

UFRRJ

INSTITUTO DE VETERINÁRIA

CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

DISSERTAÇÃO

**Normalização das Alterações Clínicas e Hematológicas em Cães com
Ehrlichiose Submetidos ao Tratamento com Doxiciclina**

MARIA CLARA DA SILVA NEGREIROS BOTELHO

2010



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**NORMALIZAÇÃO DAS ALTERAÇÕES CLÍNICAS E
HEMATOLÓGICAS EM CÃES COM EHRlichiose SUBMETIDOS
AO TRATAMENTO COM DOXICICLINA**

MARIA CLARA DA SILVA NEGREIROS BOTELHO

Sob a Orientação do Professor
Fabio Barbour Scott

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Área de Concentração em Ciências Clínicas.

Seropédica, RJ
Março de 2010

636.7089615 Botelho, Maria Clara da Silva Negreiros, 1983-
B748n Normalização das alterações clínicas e
T hematológicas em cães com Ehrlichiose submetidos
ao tratamento com doxiciclina / Maria Clara da Silva
Negreiros. – 2010.
46 f. : il.

Orientador: Fabio Barbour Scott.

Dissertação (mestrado)- Universidade Federal
Rural do Rio de Janeiro, Curso de Pós-Graduação
em Medicina Veterinária.

Bibliografia: f.36-39.

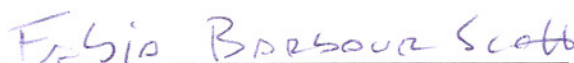
1. Cão – Doenças – Teses. 2. Hematologia
veterinária – Teses. 3. Ehrlichiose – Teses. 4.
Ehrlichiose – Tratamento – Teses. I. Scott, Fabio
Barbour, 1966- . II. Universidade Federal Rural do
Rio de Janeiro, Curso de Pós-Graduação em
Medicina Veterinária. III. Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

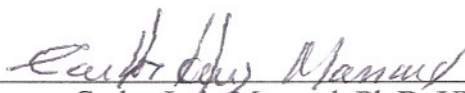
MARIA CLARA DA SILVA NEGREIROS BOTELHO

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências, no Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, área de Concentração em Ciências Clínicas.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 08/03/2010



Fábio Barbour Scott, Ph.D, UFRRJ
(Orientador)



Carlos Luiz Massard, Ph.D, UFRRJ



Licius de Sá Freire, Dr., FIOCRUZ

Dedico esta obra a Deus, que esteve comigo em todos os momentos me dando forças para superar os obstáculos. A Ele, muito obrigada pela vitória que hoje alcancei.

AGRADECIMENTOS

A Deus por me sustentar nos momentos difíceis e ser o que há de mais importante na minha vida.

A todos que ajudaram na realização deste trabalho, em especial ao Professor FABIO BARBOUR SCOTT, pela confiança, acolhimento, e orientação nesse e em outros trabalhos.

Ao meu primo e amigo FÁBIO SILVA DE SOUZA, que esteve sempre presente me dando apoio, estímulo intelectual e orientação desde a graduação.

Aos bolsistas, estagiários e amigos do Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária, por superarmos as dificuldades juntos seja na chuva ou no sol.

Aos colegas de turma da pós-graduação pelos bons momentos de convívio durante a realização deste curso.

A todos os amigos e àqueles que indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho... Muito obrigada!

BIOGRAFIA

Maria Clara da Silva Negreiros Botelho, filha de Wilson Negreiros Botelho e Maria Aparecida Ferreira da Silva, nasceu em 10 de julho de 1983, na cidade do Rio de Janeiro, Estado Rio de Janeiro.

Cursou o ensino fundamental no Colégio Novo Horizonte e o ensino médio no Instituto Olavo Bilac, ambos localizados no município de Nova Iguaçu, Rio de Janeiro.

No ano de 2002 ingressou no curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), colando grau e obtendo o título de Médica Veterinária em 06 de outubro de 2007.

Durante a graduação, estagiou na Fazenda do Instituto de Zootecnia da UFRRJ na área de Saúde Animal e no Laboratório de Doenças Parasitárias no Departamento de Epidemiologia e Saúde Pública da UFRRJ. Posteriormente, foi Bolsista pelo Programa de Bolsas de Extensão da UFRRJ no período de agosto de 2006 a julho de 2007, atuando na área de Parasitologia Veterinária, sob orientação do Professor Dr. Argemiro Sanavria.

Em agosto de 2008, ingressou no Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da UFRRJ, Área de concentração Ciências Clínicas, nível de Mestrado, sob orientação do Professor Dr. Fabio Barbour Scott.

RESUMO

BOTELHO, Maria Clara da Silva Negreiros. **Normalização das Alterações Clínicas e Hematológicas em Cães com Ehrlichiose Submetidos ao Tratamento com Doxiciclina.** 2010. 41p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária, Ciências Clínicas) - Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2010.

A ehrlichiose monocítica canina, doença infecciosa de distribuição mundial, é causada pela riquetsia *Ehrlichia canis*, parasita intracelular obrigatório de células mononucleares caninas e transmitida pelo carrapato *Rhipicephalus sanguineus*. As anormalidades clínicas e hematológicas são variadas, dependendo da linhagem de *Ehrlichia* spp., da resposta imune do cão e da presença concomitante de outras doenças. Entre as diversas anormalidades hematológicas, a trombocitopenia é um achado predominante. Como a doença pode se manifestar através de uma grande variedade de sinais clínicos, os médicos veterinários, particularmente aqueles que trabalham em regiões endêmicas, devem sempre considerar a possibilidade de infecção por *Ehrlichia* spp., especialmente em cães com sinais não específicos da doença. O presente estudo teve como objetivo avaliar a recuperação clínico-hematológica de cães naturalmente infectados por *Ehrlichia* sp. e tratados com doxiciclina. O estudo foi realizado nas dependências do Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária do Departamento de Parasitologia Animal da UFRRJ. Selecionou-se 12 animais da raça Beagle, do total de 90 cães mantidos no canil experimental do laboratório, com sinais clínicos, como febre, anorexia, vômito, emagrecimento, mucosas hipocoradas, hepato e esplenomegalia, além da presença de carrapatos *R. sanguineus* e do achado hematológico de trombocitopenia. O diagnóstico laboratorial foi confirmado pela identificação direta de mórulas de *Ehrlichia* sp. em esfregaços sanguíneos corados por Giemsa. Após a pesagem dos 12 cães, os mesmos foram tratados individualmente com doxiciclina, na dose de 10mg/kg de peso corporal, por via oral, a cada 12 horas por um período de 21 dias, durante os quais foram realizadas avaliações de parâmetros clínicos e hematológicos. Algumas alterações clínicas foram observadas ao longo do período de avaliação como febre, anorexia, vômito, diarreia, mucosas hipocoradas, esplenomegalia e linfadenomegalia apresentando-se estes parâmetros normalizados ao 21º dia de tratamento. As alterações hematológicas encontradas foram trombocitopenia e anemia normocítica normocrômica. Nos dias +14 e +21, as contagens médias de hemácias e valor de hematócrito estavam dentro dos parâmetros fisiológicos normais para a espécie. Houve diferença estatística significativa entre os dias -1 e +21 na contagem de hemácias e nos valores de hematócrito. Quanto a trombocitopenia, no fim do tratamento, todos animais estavam com plaquetometria normalizada, havendo diferença estatística significativa entre os dias -1 e +21. Conclui-se que houve uma normalização dos quadros clínico-hematológicos ao final do período de tratamento e que o mesmo administrado na dose de 10mg/Kg ao longo de 21 dias não produziu reações clínicas e hematológicas adversas.

Palavras-chave: Antibioticoterapia, *Ehrlichia* spp., Hematologia.

ABSTRACT

BOTELHO, Maria Clara da Silva Negreiros. **Normalization of Clinical and Hematological Alterations in Dogs with Ehrlichiosis Submitted to the Treatment with Doxycycline.** 2010. 41p. Dissertation (Master in Veterinary Medicine, Clinical Science) - Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2010.

The canine monocytic ehrlichiosis, an infectious disease of worldwide distribution, is caused by the rickettsia *Ehrlichia canis*, an obligatory intracellular parasite of mononuclear cells and transmitted by the dog tick *Rhipicephalus sanguineus*. The clinical and hematological abnormalities are varied, depending on the strain of *Ehrlichia* spp., the immune response of the dog and the concomitant presence of other diseases. Among the various hematological disorders, thrombocytopenia is a common feature. The disease can manifest itself through a variety of clinical veterinarians, particularly those working in endemic areas, should always consider the possibility of infection with *Ehrlichia* spp., especially in dogs with nonspecific signs of illness. This study aimed to evaluate clinical and hematologic recuperation of dogs naturally infected with *Ehrlichia* sp. and treated with doxycycline. The trial was performed at the Laboratory of Experimental Chemotherapy from the Department of Animal Parasitology of the Institute of Veterinary of the Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. About the total of 90 Beagles dogs kept in kennels experimental laboratory, twelve were selected, with clinical signs such as fever, anorexia, vomiting, weight loss, pale mucous membranes, hepatomegaly and splenomegaly and the presence of ticks *R. sanguineus* and find hematologic thrombocytopenia. The laboratory diagnosis was confirmed by direct identification of morulae of *Ehrlichia* sp. in blood smears stained with Giemsa. After weighing all of 12 dogs, they were individually treated with doxycycline at a dose of 10mg/kg body weight every 12 hours for 21 days, during which assessments were made of clinical and hematologic exams. Some clinical changes were observed during the evaluation period as fever, anorexia, vomiting, diarrhea, pale mucous membranes, splenomegaly and lymphadenopathy presenting these standard parameters the 21 days of treatment. The abnormalities found were thrombocytopenia and normochromic normocytic anemia. In the days +14 and +21, the mean counts of red blood cells and hematocrit value were within normal physiological parameters for the species. There was a statistically significant difference between days -1 and +21 by red blood counts and hematocrit values. At the end of treatment, all animals were normalized to platelet count, statistically significant differences between days -1 and +21. It is concluded that there was clinical-hematological normalization at the end of the treatment period and that it administered at a dose of 10mg/kg over 21 days produced no clinical and hematological reactions.

Key words: Antibioticotherapy, *Ehrlichia* spp., Hematology.

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Dados referentes ao peso, sexo, idade e quantidade da medicação administrada dos cães da raça Beagle com ehrlichiose selecionados para avaliação de possíveis alterações ocasionadas pela doxiciclina.	12
Tabela 2. Valores de referência dos parâmetros hematológicos, segundo Kahn (2008).	13
Tabela 3. Número de animais que apresentavam alterações clínicas nos diferentes dias de avaliação (n=12 animais).	16
Tabela 4. Avaliação individual do parâmetro clínico presença de vômito em cães da raça Beagle, com ehrlichiose tratados com doxiciclina.	17
Tabela 5. Valores observados, médias e desvio padrão das hemácias ($\times 10^6$ células/ μ l) nos diferentes dias de avaliação, para os 12 cães com ehrlichiose tratados com doxiciclina.	20
Tabela 6. Valores observados, médias e desvio padrão de hematócrito (%) nos diferentes dias de avaliação, para os 12 cães com ehrlichiose tratados com doxiciclina.	21
Tabela 7. Valores observados, médias e desvio padrão de hemoglobina (g/dl) nos diferentes dias de avaliação, para os 12 cães com ehrlichiose tratados com doxiciclina.	22
Tabela 8. Valores observados, médias e desvio padrão do volume globular médio (VGM) nos diferentes dias de avaliação, para os 12 cães com ehrlichiose tratados com doxiciclina.	23
Tabela 9. Valores observados, médias e desvio padrão da concentração de hemoglobina globular média (CHGM) (%) nos diferentes dias de avaliação, para os 12 cães com ehrlichiose tratados com doxiciclina	24
Tabela 10. Valores observados, médias e desvios padrão da contagem de plaquetas (células/ μ l) nos diferentes dias de avaliação, para os 12 cães com ehrlichiose tratados com doxiciclina	25
Tabela 11. Valores observados, médias e desvios padrão da determinação de proteínas totais (g/dl) nos diferentes dias de avaliação, para os 12 cães com ehrlichiose tratados com doxiciclina.	26

- Tabela 12.** Valores observados, médias e desvio padrão da contagem de leucócitos totais (células/ μ l) nos diferentes dias de avaliação, para os 12 cães com ehrlichiose tratados com doxiciclina. 28
- Tabela 13.** Valores observados, médias e desvio padrão da contagem de linfócitos (células/ μ l) nos diferentes dias de avaliação, para os 12 cães com ehrlichiose tratados com doxiciclina 29
- Tabela 14.** Valores observados, médias e desvio padrão da contagem de monócitos (células/ μ l) nos diferentes dias de avaliação, para os 12 cães com ehrlichiose tratados com doxiciclina. 30
- Tabela 15.** Valores observados, médias e desvios padrão da contagem de neutrófilos (células/ μ l) nos diferentes dias de avaliação, para os 12 cães com ehrlichiose tratados com doxiciclina 31
- Tabela 16.** Valores observados, médias e desvios padrão da contagem de eosinófilos (células/ μ l) nos diferentes dias de avaliação, para os 12 cães com ehrlichiose tratados com doxiciclina. 32
- Tabela 17.** Valores observados, médias e desvios padrão da contagem de bastões (células/ μ l) nos diferentes dias de avaliação, para os 12 cães com ehrlichiose tratados com doxiciclina. 33

