ехіноцити з’являються за підвищення у плазмі крові рівня залишкового азоту (Owen et al., 1985). Вони можуть бути якісними відобразами стану уремії за бабезіозу собак.

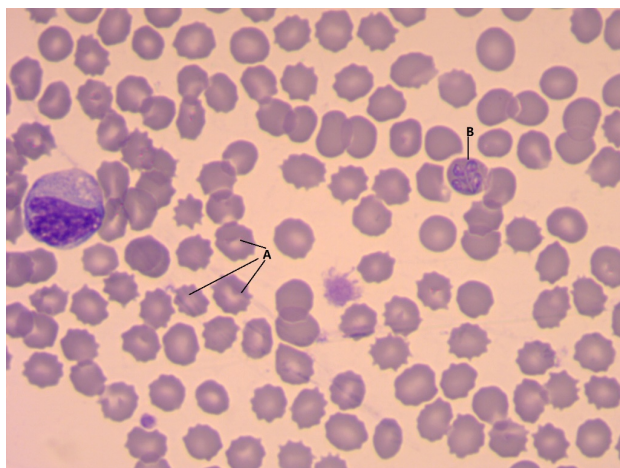


Рис. 6. Ехіноцити у фіксованому мазку крові собаки, хворої на бабезіоз: А – ехіноцит, В – бабезії (азур II–еозин за Романовським, х 600). *Оригінал*

У наших дослідженнях встановлено значну інтенсивність ехіноцитозу, котра змінюється майже синхронно з ЕІ. Враховуючи особливості патогенезу бабезіозу собак, поява ехіноцитів є явищем патогенетично закономірним. Вони з’являються вже на ранніх етапах розвитку хвороби. Між інтенсивністю появи ехіноцитів та іншими пойкилоцитами залежність слабка або зовсім відсутня.

Стоматоцити – це змінені еритроцити з щілиноподібним пелором (центральною просвітлою), який нагадує форму рота (рис. 7). Об’єм та площа поверхні стоматоцитів збільшені на 20–30 %.

Причиною появи таких пойкилоцитів вважають підвищення проникності мембрани еритроцитів для іонів Натрію та Калію (Moroz et al., 2009; Tomaiuolo, 2014; Moroz et al., 2017; Geekiyanage et al., 2019). Ці клітини опосередковано вказують на розвиток гемолітичної анемії, запальних і дистрофічних хвороб печінки, кардіоваскулярних патологій (Tomaiuolo, 2014; Tsui et al., 2020).

Впродовж 2019 р. стоматоцитоз коливався хвилеподібно (рис. 5). Весняна хвиля охоплює березень–червень з піком у травні, осіння – серпень–листопад з піком у жовтні. Також присутня зимова хвиля – грудень–січень. Таким чином, поява стоматоцитів якісно ілюструє патологічні процеси, котрі супроводжують спалах бабезіозу та його ускладнення.

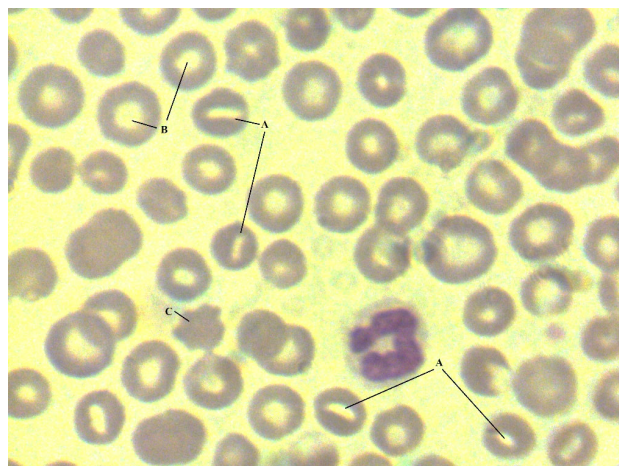


Рис. 7. Стоматоцити у фіксованому мазку крові собаки, хворої на бабезіоз: А – стоматоцит, В – гіпохромні еритроцити, С – ехіноцит (азур II–еозин за Романовським, х 600). *Оригінал*

Шизоцити – це дрібні фрагменти еритроцитів або дегенеративно змінені клітини неправильної форми діаметром 2–3 мкм (рис. 8). Їх наявність патогномічна для синдрому дисемінованого внутрішньосудинного згортання крові (ДВЗ) і є свідченням розвитку реактивного гломерулонефриту та синдрому “шокової нирки” (Ayalev & Michelle, 2004; Tomaiuolo, 2014; Lesesve et al., 2014; Levi, 2018). Ці патології здатні до лавиноподібного розвитку та мають фатальні наслідки (Schetters et al., 2009; Wu & Feng, 2013; Dubova, 2016; Levi, 2018). Отже, виявлення навіть невеликої кількості шизоцитів вимагає застосування інтенсивної терапії.