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Fotografia de lâminas de esfregaço de sangue periféricos dos cães 300020, 291090, 274848, 278555, 290901 e 293700 no dia -1 demonstrando a presença de mórulas de <i>Ehrlichia</i> sp. (ponta de seta) no interior de leucócitos.	14
Figura 2. Fotografia de lâminas de esfregaço de sangue periféricos dos cães 296630, 287585, 280610, 270719, 258139, 246514, no dia -1 demonstrando a presença de mórulas de <i>Ehrlichia</i> sp. (ponta de seta) no interior de leucócitos.	15
Figura 3. Valores observados de média e desvios padrão de hemácias ($\times 10^6$ células/ μ l) nos diferentes dias de avaliação.	20
Figura 4. Valores observados de média e desvios padrão de hematócrito (%) nos diferentes dias de avaliação.nos diferentes dias de avaliação..	21
Figura 5. Valores observados de média e desvios padrão de hemoglobina (g/dl) nos diferentes dias de avaliação.	22
Figura 6. Valores observados de média e desvios padrão do volume globular médio (VGM) nos diferentes dias de avaliação.	23
Figura 7. Valores observados de média e desvios padrão da concentração de hemoglobina globular média (CHGM) (%) nos diferentes dias de avaliação.	24
Figura 8. Valores observados de média e desvios padrão de plaquetas ($\times 10^6$ células/ μ l) nos diferentes dias de avaliação.	25
Figura 9. Valores observados de média e desvios padrão da determinação de proteínas totais (g/dl) nos diferentes dias de avaliação.	26
Figura 10. Valores observados de média e desvios padrão da contagem de leucócitos totais (células/ μ l) nos diferentes dias de avaliação.	28
Figura 11. Valores observados de média e desvios padrão da contagem de linfócitos (células/ μ l) nos diferentes dias de avaliação.	29
Figura 12. Valores observados de média e desvios padrão da contagem de monócitos (células/ μ l) nos diferentes dias de avaliação.	30
Figura 13. Valores observados de média e desvios padrão da contagem de neutrófilos (células/ μ l) nos diferentes dias de avaliação.	31
Figura 14. Valores observados de média e desvios padrão da contagem de eosinófilos (células/ μ l) nos diferentes dias de avaliação.	32
Figura 15. Valores observados de média e desvios padrão da contagem de bastões (células/ μ l) nos diferentes dias de avaliação.	33

SUMÁRIO

	Página	
1	INTRODUÇÃO	1
2	REVISÃO DE LITERATURA	2
2.1	Doxiciclina	2
2.2	Ehrlichiose Canina	3
2.2.1	Agente etiológico	3
2.2.2	Transmissão de <i>Ehrlichia</i> spp.	4
2.2.3	Ciclo biológico de <i>Ehrlichia</i> sp.	4
2.2.4	Patogênese e sinais clínicos da ehrlichiose	5
2.3	Alterações Laboratoriais	7
2.3.1	Fase aguda	7
2.3.2	Fase subclínica	8
2.3.3	Fase crônica	8
2.4	Diagnóstico	9
2.5	Tratamento	9
3	MATERIAL E MÉTODOS	11
3.1	Localização do Estudo e Seleção dos Animais	11
3.2	Habitação e Manejo dos Animais	11
3.3	Avaliação do Tratamento com Doxiciclina em Cães da Raça Beagle com Ehrlichiose	11
3.4	Análise dos Dados	13
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	16
4.1	Avaliação dos Parâmetros Clínicos de Cães da Raça Beagle com Ehrlichiose Tratados com Doxiciclina	16
4.2	Avaliação dos Parâmetros Hematológicos de Cães da Raça Beagle com Ehrlichiose Tratados com Doxiciclina	19
4.2.1	Hemograma e contagem de plaquetas	19
4.2.2	Leucograma	27
4.2.3	Pesquisa de hemoparasitos	34
4.3	Avaliação do Efeito Terapêutico da Doxiciclina	34
5	CONCLUSÃO	35
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	36

1 INTRODUÇÃO

A erliquiose monocítica canina, doença infecciosa de distribuição mundial, é causada pela rickettsia *Ehrlichia canis*, parasita intracelular obrigatório de células mononucleares caninas e transmitida pelo carrapato *Rhipicephalus sanguineus*. As anormalidades clínicas e hematológicas são variadas, dependendo da linhagem de *Ehrlichia* spp., da resposta imune do cão e da presença concomitante de outras doenças. Entre as diversas anormalidades hematológicas, a trombocitopenia é um achado predominante. Como a doença pode se manifestar através de uma grande variedade de sinais clínicos, os médicos veterinários, particularmente aqueles que trabalham em regiões endêmicas, devem sempre considerar a possibilidade de infecção por *Ehrlichia* spp., especialmente em cães com sinais não específicos da doença. O período de incubação da doença pode variar entre dias para os casos agudos ou meses ou anos nos cursos crônicos, que geralmente são fatais. Entre as fases aguda e crônica, pode ocorrer um período no qual não existem alterações fisiológicas perceptíveis ao exame clínico, sendo denominada de fase subclínica, que pode durar anos até que a doença evoluir para a cronicidade.

O exame clínico acompanhado do histórico e de exames complementares representam uma tríade fundamental para uma abordagem inicial segura do paciente. Exames laboratoriais rotineiros são utilizados como importante ferramenta diagnóstica como a detecção do parasita por meio de microscopia óptica, hematoscopia, utilizando-se esfregaços sangüíneos corados pelo método May-Grunwald-Giemsa ou por técnicas sorológicas e moleculares.

Diferentes fármacos têm sido utilizados como alternativa ao uso das tetraciclina no tratamento da ehrlichiose, entretanto muitos deles tem restrições quanto a sua administração por provocar inúmeros efeitos colaterais e pela variável resposta terapêutica ao antibiótico. Dessa forma, a doxiciclina é reconhecida como droga de escolha no tratamento da ehrlichiose por ter mínimos efeitos colaterais e efetividade no tratamento, embora longos períodos de terapia possam selecionar seps bacterianas resistentes à droga.

O presente estudo teve como objetivo avaliar a recuperação clínico-hematológica de cães naturalmente infectados por *Ehrlichia* sp. e tratados com doxiciclina.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Doxiciclina

As tetraciclinas são antibióticos de amplo espectro com características antimicrobianas similares, mas diferem entre si com relação ao espectro e disposições farmacocinéticas. Existem tetraciclinas de ocorrência natural (oxitetraciclina, clortetraciclina e demetilclortetraciclina) e várias outras que são derivados semi-sintéticos (tetraciclina, rolitetraciclina, metaciclina, minociclina, doxiciclina, limeciclina, entre outras). Estas são utilizadas para tratar tanto as infecções locais quanto as sistêmicas (KAHN, 2008).

A doxiciclina é um fármaco pertencente à classe dos antibióticos tetracíclicos, tendo seu mecanismo de ação envolvido com a ligação a subunidade 30S do ribossomo inibindo a síntese protéica. Sua ação é bacteriostática atuando sobre amplo espectro de microorganismos, incluindo bactérias, alguns protozoários e rickettsias (PAPICH et al., 2009).

Em concentrações elevadas, as tetraciclinas comprometem a síntese de proteínas das células de mamíferos. Entretanto, como as células destes carecem do sistema de transporte ativo encontrado nas bactérias, e o alvo ribossômico é menos sensível, as tetraciclinas são seletivamente ativas contra bactérias (HARDMAN et al., 2003). A doxiciclina difere, portanto, das demais tetraciclinas por apresentar maior lipofilia resultando em maior penetração tecidual, maiores volumes de distribuição e melhores propriedades antimicrobianas. Além disso, também possui maior capacidade de ligação a proteínas plasmáticas, o que prolonga sua meia-vida (ADAMS, 2003).

A doxiciclina é geralmente o fármaco de escolha no tratamento de algumas doenças transmitidas por carrapato em animais, com eficácia demonstrada em pesquisas. Além disso, é usada no controle de alguns protozoários e bactérias dos gêneros *Rickettsia* e *Ehrlichia* sendo considerada padrão para o tratamento da ehrlichiose canina por melhorar sinais clínicos e anormalidades clínico-patológicas em cães infectados (DAGNONE et al., 2001; MACHADO, 2004).

Os antibióticos do grupo das tetraciclinas são riquetsiostáticos e não riquetsicidas e, portanto, a duração do tratamento é importante (AMYX et al., 1971). Andereg e Passos (1999) relataram que a duração da terapia é, provavelmente, mais importante que a dosagem ou o quimioterápico utilizado e que o tratamento deve durar de três a quatro semanas nos casos que há resposta eficiente, ou períodos maiores que seis semanas em animais na fase crônica da doença.

As dosagens e a duração do tratamento de cães com ehrlichiose são variáveis. Greene (1998) afirma que a tetraciclina (22mg/kg, por via oral, a cada 8 horas) deve ser usada no mínimo por duas semanas nos casos agudos e de um a dois meses nos casos crônicos, enquanto a doxiciclina (5-10mg/kg/dia, por via oral ou endovenosa) deve ser usada por 10 a 14 dias. Já Couto (1998) sugeriu o tratamento com doxiciclina (2,5 a 5mg/kg, por via oral, a cada 12 a 24 horas), por dez a 14 dias ou com tetraciclina (22mg/kg, por via oral, a cada 8 horas) por 14 a 21 dias. Barr (2000) relatou que o tratamento com doxiciclina deve ser feito por 14 dias, por via oral, podendo ser administrado pela via endovenosa por cinco dias se o cão estiver vomitando. Já Neer et al. (2002) recomendam o protocolo de tratamento para ehrlichiose canina com doxiciclina na dosagem de 10mg/kg/dia por 28 dias.

O uso das tetraciclinas requer preocupações clínicas especiais, por apresentar alguns efeitos colaterais e toxicidade, exigindo assim, muita cautela. A superinfecção por patógenos não suscetíveis, como fungos, leveduras e bactérias resistentes, é sempre uma possibilidade

quando antibióticos de amplo espectro são utilizados. Distúrbios gastrintestinais podem ocorrer após administração tanto por via oral quanto parenteral. O fato das tetraciclinas interferirem com a síntese protéica, até mesmo nas células do hospedeiro, e então tenderem a fazer catabolismo, pode implicar no aumento da uremia. São também potencialmente nefrotóxicas e contra-indicadas (exceto a doxiciclina) em casos de insuficiência renal. Reações de hipersensibilidade podem ocorrer em gatos, que demonstram uma reação “febril à droga”, freqüentemente acompanhada por vômito, diarreia, depressão, inapetência e eosinofilia (SMITH; LEYDEN, 2005; KAHN, 2008).

Efeitos colaterais no uso da doxiciclina são descritos como irritação do trato gastrintestinal (RIVIERE; SPOO, 2001) e estriatura esofágica após tratamento com comprimidos em gatos (MELANDEZ et al., 2000; MCGROTTY; KNOTTENBELT, 2002; GERMAN et al., 2005) bem como descoloração dos dentes e retardo no crescimento quando administrada a animais jovens (MAJCHERCZYK; SZYMANSKA-JACHIMCZAK, 1965).

Acredita-se que o desenvolvimento de transtornos gastrintestinais em animais tratados com doxiciclina ocorre por mudanças na microbiota entérica natural bem como por irritação esofágica, gástrica e intestinal. A atividade da enzima alanina aminotransferase (ALT) aumenta continuamente durante o tratamento com este fármaco como resultado de lesão ou desestabilização da membrana celular hepática em vez de devido à ativação enzimática (GREENE; WATSON, 2006). A indução da hepatotoxicidade pelas tetraciclinas foi comprovada por causar aumento na atividade das enzimas hepáticas, tais como ALT e fosfatase alcalina (KAUFMAN; GREENE, 1993).

2.2 Ehrlichiose Canina

A ehrlichiose canina está entre as mais graves doenças infecciosas que acometem os cães, causada por bactérias do gênero *Ehrlichia*, principalmente pela espécie *Ehrlichia canis*, agente etiológico da ehrlichiose monocítica canina (EMC) (WOODY; HOSKINS, 1991; DUMLER et al., 2001). Esta doença ampla distribuição e ocorre principalmente em regiões tropicais e subtropicais devido à distribuição geográfica do vetor biológico, o carrapato *Rhipicephalus sanguineus* (GROVES et al., 1975; ANDEREG; PASSOS, 1999).

A EMC caracteriza-se por ser uma síndrome potencialmente fatal (TENG et al., 2003) e altamente variável com quadros clínicos semelhantes à muitas doenças infecciosas e metabólicas, o que dificulta o diagnóstico diferencial em função de variações na etiologia, potencial e susceptibilidade do hospedeiro (COUTO, 1998a; KAKOMA et al., 2000).

2.2.1 Agente etiológico

O gênero *Ehrlichia* faz parte de um grupo de bactérias gram-negativas, parasitas intracelulares obrigatórios de células hematopoiéticas maduras ou imaturas, especialmente do sistema fagocitário mononuclear, tais como monócitos e macrófagos e, para algumas espécies, em células mielóides, tais como neutrófilos. As espécies deste gênero são separadas de acordo com as células que infectam. As ehrlichias monocitotrópicas, como *E. canis* e *E. chaffeensis* alojam-se em células do sistema reticuloendotelial do fígado, baço e linfonodos, onde se replicam, por fissão binária, inicialmente em macrófagos e linfócitos (IMMELMAN; BUTTON, 1973; HOSKINS, 1991; KEYSARY et al., 1996; DUMLER et al., 2001; NEER; HARRUS, 2006).

Segundo Dumler et al. (2001), o gênero *Ehrlichia* contempla as espécies *E. canis*, *E. chaffeensis*, *E. ewingii*, *E. muris* e *E. ruminantium*. As que podem infectar os cães são *E. canis*, *E. chaffeensis* e *E. ewingii*, sendo *E. canis* a causa mais comum de infecção nesses animais e considerada a mais severa (WANER et al., 1995; ALMOSNY, 2002).

2.2.2 Transmissão de *Ehrlichia* spp.

Em cães, o principal mecanismo de transmissão de *Ehrlichia* spp é por meio da saliva do carrapato vetor *Rhipicephalus sanguineus* que, no momento do repasto sanguíneo, inocula sua secreção salivar infectada no local da picada (GROVES et al., 1975; SMITH et al., 1976).

As larvas e ninfas do carrapato se infectam ao ingerir o sangue do animal na fase aguda da doença, através da ingestão de leucócitos parasitados (SMITH et al., 1976; LEWIS et al., 1977; NEER; HARRUS, 2006). A infecção do carrapato é mais fácil de acontecer durante as três primeiras semanas pós-infecção do cão. Isto acontece porque os leucócitos contaminados estão prevalentes na circulação durante os estágios iniciais da infecção (WOODY; HOSKINS, 1991).

Nos carrapatos, a transmissão ocorre de forma transestadial e não ocorre a infecção transovariana, ou seja, *E. canis* se desenvolve em larvas, ninfas e adultos de *R. sanguineus*, mas o produto da postura é isento do parasito (GROVES et al., 1975; SMITH; RISTIC, 1977; HOSKINS, 1991; RIKIHISA, 1991; DUMLER; BAKKEN, 1995; BREMER et al., 2005).

Apesar de Donatien e Letoquard reportarem em 1937 a transmissão transovariana de *E. canis* em *R. sanguineus*, outros estudos realizados posteriormente demonstraram que nenhum, entre 400 carrapatos fêmeas infectadas, transmitiram o parasito para a sua progênie (GROVES et al., 1975; LEWIS et al., 1977). Sendo assim, como não haveria transmissão transovariana, as larvas de *R. sanguineus* não seriam importantes na transmissão, porém podem se infectar com o agente mantendo a infecção até o estágio adulto (GROVES et al., 1975; BREMER et al., 2005) e ainda transmitir o patógeno por até 155 dias pós-infecção (SMITH et al., 1976; RIKIHISA, 1991).

Alguns autores também relatam a possibilidade da transmissão por transfusões sanguíneas (WOODY; HOSKINS, 1991; HARRUS et al., 1998; BREITSCHWERDT, 2000). De acordo com Breitschwerdt (2000) é possível que a infecção ocorra por meio de sangue proveniente de cão cronicamente infectado há mais de cinco anos.

Outras formas de transmissão, realizadas experimentalmente, foram descritas como inoculação do agente etiológico por via subcutânea, intravenosa e intraperitonal de sangue ou emulsão de órgãos (SWANGO et al., 1989; HOSKINS, 1991).

2.2.3 Ciclo biológico de *Ehrlichia* sp.

Nyindo et al. (1971) estudaram o desenvolvimento de *E. canis* em monócitos infectados de cães através de cultivo *in vitro* e observaram que era semelhante às Clamídeas, apresentando três estágios de desenvolvimento: corpúsculo elementar, corpúsculo inicial e mórula. O desenvolvimento das mórulas inicia-se em um único corpúsculo elementar dentro do monócito infectado, onde se multiplica formando inclusões citoplasmáticas imaturas, denominadas corpúsculos iniciais, os quais se desenvolvem após sete a doze dias de incubação, formando as mórulas (NYINDO et al., 1971; SIMPSON, 1972; McDADE, 1990). Neste estágio, muitos monócitos estão três a quatro vezes maiores que o seu tamanho original e podem conter uma ou mais mórulas, e cada mórula contém vários corpúsculos elementares. Quando a mórula se rompe, os corpúsculos elementares são liberados infectando a célula e esta acaba por romper-se dando início a um novo ciclo infeccioso (SWANGO et al., 1989; McDADE, 1990).

2.2.4 Patogênese e sinais clínicos da ehrlichiose

O período de incubação da EMC varia de oito a vinte dias (HARRUS et al., 1997b). Alguns estudos sugerem que a patogênese da doença seja atribuída à resposta imune do hospedeiro mais que ao efeito direto da rickettsia (CODNER et al., 1985; MATUS et al., 1987; HARRUS et al., 1996).

A enfermidade é multissistêmica, com tendências a sangramentos (devido à trombocitopenia e vasculite), linfadenopatia, esplenomegalia e pode afetar o sistema nervoso central, olhos (uveíte anterior) e pulmões (raramente afetados por vasculite). Os achados no histórico incluem além de sangramentos espontâneos (epistaxe), letargia, depressão, anorexia e perda de peso, febre, angústia respiratória, ataxia, inclinação da cabeça e dor ocular (BARR, 2000).

A doença apresenta três fases identificadas de acordo com as alterações clínicas e hematológicas, podendo ser: aguda, subclínica ou assintomática e, em alguns casos, crônica. (RIKIHISA, 1991; WOODY; HOSKINS, 1991; HARRUS et al., 1997b; NEER, 1998; BREITCHWERDT, 2000; SKOTARCZAK, 2003).

Fase aguda

Na fase aguda, que pode durar de duas a quatro semanas, o agente se replica em leucócitos mononucleares, disseminando-se para órgãos como fígado, baço e linfonodos (RODGERS et al., 1989; NEER, 1998; HARRUS et al., 1999; DAGDONE et al., 2001), onde se multiplicam primariamente em macrófagos e linfócitos resultando em hiperplasia linfocítica, podendo causar aumento desses órgãos (TROY; FORRESTER, 1990; DAVOUST, 1993). As células infectadas são transportadas pela corrente sanguínea para pulmões, rins e meninges, aderindo-se ao endotélio vascular e produzindo vasculite e infecção do tecido subendotelial (GREENE; HARVEY, 1990; HARRUS et al., 1997a; BREITSCHWERDT, 2000). A vasculite e os mecanismos imunomediados induzem à trombocitopenia e possíveis quadros hemorrágicos (GREENE, 1998). A trombocitopenia, devido à destruição periférica de plaquetas, com ou sem anemia e leucopenia (ou leucocitose), é comum durante esta fase (COUTO, 1998a).

Harrus et al. (1996) observaram, em estudo realizado com seis cães da raça Beagle infectados experimentalmente com *E. canis*, que a agregação plaquetária foi inibida pelo soro de cinco dos cães infectados, sugerindo que a disfunção plaquetária pode estar presente no estágio agudo da doença. Relataram, ainda, que uma possível explicação para a inibição da agregação plaquetária poderia ser a presença de anticorpos anti-plaquetas no soro dos cães infectados com *E. canis* na fase aguda da doença.

Nesta fase, os achados do exame físico incluem depressão, anorexia, perda de peso, febre, linfadenopatia generalizada, secreção oculonasal, que pode ser muco-purulenta, vômitos, fraqueza, rigidez e relutância em caminhar, edema de membros e de bolsa escrotal, tosse, cianose, estertores pulmonares, dispnéia ou intolerância a exercícios devido à pneumonite, sinais neurológicos causados por meningoencefalite, hepatomegalia e esplenomegalia (SWANGO et al., 1992; COUTO, 1998b; GREENE, 1998; ANDEREG; PASSOS, 1999; BARR, 2000). Pode haver doença difusa do SNC, ataxia com disfunção do neurônio motor superior, disfunção vestibular e hiperestesia generalizada ou local. Segundo Couto (1998a,b), Anderreg e Passos (1999) e BARR (2000), pode surgir petéquias e equimoses devido à trombocitopenia, mas Greene (1998) relatou que as mesmas podem não ser evidentes.

A anemia caracteriza-se pela redução no número de hemácias, ou no teor de hemoglobina, ou em ambos. É um reflexo de um estado patológico. A anemia ocorre em

razão a uma excessiva perda de sangue (hemorragias), destruição (hemólise), ou queda na produção de eritrócitos (BIRCHARD; SHERDING, 2003). Mecanismos imunológicos também podem estar envolvidos na destruição de eritrócitos (HARRUS et al., 2001).

Durante a fase aguda pode haver um aumento no seqüestro e destruição de células sanguíneas provocando uma pancitopenia transitória, já que a medula óssea continua a função de produção normalmente (BUHLES et al., 1975; PRICE et al., 1987). Nesta fase, a morte é rara (GREENE, 1998) e carrapatos são encontrados em 40% dos casos (BARR, 2000). A recuperação espontânea pode ocorrer e o cão pode permanecer assintomático ou desenvolver a fase crônica (GREENE, 1998) um a seis meses (SWANGO et al., 1992) ou anos depois (ANDEREG; PASSOS, 1999).

Fase subclínica

Após a fase aguda, os cães infectados podem se recuperar espontaneamente, entrando na fase subclínica ou assintomática, permanecendo infectados por longos períodos. Nesta fase, cães imunocompetentes podem debelar o parasita do organismo ou, ocasionalmente, desenvolver a fase crônica da doença (HARRUS et al., 1997b).

A fase subclínica geralmente ocorre seis a nove semanas após a infecção inicial, podendo durar de um a quatro meses (SWANGO et al., 1992) ou até anos (WANER et al., 1997; ANDEREG; PASSOS, 1999). Além da persistência do parasito, há aumento da resposta por parte dos anticorpos resultando em hiperglobulinemia (BARR, 2000). Durante esta fase, há uma normalização do peso do animal, a temperatura volta ao normal e o cão parece estável clinicamente. Entretanto, algumas alterações laboratoriais podem persistir especialmente uma trombocitopenia branda (WOODY; HOSKINS, 1991).

Fase crônica

A fase crônica ocorre quando o sistema imune é ineficaz em eliminar o microorganismo (SWANGO et al., 1992; COUTO, 1998b; ANDEREG; PASSOS, 1999). A severidade da doença depende da cepa infectante, de doenças concomitantes, da alimentação, da suscetibilidade e da idade do animal (NEER, 1998; ANDEREG; PASSOS, 1999).

Segundo Andereg e Passos (1999), na fase crônica da doença os animais são mais suscetíveis a infecções secundárias, devido ao comprometimento do estado imunológico dos animais. A principal característica dessa fase é a hipoplasia da medula óssea (BUHLES et al., 1975; HARRUS et al., 1999), que leva à pancitopenia e ao aumento da destruição das plaquetas (SWANGO et al., 1992). Pode ser evidenciado no hemograma por anemia não regenerativa, leucopenia e trombocitopenia (HUXSOLL et al., 1970; MYLONAKIS et al., 2003).

Os sinais clínicos e alterações hematológicas podem variar de ausentes até extremamente graves, dependendo do caso em questão (NEER, 1998; BREITSCHWERDT, 2000). Os mais freqüentes são anorexia, fraqueza, depressão, palidez de mucosas devido à anemia, perda de peso crônica, artrite (rara), sangramento espontâneo, linfadenopatia generalizada, hepatomegalia, uveíte posterior e/ou anterior, esplenomegalia acentuada, edema de membro intermitente, febre, edema escrotal, hifema, hemorragia e descolamento de retina com cegueira, edema corneal, convulsões (raras), glomerulonefrite pela deposição de imunocomplexos, insuficiência renal, pneumonia intersticial, infecções secundárias diversas e distúrbios reprodutivos (SWANGO et al., 1992; COUTO, 1998b; ANDEREG; PASSOS, 1999; BARR, 2000). Podem ocorrer sinais neurológicos causados por meningoencefalomielite (SWANGO et al., 1992; COUTO, 1998b) e então, ataxia cerebelar, depressão, paresia e hiperestesia associadas à meningite (GREENE, 1998).

A epistaxe ocorre num pequeno percentual dos casos,mas quando presente em cães que apresentam os sintomas gerais da ehrlichiose crônica, é encarada como característica da enfermidade (SWANGO et al., 1992). Com freqüência, a trombocitopenia severa pode causar hemorragias e, nas raças dolicocefálicas, a epistaxe é comum. Hematúria, melena e petéquias e equimoses na pele e membranas mucosas podem ocorrer em todas as raças (GREENE, 1998). As crises hemorrágicas ocorrem provavelmente quando a resposta da medula óssea é inadequada. Além disso, o período médio de vida das plaquetas em cães infectados cronicamente é de quatro dias comparados com nove dias em cães não infectados (SMITH et al., 1975).

2.3 Alterações Laboratoriais

A trombocitopenia é o achado mais freqüente em cães natural e experimentalmente infectados por *E. canis*, observa-se queda no número de plaquetas já na segunda semana pós-infecção e permanecendo baixo durante toda a fase aguda e crônica da doença (CASTRO, 1997; OLIVEIRA et al., 2000; MOREIRA et al., 2002; CASTRO et al., 2004; NAKAGHI, 2004). Trombocitopenias não acentuadas foram observadas por Almosny (1998) em cães experimentalmente infectados, na fase aguda da doença, revelando um caráter cíclico e com alterações morfológicas das plaquetas a partir do terceiro até o 67º dia após a infecção. Segundo Harrus et al. (1997a), apesar da trombocitopenia ser a anormalidade hematológica mais comum e consistente em todos os estágios da ehrlichiose monocítica canina, não deve ser considerada um sinal patognomônico da doença.

Ribeiro et al. (2000a) descreveram as alterações hematológicas em 14 cães infectados naturalmente com *E. canis*, cujas mórulas foram observadas em células mononucleares. Ribeiro et al. (2000b) também descreveram as alterações hematológicas em dois cães infectados naturalmente com o parasita *Ehrlichia* sp., cujas mórulas foram observadas em células mononucleares e plaquetas. Nos dois estudos, compararam-se os dados obtidos e com a literatura consultada, detectou-se que a anemia, quando presente, geralmente era normocítica normocrômica não responsiva, devido à hipoplasia da medula óssea induzida por ação do agente causal, enquanto os resultados de leucogramas na ehrlichiose canina foram variados.

2.3.1 Fase aguda

As típicas mórulas intracitoplasmáticas de *E. canis* são ocasionalmente observadas microscopicamente em monócitos durante o estágio agudo da doença (HARRUS et al., 1997a). Sua observação é difícil considerando que a visualização das mórulas no interior de leucócitos ocorre durante a fase aguda da doença e em aproximadamente 4% dos casos (BULLA et al., 2004a).