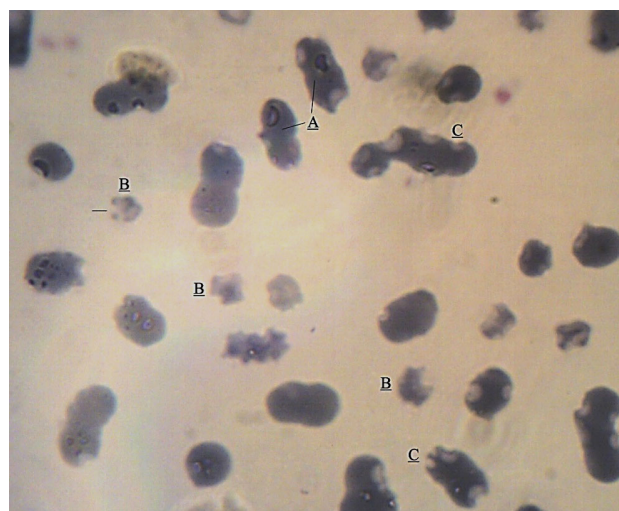


Рис. 8. Шизоцити у фіксованому мазку крові собаки, хворої на бабезіоз: А – бабезії в еритроцитах, В – шизоцити, С – крайова вакуолізація еритроцитів (азур II–еозин за Романовським, х 600). *Оригінал*

У піддослідних собак, хворих на бабезіоз, інтенсивність шизоцитемії (8–24 %) коливалася майже синхронно з епізоотичними хвилями (рис. 5), відображаючи важкий перебіг спонтанного бабезіозу з обережним прогнозом.

Узагальнюючи вищевикладене, зазначимо, що у 2019 році були дві хвилі спалаху бабезіозу – весняно-літня з піком у червні та осіння з піком у жовтні. Синхронно з ЕІ проявляється інтенсивність появи різних видів пойкилоцитів. Якісні зміни еритроцитів характеризують важкий стан організму хворих собак – порушення обміну речовин, гемолітичну анемію, гепатопатію, важку інтоксикацію організму, уремічний синдром, гіперплазію селезінки, розвиток синдрому ДВЗ, ниркової недостатності та “шокової нирки”.

Висновки

1. Основними формами пойкилоцитів за спонтанного бабезіозу собак є акантоцити, вакуольні еритроцити, стоматоцити, ехіноцити та шизоцити. Їх поява якісно відображає стан організму хворих тварин, масштабні зрушення метаболізму і ураження життєво важливих органів та систем.

2. Інтенсивність пойкилоцитозу за видами патологічно змінених еритроцитів коливається синхронно до сезонної екстенсивності інвазії бабезіозу, з двома хвилями спалаху: весняно-літньою та осінньою.

3. Визначення якісних змін еритроцитів за спонтанного бабезіозу собак може бути експрес-тестом оцінки загального стану організму для своєчасного і адекватного застосування певних терапевтичних заходів.

Перспективи подальших досліджень полягають у встановленні корелятивного зв'язку між патологічно зміненими формами еритроцитів та біохімічним профілем загального стану хворої тварини.