Na fase aguda, os achados hematológicos típicos incluem uma trombocitopenia característica que pode ser de moderada a severa, anemia normocítica normocrômica de leve a moderada e leve redução na contagem total de leucócitos. A trombocitopenia é característica desse estágio e marcada pela presença de megaplaquetas em sangue periférico (WANER et al., 1995).

Segundo alguns autores, a leucopenia ocorre por volta da terceira e quarta semanas de infecção experimental em cães com *E. canis*, com aumento de monócitos, enquanto a contagem de neutrófilos segmentados, eosinófilos e linfócitos apresenta queda significativa dos valores (CASTRO, 1997; MOREIRA et al., 2002.; CASTRO et al., 2004). Já Almosny (1998) observou pequenas elevações na contagem de leucócitos em cães infectados por *E.*

canis, com discreta elevação dos monócitos e sem alteração significativa dos neutrófilos segmentados, linfócitos e de eosinófilos.

Podem ocorrer alterações não específicas, como: aumentos suaves na atividade da alanina aminotransferase (ALT) e da fosfatase alcalina (ALP) (COUTO, 1998b; BARR, 2000), na uréia, creatinina e bilirrubina total (BARR, 2000). Há hiperglobulinemia (COUTO, 1998; BARR, 2000), que aumenta progressivamente em uma a três semanas após a infecção (BARR, 2000). Pode ocorrer também hipoalbuminemia, usualmente, devido à perda renal e proteinúria pode ou não estar acompanhada de azotemia (BARR, 2000). Hipoalbuminemia, hiperglobulinemia e hipergamaglobulinemia são alterações das proteínas séricas freqüentes em cães naturalmente infectados com *E. canis*, decorrentes da anorexia desenvolvida pelos cães, de lesões inflamatórias e degenerativas hepáticas e glomerulonefrite (CASTRO, 1997, CASTRO et al., 2004).

2.3.2 Fase subclínica

Na fase subclínica, podem-se identificar alterações hematológicas e bioquímicas suaves (COUTO, 1998), sendo observadas hiperglobulinemia (BARR, 2000), trombocitopenia persistente (SWANGO et al., 1992; BARR, 2000), anemia não responsiva e respostas leucocitárias variáveis, desde leucopenia até linfocitose e monocitose (SWANGO et al., 1992). A pancitopenia é rara (ANDEREG; PASSOS, 1999).

Segundo Waner et al. (1997), ao caracterizarem a fase subclínica da ehrlichiose canina em cães da raça Beagle experimentalmente infectados, observaram que o achado hematológico mais proeminente foi a redução da contagem e aumento no tamanho de plaquetas. De acordo com esses autores, o aumento no tamanho das plaquetas sugere uma trombopoiese ativa e resposta da medula óssea ao declínio de plaquetas na circulação, contrastando com a depressão da medula óssea observada na fase crônica da doença.

2.3.3 Fase crônica

Alguns cães, por razões ainda não esclarecidas apresentam a fase crônica da doença. A forma severa dessa fase é caracterizada por hipoplasia da medula óssea e deteriorização da produção medular de todos os elementos do sangue, resultando em pancitopenia. Por essa razão, ocorre uma severa anemia não regenerativa, leucopenia e trombocitopenia. Em alguns casos, os efeitos podem ser seletivos a apenas um ou dois elementos do sangue que podem estar severamente reduzidos. O prognóstico dos cães na fase crônica é grave podendo eventualmente ocorrer o óbito por infecções secundárias ou hemorragias (HARRUS et al., 1997b; HARRUS et al., 2004).

Há hiperglobulinemia e a magnitude do aumento de globulinas correlaciona-se com a duração da infecção, ocorrendo, usualmente, gamopatia policlonal, porém gamopatias monoclonais (IgG), menos freqüentes, podem ocorrer (COUTO, 1998b; GREENE, 1998; BARR, 2000). Há hipoalbuminemia (COUTO, 1998b; BARR, 2000). O aumento da uréia e da creatinina são devido à doença renal primária, devido à glomerulonefrite e à plasmocitose renal intersticial, e há proteinúria (COUTO, 1998b; ANDEREG; PASSOS, 1999; BARR, 2000).

2.4 Diagnóstico

O diagnóstico presuntivo da infecção por *Ehrlichia* spp. é baseado no conjunto de sinais clínicos, alterações hematológicas e bioquímicas séricas indicativas de ehrlichiose (DAGDONE et al., 2001, LAPPIN, 2001; GREENE, 2005; PINYOOWONG et al., 2007), mas estes sinais podem ser confusos e variáveis pois diversos sinais clínicos associados com a doença são inespecíficos (WOODY; HOSKINS, 1991; WANER et al., 2001)).

Os exames laboratoriais auxiliam o diagnóstico definitivo, incluindo a identificação de mórulas intracelulares em esfregaço sangüíneo, detecção de anticorpos específicos contra o agente infectante, detecção do DNA do patógeno por meio da reação de polimerização em cadeia (PCR) e/ou cultura celular do microorganismo (McBRIDE et al., 1996; DAGDONE et al., 2001; KEYSARY et al., 2001; WANER et al., 2001; BULLA et al., 2004b; HARRUS et al., 2004; MACIEIRA et al., 2005; TRAPP et al., 2006; AGUIAR et al., 2007).

A presença de mórulas intracitoplasmáticas de *E. canis* são mais facilmente encontradas em cães experimentalmente infectados, em períodos de pico febril, na fase aguda da doença (CASTRO, 1997; ALMOSNY, 1998; SILVA, 2001; CASTRO et al., 2004). Entretanto, na fase crônica, dificilmente são encontradas (OLIVEIRA et al., 2000; KRYM et al., 2002; OLICHESKI et al., 2002; LEITE; RIBEIRO, 2003; NAKAGHI, 2004). A evidenciação de mórulas também é possível em esfregaços corados de punção aspirativa da medula óssea em cães natural e experimentalmente infectados (SILVA, 2001; MOREIRA et al., 2002).

2.5 Tratamento

No tratamento da ehrlichiose canina, a tetraciclina, oxitetraciclina, doxiciclina e dipropionato de imidocarb têm sido utilizados em clínicas e hospitais veterinários no Brasil (SOUSA et al., 2004). A tetraciclina apresenta algumas contra-indicações. Não devem ser usadas em cães com menos de seis meses de idade, pois há amarelamento permanente dos dentes, e em pacientes com insuficiência renal, nos quais deve-se tentar o uso da doxiciclina, pois esta pode ser eliminada pelo trato gastrointestinal (BARR, 2000). A oxitetraciclina é o fármaco de escolha no tratamento da EMC, seguido da doxiciclina (MONTEIRO et al., 2003).

A administração de doxiciclina, precedida ou não pelo dipropionato de imidocarb, não parece interferir na resposta terapêutica de cães com EMC. O dipropionato de imidocarb é utilizado como uma alternativa razoável à doxiciclina no tratamento da ehrlichiose, além de ser eficaz contra babesiose (GREENE, 1998; BARR, 2000). É um parassimpaticomimético anticolinesterásico altamente efetivo em cães com ehrlichiose refratária e em cães com infecções mistas de *E. canis* e *Babesia canis* (COUTO, 1998b). Apesar de ser considerado eficiente por alguns autores (SAINZ, 1996; SOUSA et al., 2004) outros estudos não observaram diferença na resposta clínica quando comparado à doxiciclina, associado a esta droga (SAINZ, 1996; SOUSA et al., 2004, PEDROSO, 2006) ou quando utilizado isoladamente (SOUSA et al., 2004; EDDLESTONE et al., 2006; PEDROSO, 2006). Além disso, este fármaco pode causar dor na aplicação e, devido aos seus efeitos anticolinesterásicos, sinais parassimpáticos podem ocorrer em dez minutos após a injeção, tais como: salivação, descarga ocular serosa, vômito, diarreia, tremores e dispnéia. Habitualmente, estes sinais desaparecem em 30 minutos. Ocasionalmente, a aplicação subcutânea causa abscessos estéreis e edema acentuado no local da injeção (HARRUS et al., 1997a).

O cloranfenicol (20mg/kg, por via oral, a cada oito horas, por 14 dias) é uma droga alternativa para filhotes com menos de seis meses de idade, pois evita a descoloração dos dentes em erupção, causada pelas tetraciclinas. Deve-se alertar os clientes sobre os riscos à

saúde, porque o cloranfenicol interfere diretamente na síntese da medula óssea, devendo ser evitado em cães com trombocitopenia, pancitopenia ou anemia (BARR, 2000).

As fluorquinolonas, agentes antimicrobianos sintéticos bactericidas (BOECKH, 1998), são capazes de penetrar nos leucócitos (GÓRNIAK, 1999), sendo ativas contra patógenos intracelulares (BOECKH, 1998; GÓRNIAK, 1999). São bem toleradas por animais e humanos (WOODWAD, 2005), mas em algumas exceções, os efeitos adversos não são severos quando comparados aos benéficos que elas produzem. Os tecidos alvos são a cartilagem juvenil, o sistema nervoso central, o trato urinário e o trato digestivo (VACUTSEM et al., 1990). As altas concentrações alcançadas por esses antimicrobianos na urina e sua baixa solubilidade em água em pH ácido resulta na formação de cristais no trato urinário e podem ser responsáveis por lesões renais. Este problema deve ser levado em consideração quando se trata de carnívoros pois apresentam o pH urinário baixo (VACUTSEM et al., 1990). A toxicidade desta classe de medicamentos é na maior parte dose dependente. A maioria das reações são consideradas pequenas e reversíveis quando o tratamento é descontinuado (MARTINEZ et al., 2006).

Uma das fluorquinolonas de segunda geração, a enrofloxacin, foi considerada eficaz no tratamento da erliquiose canina aguda por *E. canis* e *E. platys* quando utilizada na dose de 5mg/kg/dia, durante 15 dias (KONTOS; ATHANASLOU, 1998). Segundo Couto (1998), evidências recentes sugerem que a enrofloxacin, em doses terapêuticas, pode ser eficiente nos cães com ehrlichiose. Ribeiro et al. (2001) avaliaram a eficácia da enrofloxacin (5mg/kg/dia, por via oral, por 15 dias) no tratamento da ehrlichiose canina aguda e crônica em seis cães naturalmente infectados e observaram que o fármaco foi eficaz na reversão a curto prazo da anemia e sinais clínicos nos animais tratados, mas relataram que um dos cães apresentou uma melhora clínica que foi apenas temporária, ocorrendo da anemia severa e não responsiva, seguida de óbito, logo após o término do tratamento. Assim, concluíram que a enrofloxacin não foi um tratamento 100% eficaz para a ehrlichiose canina. Já Neer et al. (1999) observaram que a enrofloxacin não mostrou valor terapêutico no tratamento de infecção experimental por *E. canis*.

A azitromicina tem sido utilizada por alguns veterinários como opção terapêutica nos casos de reinfecção com *E. canis*, ou em situações como animais gestantes e filhotes, por causar menos efeitos colaterais. Segundo Cantadore (2008), o tratamento de animais doentes com azitromicina na dose de 20mg/kg a cada 24 horas durante sete dias, não é capaz de eliminar *E. canis* de cães naturalmente infectados e levar a recuperação clínica e hematológica destes animais.

Corticosteróides também são indicados na preservação da integridade vascular ou da função plaquetária, principalmente na fase crônica e grave da EMC (SOUZA et al., 2004).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Localização do Estudo e Seleção dos Animais

O presente trabalho foi realizado nas dependências do Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária (LQEPV) do Departamento de Parasitologia Animal do Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, localizada no município de Seropédica, Estado do Rio de Janeiro.

Foram selecionados 12 animais da raça Beagle, no período de outubro de 2008 a outubro de 2009, de um total de 90 cães mantidos no canil experimental do LQEPV, com sinais clínicos compatíveis com os freqüentemente encontrados em cães com ehrlichiose, como febre, anorexia, vômito, emagrecimento, mucosas hipocoradas, presença de petéquias, hepato e esplenomegalia, além da presença de carrapatos *R. sanguineus* e do achado hematológico de trombocitopenia. O diagnóstico laboratorial foi confirmado pela identificação direta de mórulas de *Ehrlichia* sp. em monócitos ou linfócitos de amostras de sangue periférico (borda de orelha) corados por Giemsa (Figuras 1 e 2).

Todos os animais são identificados por meio de microchip¹ implantados no tecido subcutâneo, entre as escápulas.

3.2 Habitação e Manejo dos Animais

Os cães foram alojados em canis de piso de terra e grama com um abrigo de alvenaria nas dimensões de 2x4m. A limpeza do ambiente foi realizada diariamente efetuando-se a retirada das fezes e a alimentação foi por meio de bebedouros e comedouros automatizados. Os animais foram manejados diariamente e mantidos com água fresca e ração comercial², com níveis de 12% de umidade (máximo), 4% matéria fibrosa (máximo), 24% de proteína bruta (mínimo), 8% de matéria mineral (máximo), 12% de extrato etéreo (mínimo), 2% de cálcio (máximo) e 1% de fósforo (mínimo).

3.3 Avaliação do Tratamento com Doxiciclina em Cães da Raça Beagle com Ehrlichiose

O início do tratamento foi considerado o dia 0. No dia -1, 24 horas antes do tratamento, os 12 animais selecionados foram avaliados clinicamente quanto à freqüência respiratória, cardíaca e pulmonar, temperatura corporal, coloração de mucosas, ausculta cardiopulmonar, presença ou não de esplenomegalia, presença ou não de linfadenomegalia, presença ou ausência de vômito, presença ou ausência de diarreia, ingestão de alimento e presença ou ausência de petéquias. Além disso, amostras de sangue foram coletadas para realização de hemograma.

Após a pesagem dos animais em balança eletrônica, os 12 cães foram tratados individualmente com doxiciclina³, na dose de 10mg/kg de peso corporal, por via oral, a cada 12 horas por um período de 21 dias. Os animais medicados foram observados durante 20 minutos após a administração da medicação. Nenhum outro antibiótico ou tratamento de suporte foi utilizado no período do estudo.

¹ Animal Tag® Transponderes implantáveis ISSO FDX-B 12 x 2mm

² Classe® - Empresa Du Bom

³ Doxitec® 100mg - Sintec do Brasil

Os dados dos animais referentes ao peso, sexo, idade e quantidade da medicação administrada se encontram na Tabela 1.

Tabela 1. Dados referentes ao peso, sexo, idade e quantidade da medicação administrada dos cães da raça Beagle com ehrlichiose selecionados para avaliação de possíveis alterações ocasionadas pela doxiciclina.

Animal	Dados						
	Nº do chip	Sexo	Idade (anos)	Peso antes do tratamento(kg)	Peso após o tratamento(kg)	Dosagem (mg)	Dosagem (comprimido)
1	300020	F	4	11	12,3	110	1 1/2
2	291090	F	4	10	11,5	100	1
3	274848	M	3	10,5	11	105	1 1/2
4	278555	F	1	9,5	10	95	1
5	290901	M	1	12	12,4	120	1 1/2
6	293700	M	1	12,3	13,1	123	1 1/2
7	296630	M	2	10,7	11,9	107	1 1/2
8	287585	F	2	10,2	11	102	1 1/2
9	280610	F	2	9,5	11,2	95	1
10	270719	F	3	9,6	10,7	96	1
11	258139	M	5	10,4	10,9	104	1 1/2
12	246514	M	5	11,1	11,5	111	1 1/2

Após o início do tratamento, nos dias +7, +14, +21, +25 e +28, todos os animais foram reavaliados efetuando-se os exames clínicos como no dia -1. Nos dias +7, +14 e +21, também foram coletadas amostras sanguíneas, obtidas mediante venipunção jugular, para realização de hemogramas completos (contagem de hemácias, leucócitos e plaquetas), a fim de se observar possíveis variações nos valores de eritrócitos, leucócitos, plaquetas e dosagem de proteína total durante o tratamento. Adicionalmente, foi realizada pesquisa de hemoparasitos por meio de esfregaços sanguíneos de borda de orelha e de capa leucocitária.

O sangue dos animais foi coletado nos tempos pré-determinados com vacutainer da marca BD com capacidade para 2mL sendo utilizado frasco com EDTA e mantidos sob refrigeração. Logo após a coleta, as amostras foram submetidas à realização dos hemogramas no setor de análises clínicas do LQEPV. Para o processo de hematimetria e leucometria foi utilizado o aparelho eletrônico Poch 100 IV Roche. A contagem diferencial de leucócitos foi realizada através de esfregaços sanguíneos corados com conjunto de corantes panótico Instant-Prov⁴ e a determinação de proteína por refratômetro manual.

⁴ Newproo[®] Produtos para Laboratório

3.4 Análise dos Dados

Os resultados dos parâmetros avaliados foram comparados com os obtidos na literatura como indicativos de normalidade (valores mínimos e máximos) em função da espécie, segundo Kahn (2008) e dispostos na Tabela 2.

Quanto aos resultados dos exames hematológicos empregou-se a transformação logarítmica, com Log natural de $n+1$, tendo em vista que alguns parâmetros apresentaram coeficiente de variação (CV) superior a 30%. Utilizou-se o método paramétrico teste T de Student para comparar os valores médios dos parâmetros hematológicos dos animais no dia -1 (antes do tratamento) e no dia +21 (fim do tratamento). O nível de significância considerado foi de 95% ($p \leq 0,05$). As análises foram realizadas pelo programa estatístico Bioestat 5.0.

Tabela 2. Valores de referência dos parâmetros hematológicos de cães, segundo Kahn (2008).

Eritrograma		Leucograma		Outros	
Hemácias (10^6 cels / μ)	5,50 - 8,50	Leucócitos (cél/ μ l)	6.000 - 17.000	Plaquetas (cél/ μ l)	150.000 - 500.000
Hematócrito (%)	37 - 55	Mielócitos (cél/ μ l)	0 - 0	Proteínas (g/dl)	5,5 - 8,0
Hemoglobina (g / dl)	12,0 - 18,0	Metamielócitos (cél/ μ l)	0 - 0		
VGM (fentolitros)	60,0 - 77,0	Bastões (cél/ μ l)	0 - 540		
CHGM (%)	31,0 - 36,0	Segmentados (cél/ μ l)	3.000 - 11.100		
		Linfócitos (cél/ μ l)	1.000 - 4.800		
		Monócitos (cél/ μ l)	150 - 1.350		
		Eosinófilos (cél/ μ l)	100 - 1.250		
		Basófilos (cél/ μ l)	0 - 200		

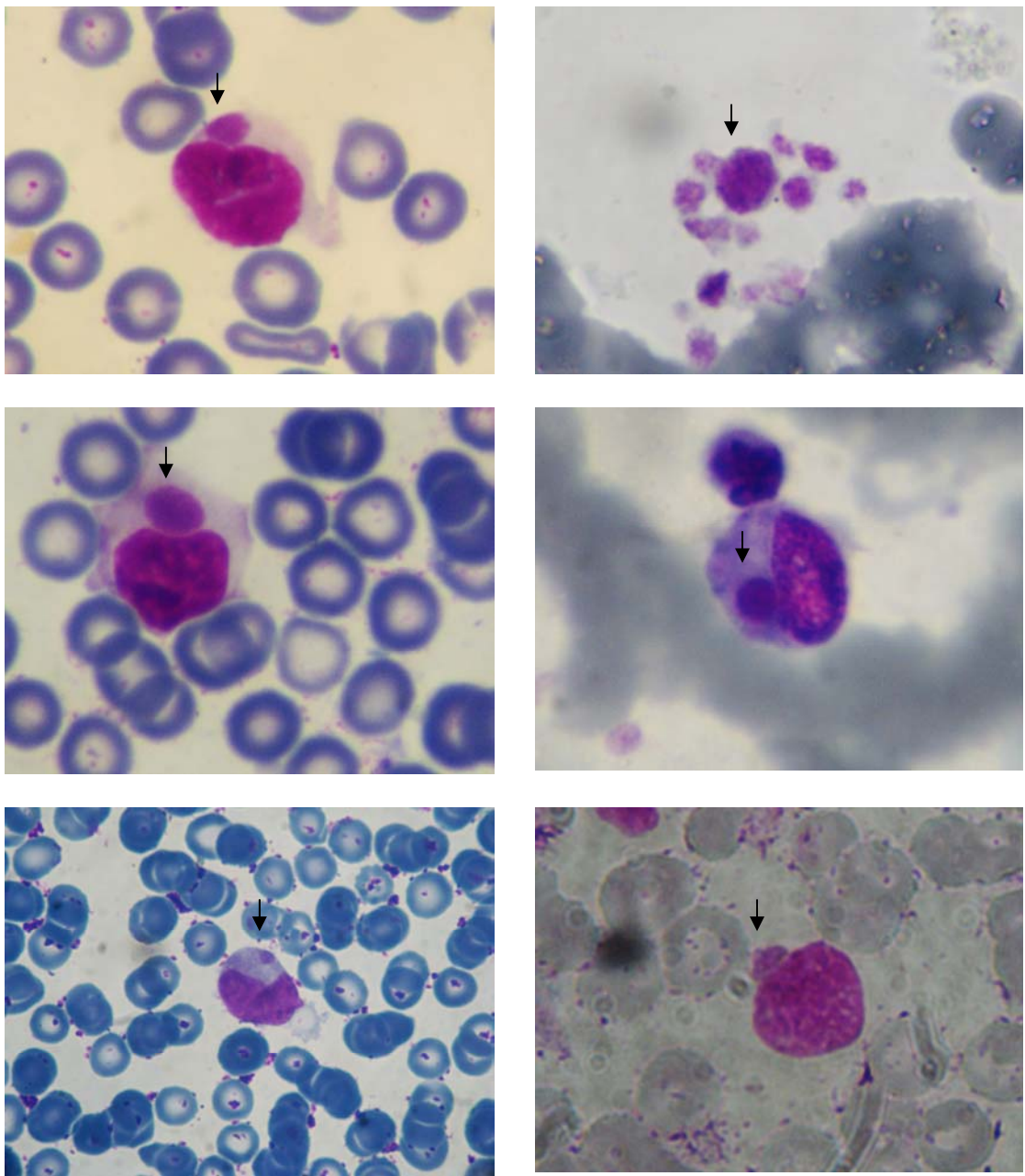


Figura 1. Fotografia de lâminas de esfregaço de sangue periféricos dos cães 300020, 291090, 274848, 278555, 290901 e 293700 no dia -1 demonstrando a presença de mórulas de *Ehrlichia* sp. (ponta de seta) no interior de leucócitos.

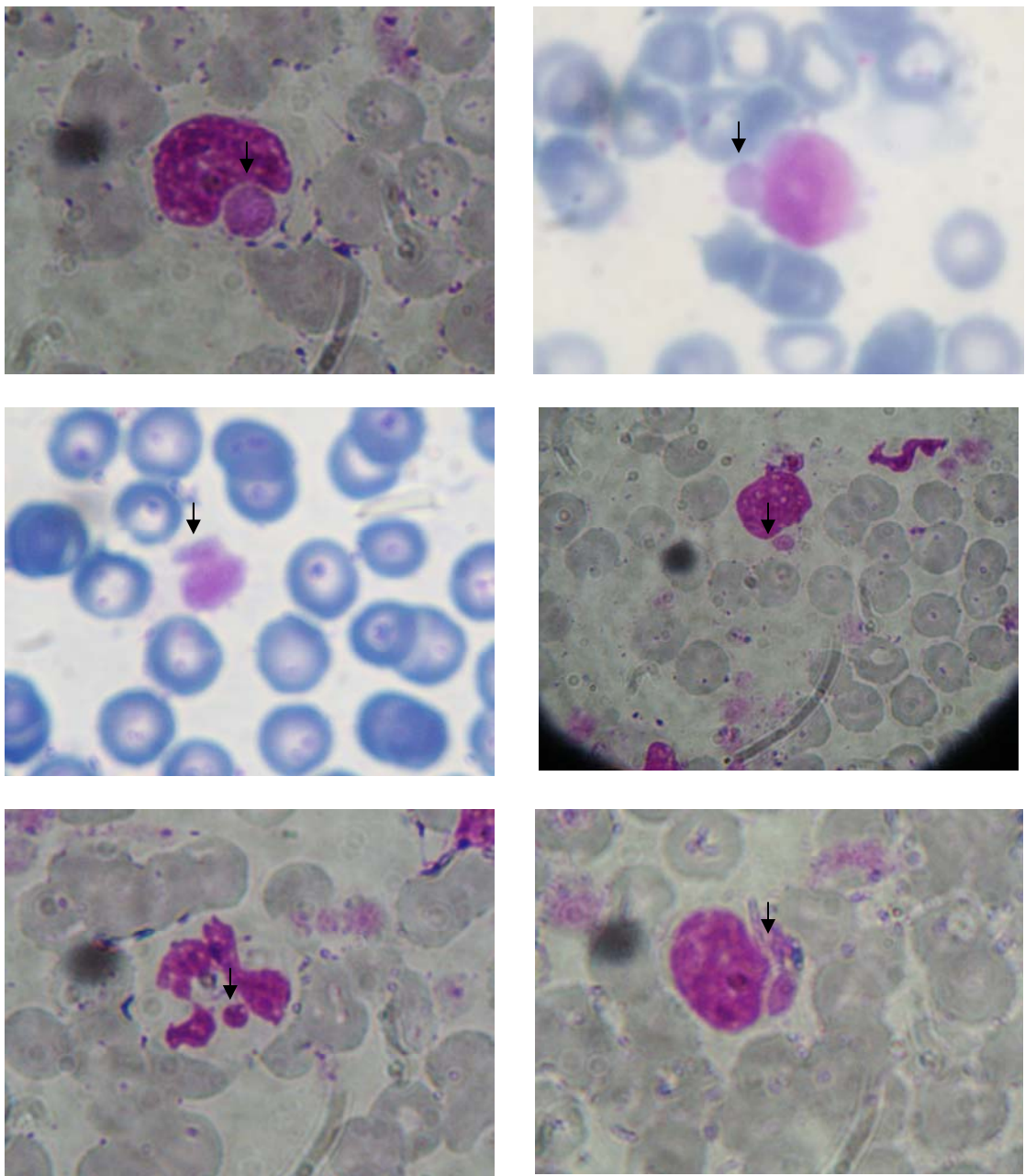


Figura 2. Fotografia de lâminas de esfregaço de sangue periféricos dos cães 296630, 287585, 280610, 270719, 258139, 246514, no dia -1 demonstrando a presença de mórulas de *Ehrlichia* sp. (ponta de seta) no interior de leucócitos.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Avaliação dos Parâmetros Clínicos de Cães da Raça Beagle com Ehrlichiose Tratados com Doxiciclina

No presente estudo, febre, anorexia, vômito, diarreia, mucosas hipocoradas, esplenomegalia e linfaadenomegalia, foram os principais sinais clínicos observados nos cães durante o período de avaliação (Tabela 3). Nakaghi (2004) ao realizar exame físico em cães com ehrlichiose atendidos no Hospital Veterinário da UNESP em Jaboticabal constatou achados clínicos semelhantes com o presente estudo. Para outros autores estes achados são citações freqüentes (TROY; FORRESTER, 1990; WANER et al., 1999; FARIA, 2006).

Tabela 3. Número de animais que apresentavam alterações clínicas nos diferentes dias de avaliação (n=12 animais).