References

- Ayalew, T., & Michelle, A. E. (2004). Schistocytes on the Peripheral Blood Smear. *Mayo Clinic Proceedings*, 79(6), 809. doi: 10.4065/79.6.809.
- Barabino, G. A., Platt, M. O., & Kaul, D. K. (2010). Sickle cell biomechanics. *Annu. Rev. Biomed. Eng.*, 12, 345–367. doi: 10.1146/annurev-bioeng-070909-105339.
- Christopher, M. M., Hawkins, M. G., & Burton, A. G. (2014). Poikilocytosis in rabbits: prevalence, type, and association with disease. *PloS one*, 9(11), e112455. doi: 10.1371/journal.pone.0112455.
- Dubova, O. (2016). Shock and DIC-syndrome as a pathogenetic axis of dogs babesiosis. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 18, 2(66), 70–73. doi: 10.15421/nvlvet6615 (in Ukrainian).
- Dubova, O. A., Zghozinska, O. A., Kovalova, L. O., & Kovalov, P. V. (2019). Splenomegalia yak uskladnennia za babeziozu sobak. *Visnyk PDAA*, 2, 126–132. doi: 10.31210/visnyk2019.02.16 (in Ukrainian).
- Dubova, O., & Duboviy, A. (2018). Hepathopathy and nephropathy in the dogs' babesiosis: pseudohepato-renal syndrome. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 20(83), 102–107. doi: 10.15421/nvlvet8320 (in Ukrainian).
- Geekiyange, N.M., Balanant, M.A., Sauret, E., Saha, S., Flower, R., Lim, C.T., et al. (2019). A coarse-grained red blood cell membrane model to study stomatocyte-discocyte-echinocyte morphologies. *PLoS one*, 14(4), e0215447. doi: 10.1371/journal.pone.0215447.
- Guido, S., & Tomaiuolo, G. (2009). Microconfined flow behavior of red blood cells in vitro. *C. R. Phys.*, 10, 751–763. doi: 10.1016/j.crhy.2009.10.002.
- Hosseini, S. M., & Feng, J. J. (2012). How malaria parasites reduce the deformability of infected red blood cells. *Biophys. J.*, 103(1), 1–10. doi: 10.1016/j.bpj.2012.05.026.
- Jeican, I. I., Matei, H., Istrate, A., Mironescu, E., & Bălici, S (2017). Changes observed in erythrocyte cells exposed to an alternating current. *Iujul Med.*, 90(2), 154–160. doi: 10.15386/cjmed-696.
- Lesesve, J., Martin, M., Banasiak, C., Andre-Kerneis, E., Bardet, V., Lusina, D., Kharbach, A., Genevieve, F., & Lecompte, T (2014). Schistocytes in disseminated intravascular coagulation. *International Journal of Laboratory Hematology*, 36(4), 439–443. doi: 10.1111/ijlh.12168.
- Levi, M. (2018). Disseminated Intravascular Coagulation. In: *Hematology (7th Ed.)*, 2064–2075. doi: 10.1016/B978-0-323-35762-3.00139-6.
- McHedlishvili, G., & Maeda, N. (2001). Blood flow structure related to red cell flow: Determinant of blood fluidity in narrow microvessels. *Jpn. J. Physiol.*, 51(1), 19–30. doi: 10.2170/jjphysiol.51.19.
- Moroz, V. V., Chernysh, A. M., Kozlova, E. K., Kirsanova, A. K., Novoderzhkina, I. S., Aleksandrin, V. V., Borshchegovskaya, P. Yu., Bliznyuk, U. A., & Rysaeva, R. M. (2009). Atomic force microscopy of the structure of red blood cell membranes in acute blood loss and reinfusion. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*, 5(5), 5–15. doi: 10.15360/1813-9779-2009-5-5.
- Moroz, V., Novoderzhkina, I., Afanasyev, A., Zarzhetsky, Yu., Ryzhkov, I., Kozlova, E., & Chernysh, A. (2017). Effect of Perftoran on Membrane Nanostructure of Discocyte and Stomatocyte after Acute Blood Loss. *General Reanimatology*, 13, 32–39. doi: 10.15360/1813-9779-2017-2-32-39.
- Owen, J. S., Brown, D., Harry, D., McIntyre, N., Beaven, G., Isenberg, H., & Gratzner, W. (1985). Erythrocyte echinocytosis in liver disease. Role of abnormal plasma high density lipoproteins. *Journal of Clinical Investigation*, 76, 2275–2285. doi: 10.1172/JCI112237.
- Schettlers, T. P. M., Kleuskens, J. A. G. M., Crommert, J., Leeuw, P. W. J., Finizio, A. L., & Gorenflot, A. (2009). Systemic inflammatory responses in dogs experimentally infected with *Babesia canis*; a haematological study. *Vet Parasitol.*, 162(1), 7–15. doi: 10.1016/j.vetpar.2009.02.012.
- Tomaiuolo, G. (2014) Biomechanical properties of red blood cells in health and disease towards microfluidics. *Biomicrofluidics*, 8(5), 051501. doi: 10.1063/1.4895755.

- Tsui, S. M., Ahmed, R., Amjad, N., Ahmed, I., Yang, J., Manno, F. A., Barman, I., Shih, W. C., & Lau, C. (2020). Single red blood cell analysis reveals elevated hemoglobin in poikilocytes. *Journal of biomedical optics*, 25(1), 1–13. doi: 10.1117/1.JBO.25.1.015004.
- Wu, T., & Feng, J. J. (2013). Simulation of malaria-infected red blood cells in microfluidic channels: Passage and blockage, *Biomicrofluidics*, 7(4), 044115. doi: 10.1063/1.4817959.