Alterações Clínicas	Dias					
	-1	+7	+14	+21	+25	+28
Febre	4	1	0	0	0	0
Anorexia	5	0	0	0	0	0
Vômito	2	2	0	0	0	0
Diarreia	0	3	0	0	0	0
Mucosas hipocoradas	9	6	1	0	0	0
Esplenomegalia	12	11	1	0	0	0
Linfadenomegalia	6	0	0	0	0	0

Febre oscilando entre 39,7°C e 40,8°C foi observada em quatro animais antes do tratamento. Semelhante as observações feitas por Woody e Roskins (1991) e Harrus et al. (1997b) que indicam como causas mais prováveis deste sinal clínico as alterações inflamatórias e hiperplasia do sistema fagocítico mononuclear, com liberação de pirógenos que causam febre e debilidade no estado geral do paciente com ehrlichiose. No dia +7, um animal apresentou quadro febril com temperatura de 39,6°C e entre os dias +14 e +28, nenhum animal apresentou temperatura corporal fora dos parâmetros fisiológicos normais.

Em cinco animais foram observados anorexia e debilidade mas após o início do tratamento a ingestão de alimento foi normalizada e os cães ganharam peso até o fim do período de tratamento.

Dois animais apresentavam vômito antes do tratamento. Um desses animais também vomitou no dia 0, mas nas demais avaliações este sintoma não esteve presente. No período de observação, alguns cães apresentaram vômito após a administração da doxiciclina, nos dias +1, +3, +7 e +8 (Tabela 4), fato explicado porque animais tratados com este fármaco podem desenvolver irritação da mucosa gástrica (GREENE; WATSON, 2006).

Tabela 4. Avaliação individual do parâmetro clínico presença de vômito em cães da raça Beagle, com ehrlichiose tratados com doxiciclina.

Animal	Dias																						
	-1	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
1	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	-	-	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

+ presença de vômito; - ausência de vômito

Três animais apresentaram fezes levemente diarréicas no dia +7. Segundo Greene e Watson (2006), acredita-se que o desenvolvimento de transtornos gastrintestinais em animais tratados com doxiciclina ocorra por mudanças na microbiota entérica bem como por irritação gástrica e intestinal.

Antes do tratamento, nove animais apresentavam mucosas hipocoradas, achado que corrobora com os resultados dos exames hematológicos que indicavam anemia. A persistência desse sintoma ocorreu após o 7º dia de tratamento em seis animais e apenas um cão teve este sintoma prolongado até o 14º dia de tratamento. Após o dia +21, houve melhora da condição clínica desse animal e normalização da coloração das mucosas. Segundo Almosny (2002), mucosa hipocorada, apatia e emaciação são alterações também rotineiras em casos crônicos, oriundos das alterações fisiopatológicas causadas por anemias, infiltrações perivasculares e hipoplasia medular, com pancitopenia e destruição de plaquetas.

Ao realizar a palpação abdominal no dia -1 foi observado alteração sugestiva de esplenomegalia em todos animais. Na avaliação do dia +7, apenas um animal foi verificado a redução do órgão ao tamanho normal enquanto os outros ainda apresentavam esplenomegalia mas em menor grau que na primeira avaliação. No dia +14, apenas um animal permaneceu com este parâmetro levemente alterado. No exame clínico do dia +21, os 12 animais não apresentavam alteração sugestiva do aumento do órgão, como as observações feitas por Harrus et al (1998).

A persistência da esplenomegalia é interpretada como um indicador clínico da manutenção da infecção (HARRUS et al., 1998). De acordo com Harrus et al. (2003), existe a possibilidade de que o parasita se “esconda” nos macrófagos do baço, o que constitui no mecanismo de escape do microorganismo em relação a resposta imune de defesa do hospedeiro. O baço tem um papel fundamental na patogênese da EMC, por ser o órgão que alberga o parasito durante a fase assintomática e o último a acomodar *E. canis*, antes de sua eliminação do organismo do hospedeiro (HARRUS et al., 1998).

Andereg e Passos (1999) relatam que *Ehrlichia* se replica nas células mononucleares, principalmente no sistema fagocítico mononuclear (SFM), resultando em hiperplasia dessa linhagem celular e organomegalia (linfadenopatia, esplenomegalia e hepatomegalia). Segundo Almosny (2002), linfadenomegalia é uma característica freqüentemente observada na ehrlichiose aguda, particularmente em virtude da natureza auto-imune e inflamatória da doença. Isso explica a presença de seis cães apresentarem alteração sugestiva de linfadenomegalia no exame clínico do dia -1. A partir do dia +7, todos animais estavam com linfonodos em tamanho normal.

Segundo Couto (1998a), Andereg e Passos (1999) e Barr (2000), podem aparecer petéquias e equimoses devido à trombocitopenia, mas Greene (1998) relatou que as mesmas podem não ser evidentes, dados semelhantes foram encontrados neste estudo pois em nenhum animal foi observado a presença desses sinais clínicos. Embora a presença de petéquias e de quadros hemorrágicos difusos sejam sugestivos de ehrlichiose, Almosny (2002), menciona que uma diminuição destas alterações poderia ser em decorrência de adaptação parasito-hospedeiro ou da cepa infectante.

Em decorrência do tratamento, observou-se no período de intervalo existente entre a primeira e segunda avaliação, que os animais já mostravam melhora nos parâmetros clínicos avaliados e no dia +21, final do período de tratamento, os cães estavam completamente recuperados. A rápida resposta clínica à terapia pode ser explicada pela interferência da fase da doença, já que a resposta é mais rápida na fase aguda e mais demorada na crônica (BUHLES et al., 1974; HARRUS et al., 1998). Acreditando-se que os animais estavam na fase aguda da doença, devido a observação das mórulas de *Ehrlichia* sp. no esfregaço sanguíneo pois são encontradas com mais freqüência neste período (CASTRO et al., 2004), a resposta ao tratamento ocorreu conforme esperado. Fato que corrobora Barr (2000) e Harrus

et al. (1998), que indicam a doxiciclina como a tetraciclina de escolha para o tratamento da ehrlichiose canina.

4.2 Avaliação dos Parâmetros Hematológicos de Cães da Raça Beagle com Ehrlichiose Tratados com Doxiciclina

Os valores obtidos nas análises hematológicas dos animais, referentes a contagem de eritrócitos (He), hemoglobina (Hb), hematócrito (Ht), volume globular médio (VGM), concentração de hemoglobina globular média (CHGM), plaquetas, proteína plasmática total (PPT), leucócitos, contagem absoluta de linfócitos, neutrófilos, monócitos, eosinófilos e basófilos estão apresentados em tabelas e figuras a seguir.

4.2.1 Hemograma e contagem de plaquetas

O curso da ehrlichiose é comumente associado a alterações hematológicas, particularmente a trombocitopenia e anemia (HARRUS et al. 1997a,b; ALMOSNY, 1998), que vão de encontro aos resultados obtidos neste estudo no momento do diagnóstico (dia -1) quando se avaliou os valores médios do hemograma.

De acordo com os valores de volume globular médio e concentração de hemoglobina globular média (Tabela 8 e 9; Figuras 6 e 7), os quais classificam anemias e avaliam se a medula óssea produz hemácias de tamanho e conteúdo de hemoglobina normal ou não, os cães apresentaram um quadro de anemia normocítica normocrômica, quadro este, que pode estar associado à ausência de resposta medular na compensação da anemia. Esse tipo de anemia foi diagnosticado por outros autores ao realizarem estudos com infestação natural e experimental por *Ehrlichia* sp. (NEITZ; THOMAS, 1938; HUXSOLL et al., 1969; HUXSOLL et al., 1972; HOSKINS, 1991; ALMOSNY, 1998; BORIN et al., 2009). Atuação do sistema monocítico-fagocitário, lise celular pela ação do sistema complemento e supressão da eritropoiese na medula óssea podem ser os mecanismos apontados como responsáveis pelo quadro anêmico da doença (MOREIRA et al., 2003), sugerindo resposta medular não regenerativa ou pouco responsiva (WALDEMARIN et al., 2003; BUSH, 2004).

No dia +7 a média dos resultados hematológicos dos 12 cães envolvidos no estudo indicaram que anemia normocítica normocrômica persistiu mesmo após o início do tratamento (Tabelas 5 a 9; Figuras 3 a 7;). Nos dias +14 e +21, as contagens médias de hemácias e valor de hematócrito estavam dentro dos parâmetros normais para a espécie. Houve diferença estatística significativa entre os dias -1 e +21 na contagem de hemácias e nos valores de hematócrito.

Avaliando-se os resultados da série vermelha dos hemogramas de cada animal, foi observado que antes do tratamento, oito animais apresentaram anemia enquanto no dia +7 apenas quatro permaneceram com este sintoma. No dia +14, embora a média dos resultados tenha indicado recuperação da anemia, dois animais (cães 1 e 2) ainda não haviam se recuperado, porém na avaliação do dia +21, os parâmetros já se encontraram dentro dos valores de referência.

A contagem de plaquetas é considerada um bom indicador da eficiência da terapia contra *Ehrlichia* spp., de modo que a normalização geralmente ocorre dentro de quatorze dias após o tratamento (HARRUS et al. 1998; NEER et al. 2002). Os resultados deste parâmetro dos animais avaliados permitem corroborar tal afirmação. Antes do tratamento, todos os animais apresentavam trombocitopenia (Tabela 10; Figura 8). Essa alteração hematológica persistiu até o dia +14 quando avaliou-se a média de plaquetas, entretanto quatro animais já apresentaram contagem normalizada. No fim do tratamento, os 12 animais estavam com plaquetometria normalizada, havendo diferença estatística significativa entre os dias -1 e +21.

Tabela 5. Valores observados, médias e desvio padrão das hemácias ($\times 10^6$ células/ μl) nos diferentes dias de avaliação, para os 12 cães com ehrlichiose tratados com doxiciclina.

Animal	Dias			
	-1	+7	+14	+21
1	1.47	2.73	4.68	5.59
2	1.75	3.01	4.98	5.61
3	6.14	6.28	6.58	7.21
4	5.44	6.02	6.45	7.69
5	4.50	5.33	5.73	6.03
6	7.32	7.39	7.42	7.59
7	4.46	5.00	5.66	5.87
8	4.85	5.63	5.98	6.29
9	5.49	5.79	6.02	6.82
10	4.53	5.26	6.13	6.59
11	4.29	5.42	6.09	6.91
12	6.28	6.68	7.11	7.57
Média	4.71	5.38	6.07	6.65
DP	1.71	1.35	0.78	0.77

Valores de referência: 5,5 a 8,5 $\times 10^6$ células/ μl

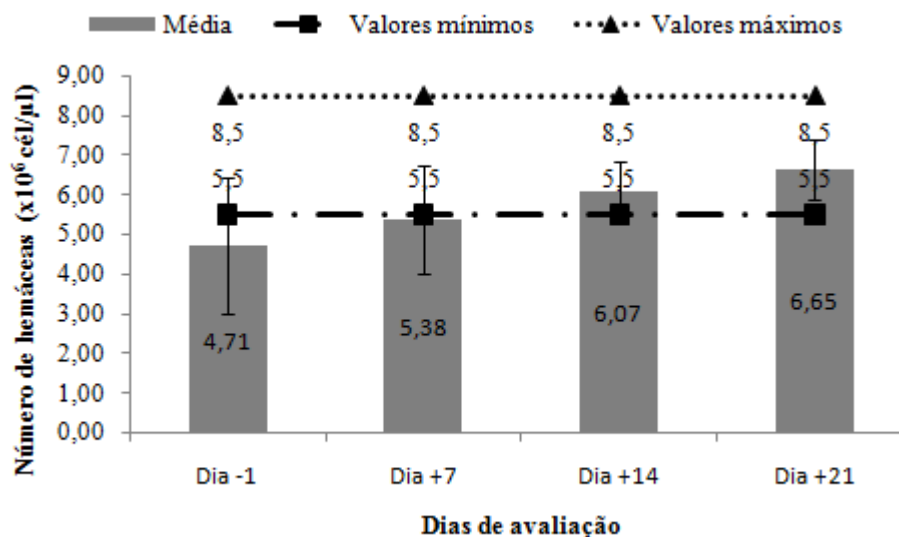


Figura 3. Valores observados de média e desvios padrão de hemácias ($\times 10^6$ células/ μl) nos diferentes dias de avaliação.

Tabela 6. Valores observados, médias e desvio padrão hematócrito (%) nos diferentes dias de avaliação, para os 12 cães com ehrlichiose tratados com doxiciclina.

Animal	Dias			
	-1	+7	+14	+21
1	10	19	30	38
2	12	17	28	39
3	37	39	47	48
4	37	40	42	45
5	29	36	40	42
6	47	49	51	51
7	28	34	40	41
8	32	38	43	46
9	35	41	42	44
10	28	33	39	42
11	28	37	40	45
12	41	42	45	51
Média	30.33	35.42	40.58	44.33
DP	10.76	9.14	6.42	4.23

Valores de referência: 37 a 55 %

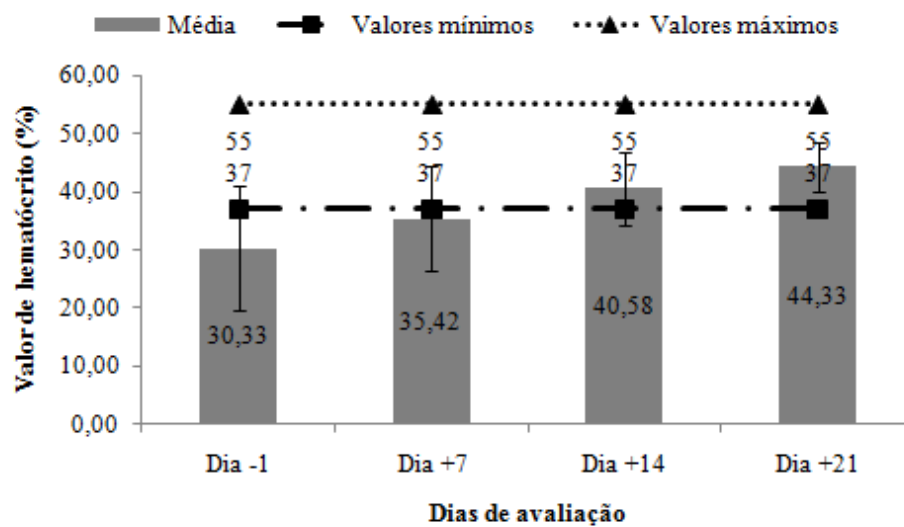


Figura 4. Valores observados de média e desvios padrão de hematócrito (%) nos diferentes dias de avaliação.

Tabela 7. Valores observados, médias e desvio padrão de hemoglobina (g/dl) nos diferentes dias de avaliação, para os 12 cães com ehrlichiose tratados com doxiciclina.

Animal	Dias			
	-1	+7	+14	+21
1	3.60	5.60	7.90	12.10
2	4.10	6.30	8.60	13.50
3	11.90	12.20	13.90	15.70
4	12.80	13.50	14.70	16.20
5	9.70	10.60	12.20	14.30
6	16.00	16.80	17.20	17.50
7	9.30	10.90	11.70	13.50
8	10.60	11.50	12.80	16.70
9	11.50	12.00	14.30	17.20
10	9.10	10.20	12.60	17.60
11	9.40	11.00	12.60	15.80
12	13.90	14.30	15.60	17.60
Média	10.16	11.24	12.84	15.64
DP	3.60	3.09	2.66	1.87

Valores de referência: 12 a 18 g/dl

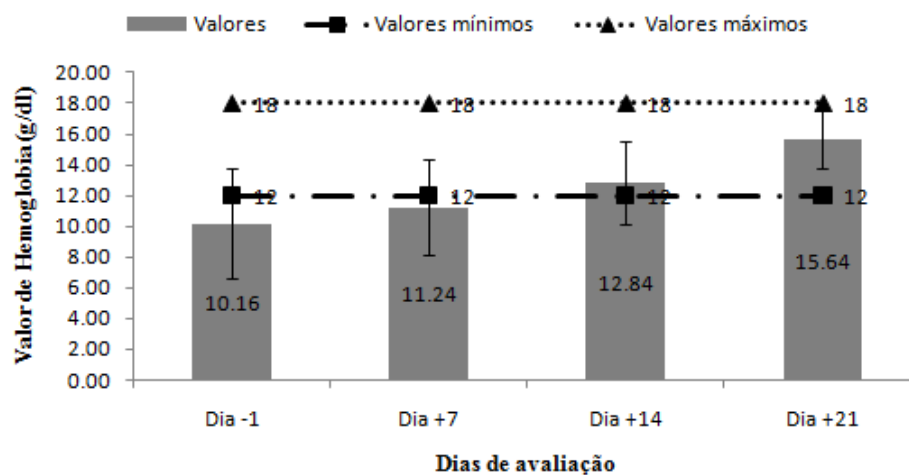


Figura 5. Valores observados de média e desvios padrão de hemoglobina (g/dl) nos diferentes dias de avaliação.

Tabela 8. Valores observados, médias e desvio padrão do volume globular médio (VGM) (fentolitros) nos diferentes dias de avaliação, para os 12 cães com ehrlichiose tratados com doxiciclina.

Animal	Dias			
	-1	+7	+14	+21
1	68	69	72	74
2	69	70	74	74
3	60	62	64	67
4	68	68	72	73
5	64	65	65	70
6	64	64	64	66
7	63	64	66	66
8	66	67	69	71
9	64	68	68	68
10	62	63	66	66
11	65	68	69	72
12	65	67	71	71
Média	64.83	66.25	68.33	69.83
DP	2.62	2.56	3.39	3.13

Valores de referência: 60 a 77 fL

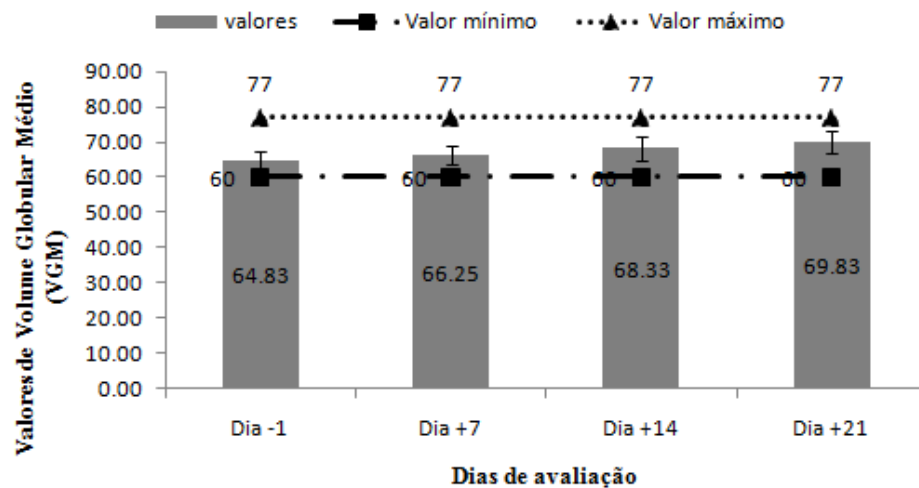


Figura 6. Valores observados de média e desvios padrão do volume globular médio (VGM) nos diferentes dias de avaliação.

Tabela 9. Valores observados, médias e desvio padrão da concentração de hemoglobina globular média (CHGM) (%) nos diferentes dias de avaliação, para os 12 cães com ehrlichiose tratados com doxiciclina.

Animal	Dias			
	-1	+7	+14	+21
1	36	36	36	36
2	34	34	35	35
3	32	33	33	33
4	35	35	35	36
5	33	33	34	34
6	34	34	34	34
7	33	33	33	34
8	33	34	34	34
9	33	33	34	33
10	32	33	33	32
11	34	34	34	35
12	34	35	35	35
Média	33.58	33.92	34.17	34.25
DP	1.16	1.00	0.94	1.22

Valores de referência: 32 a 36 %

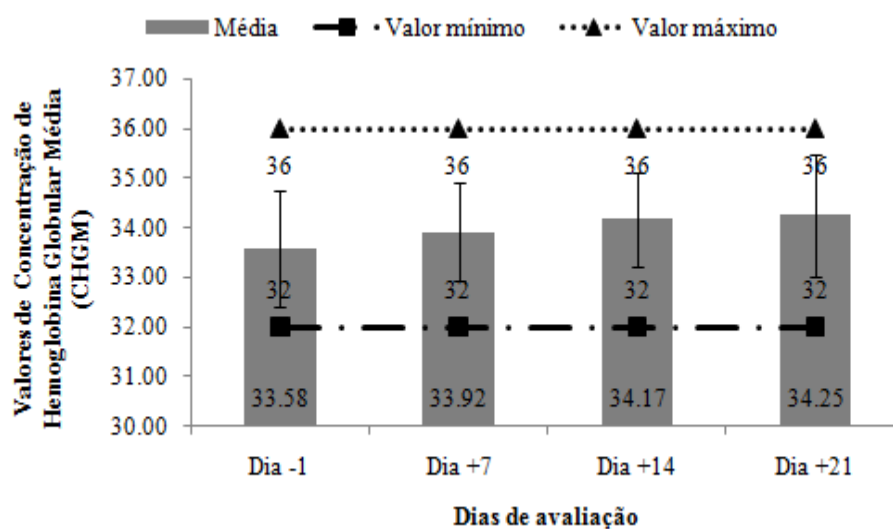


Figura 7. Valores observados de média e desvios padrão da concentração de hemoglobina globular média (CHGM) (%) nos diferentes dias de avaliação.

Tabela 10. Valores observados, médias e desvios padrão da contagem de plaquetas (células/ μ l) nos diferentes dias de avaliação, para os 12 cães com ehrlichiose tratados com doxiciclina.

Animal	Dias			
	-1	+7	+14	+21
1	42000	120000	147000	156000
2	26000	46000	103000	148000
3	104000	156000	202000	256000
4	83000	108000	149000	201000
5	95000	112000	162000	213000
6	58000	76000	121000	172000
7	120000	175000	206000	302000
8	72000	95000	124000	168000
9	146000	162000	192000	237000
10	124000	152000	208000	220000
11	87000	118000	146000	176000
12	58000	93000	158000	186000
Média	84583.33	117750	159833.3	202916.7
DP	35536.05	38169.78	35378.04	45324.00

Valores de referência: 150000 a 500000 células/ μ l

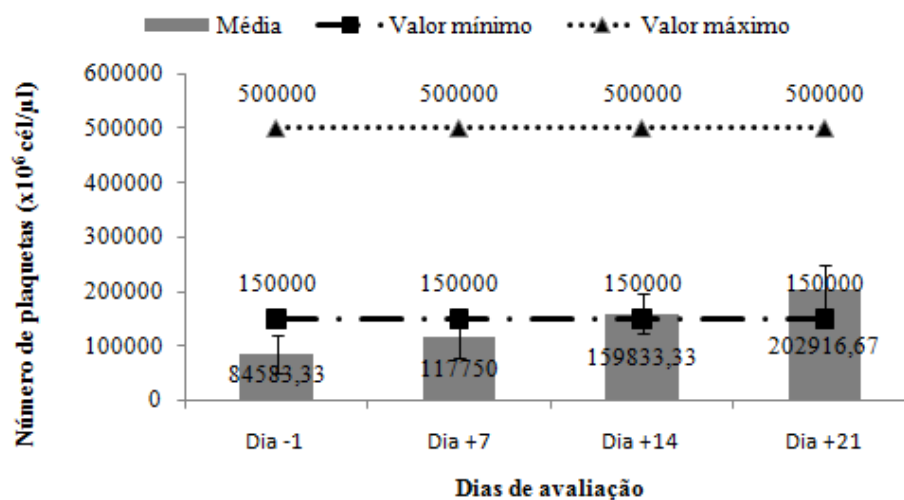


Figura 8. Valores observados de média e desvios padrão de plaquetas ($\times 10^6$ células/ μ l) nos diferentes dias de avaliação.

Tabela 11. Valores observados, médias e desvios padrão da determinação de proteínas totais (g/dl) nos diferentes dias de avaliação, para os 12 cães com ehrlichiose tratados com doxiciclina.

Animal	Dias			
	-1	+7	+14	+21
1	8.6	8.1	7.2	7.5
2	8.8	8	7.2	6.6
3	7.2	6.6	7.5	8.1
4	6.6	6.1	7.3	8.6
5	8	7.7	8.3	7.1
6	8	7.3	7.7	6.8
7	8.8	8.2	8	7.2
8	7.6	7	8	8.2
9	8	7.2	7.6	6.4
10	7.8	6.5	5.9	6.8
11	6.4	6.8	7.9	8.1
12	7.6	7.2	7.9	6.3
Média	7.78	7.23	7.54	7.31
DP	0.77	0.67	0.62	0.78

Valores de referência: 6,0 a 8,0 g/dl

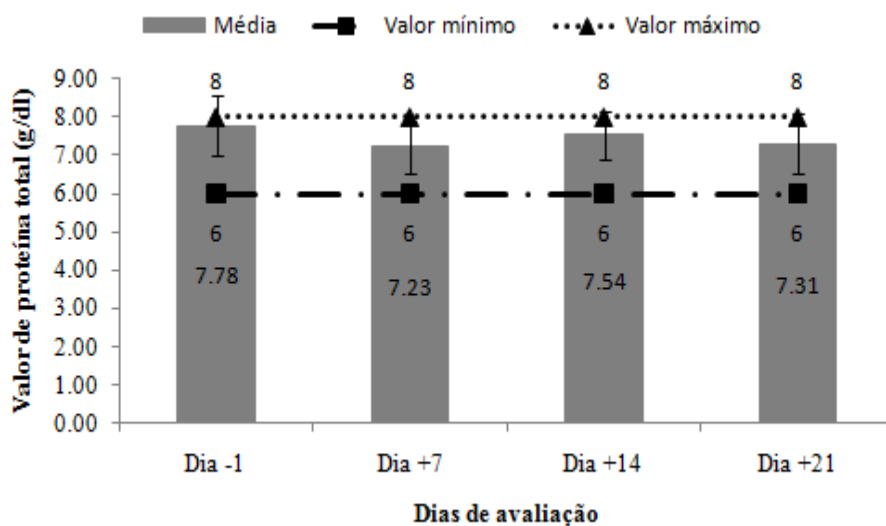


Figura 9. Valores observados de média e desvios padrão da determinação de proteínas totais (g/dl) nos diferentes dias de avaliação.

4.2.2 Leucograma

Os dados do leucograma encontram-se nas Tabelas 12 a 17 e Figuras 10 a 15. Segundo Greene e Harvey (1990), a leucocitose é considerada característica na fase aguda da ehrlichiose, no entanto foi observada em apenas três animais (cães 2, 3 e 6) enquanto os outros apresentavam contagem leucocitária normal condizente com os achados de Waldemarin et al. (2003) ao estudarem as alterações hematológicas em cães naturalmente infectados por *Ehrlichia* sp. De acordo com Greene e Harvey (1990) e Harrus et al. (1997a), a leucopenia, é geralmente associada à fase crônica, mas também já foi descrita na fase aguda (CASTRO et al., 2004). Após o tratamento, apenas um animal permaneceu com leucocitose enquanto os outros estavam com a contagem de leucócitos normal. Houve diferença estatística significativa na contagem de leucócitos totais entres os dias -1 e +21 (Figura 10).

O número de monócitos pode variar muito entre cães, sendo a monocitose um achado freqüente e indicativo da possibilidade de ehrlichiose mesmo antes da observação de mórulas, que comumente são visualizadas nas altas parasitemias, características de fase aguda (PAGANI et al., 2000).

Embora a monocitose seja freqüentemente descrita na ehrlichiose, relacionada principalmente à fase aguda (KUEHN; GAUNT, 1985; GREENE; HARVEY, 1990; HARRUS et al. 1997b), apenas dois, cães 3 e 12, demonstraram esta alteração no momento do diagnóstico (Tabela 14). Desses, o cão 3 apresentou valores normais a partir do dia +14 e o cão 12 a partir do dia +21, como os achados obtidos por Pedrosa (2006) ao avaliar o perfil hematológico de cinco cães com ehrlichiose tratados com doxiciclina. No dia +14, em um animal foi verificado monocitose. Valores normais na contagem de monócitos foram observados em todos os animais.

Segundo Coles (1986) e Jain (1993), eosinopenia e linfopenia são características de fase aguda. No presente trabalho, no dia -1 apenas dois animais (cães 1 e 4) apresentaram eosinopenia que persistiu até o dia +7 e atingiu os parâmetros normais a partir do dia +14 (Tabela 16). Esta alteração ocorreu provavelmente à ação dos glicocorticóides endógenos, liberados sob situação de estresse e em quadros de infecção grave, reduzindo a produção de eosinófilos e linfócitos pela medula óssea e ocasionando aumento da sua destruição (WALDEMARIN et al., 2003; BUSH, 2004). No dia +7, eosinofilia foi observada no cão 3 e pode ser considerada uma resposta inespecífica decorrente do parasitismo por *Ancylostoma* sp. ou até pela exposição a pulgas. Hipersensibilidade ou lesão incomum que produz quimiotáticos aos eosinófilos também podem causar eosinofilia. A partir do dia +14, este animal se recuperou e a contagem de eosinófilos permaneceu dentro dos parâmetros fisiológicos normais até o fim do período observacional.

Quanto a contagem de neutrófilos, os valores médios antes do tratamento e nas outras avaliações permaneceram normais (Tabela 15). Entretanto, quatro cães, animais 1, 2, 3 e 6, apresentaram neutrofilia nos resultados da contagem diferencial de leucócitos em todas as avaliações, exceto o animal 1 que já no dia +7 apresentava contagem dentro dos valores de referência. Dos animais do estudo, apenas os cães 3 e 6 desenvolveram neutrofilia com leve desvio a esquerda regenerativo.

Na literatura não é abordado de forma específica qual o tempo estimado para normalização dos valores de cada tipo de leucócito durante o tratamento, apenas cita-se que há uma melhora ao longo do tratamento (SAINZ, 1996; SOUSA et al., 2004).

Tabela 12. Valores observados, médias e desvio padrão da contagem de leucócitos totais (células/ μ l) nos diferentes dias de avaliação, para os 12 cães com ehrlichiose tratados com doxiciclina.

Animal	Período			
	-1	7	14	21
1	15400	12600	11200	10200
2	20300	19800	17300	16200
3	35600	32100	22500	17100
4	6500	6300	6400	6200
5	10700	9800	9200	8300
6	20900	18200	17600	15900
7	9100	8700	7900	7500
8	9200	8600	8100	7800
9	14300	13700	13500	13300
10	9900	9200	8400	7500
11	7900	8100	7500	7600
12	12600	10700	8400	8300
Média	14366.67	13150.00	11500.00	10491.67
DP	8115.45	7231.18	5107.75	3988.72

Valores de referência: 6000 a 17000 células/ μ l

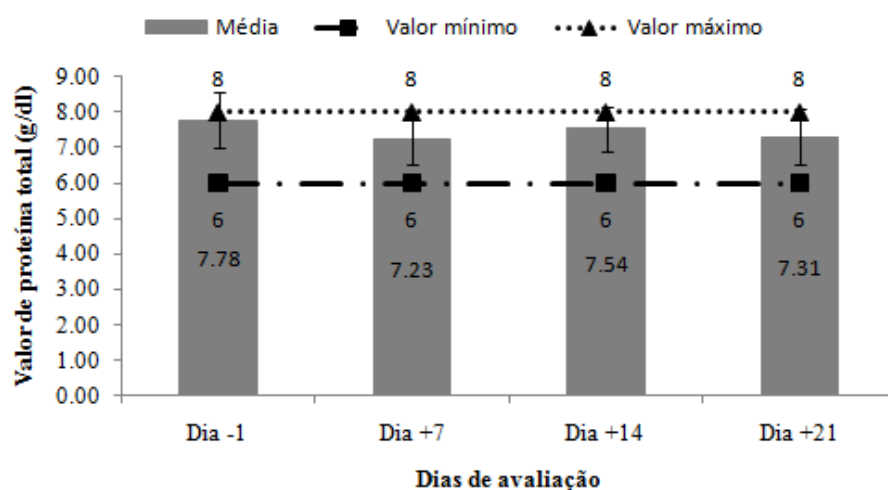


Figura 10. Valores observados de média e desvios padrão da contagem de leucócitos totais (células/ μ l) nos diferentes dias de avaliação.

Tabela 13. Valores observados, médias e desvio padrão da contagem de linfócitos (células/ μ l) nos diferentes dias de avaliação, para os 12 cães com ehrlichiose tratados com doxiciclina.

Animal	Dias			
	-1	+7	+14	+21
1	1078	882	1568	1938
2	812	1188	1730	1620
3	1068	2568	4500	3420
4	1105	1071	1408	1364
5	2247	1764	1840	1660
6	2090	2002	2816	2544
7	2366	2349	1817	1725
8	2024	1978	2025	1950
9	4862	4658	3915	3857
10	3465	3220	2520	2250
11	1501	1458	1875	1900
12	1890	1605	1344	1909
Média	2042.33	2061.92	2279.83	2178.08
DP	1156.47	1054.43	1001.34	751.21

Valores de referência: 1000 a 4800 células/ μ l

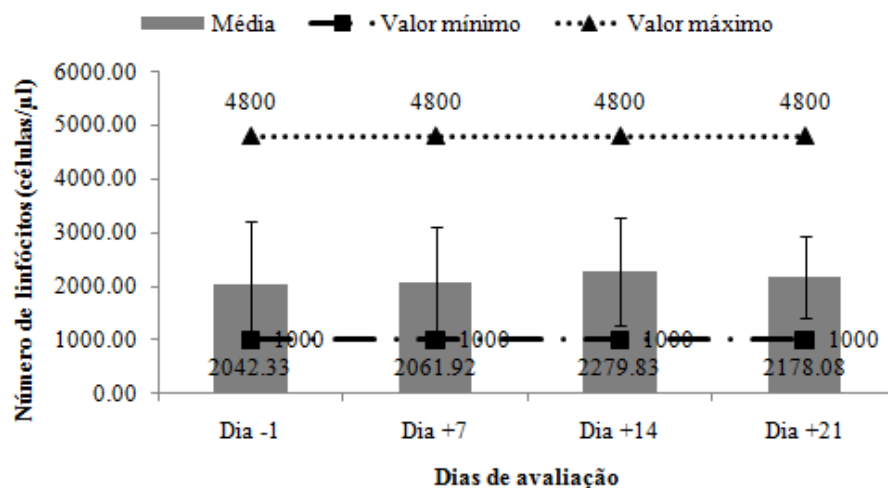


Figura 11. Valores observados de média e desvios padrão da contagem de linfócitos (células/ μ l) nos diferentes dias de avaliação.

Tabela 14. Valores observados, médias e desvio padrão da contagem de monócitos (células/ μ l) nos diferentes dias de avaliação, para os 12 cães com ehrlichiose tratados com doxiciclina.

Animal	Dias			
	-1	+7	+14	+21
1	154	252	224	306
2	1015	1188	865	810
3	4984	4484	1350	855
4	195	189	192	186
5	856	784	552	498
6	1254	546	704	636
7	364	261	316	300
8	1104	1032	648	624
9	429	411	1540	532
10	396	368	420	375
11	237	405	300	304
12	4284	2996	2100	1245
Média	1272.67	1076.33	767.58	555.92
DP	1620.95	1321.34	599.67	302.23

Valores de referência: 150 a 1350 células/ μ l

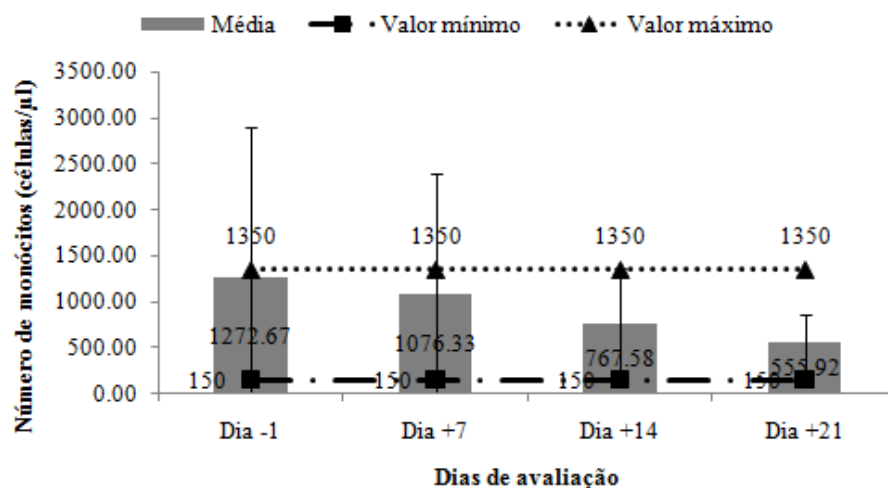


Figura 12. Valores observados de média e desvios padrão da contagem de monócitos (células/ μ l) nos diferentes dias de avaliação.

Tabela 15. Valores observados, médias e desvios padrão da contagem de neutrófilos (células/ μ l) nos diferentes dias de avaliação, para os 12 cães com ehrlichiose tratados com doxiciclina.

Animal	Dias			
	-1	+7	+14	+21
1	14168	11340	9296	7548
2	18270	16830	13840	12960
3	27768	22791	15300	11628
4	4940	4851	4480	4340
5	7276	6958	6440	5810
6	16302	14560	13200	11925
7	5369	5133	5293	5025
8	5244	4816	4860	4680
9	7865	7398	8100	7980
10	4851	4324	4704	4200
11	5056	5184	4425	4484
12	6048	5778	4620	8814
Média	10263.08	9163.58	7879.83	7449.50
DP	7314.82	5960.37	4079.13	3237.10

Valores de referência: 3000 a 11100 células/ μ l

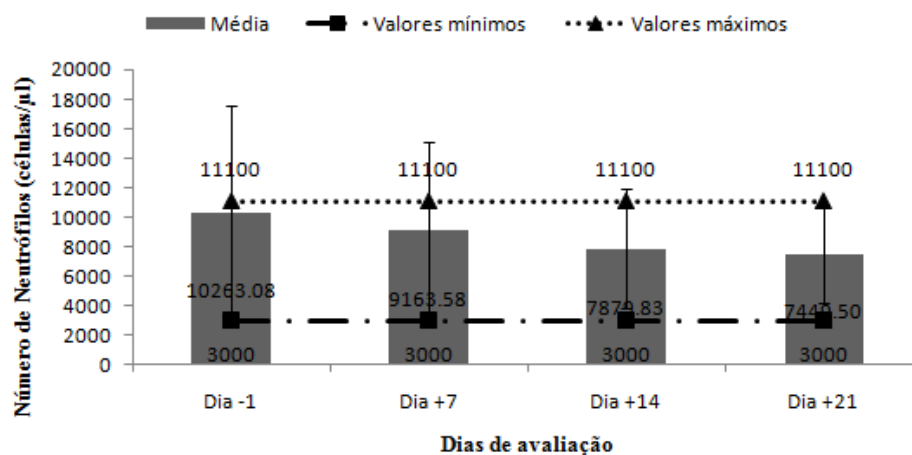


Figura 13. Valores observados de média e desvios padrão da contagem de neutrófilos (células/ μ l) nos diferentes dias de avaliação.

Tabela 16. Valores observados, médias e desvios padrão da contagem de eosinófilos (células/ μ l) nos diferentes dias de avaliação, para os 12 cães com ehrlichiose tratados com doxiciclina.

Animal	Dias			
	-1	+7	+14	+21
1	0	0	112	306
2	203	594	465	810
3	712	1284	900	455
4	0	63	192	186
5	214	196	276	249
6	1045	910	804	636
7	736	435	237	225
8	364	688	486	468
9	858	959	675	665
10	693	828	504	450
11	474	567	450	456
12	252	214	252	249
Média	462.58	561.50	446.08	429.58
DP	343.37	395.85	248.33	197.18

Valores de referência: 100 a 1250 células/ μ l

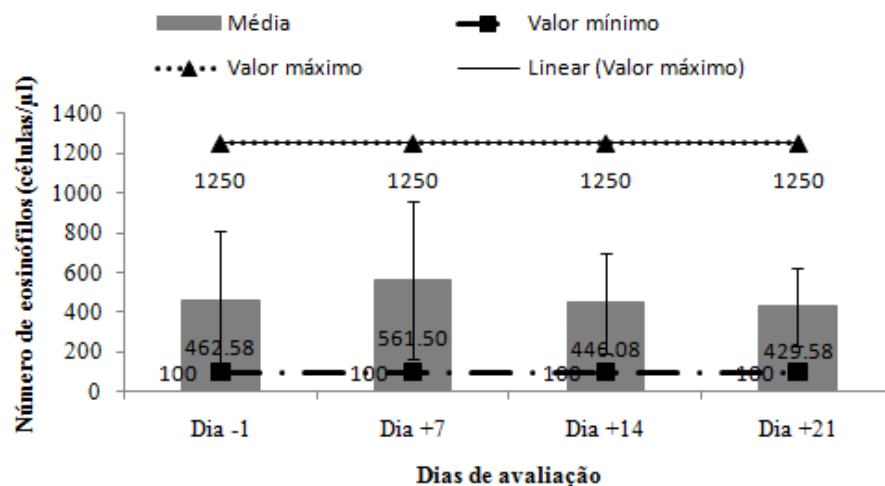


Figura 14. Valores observados de média e desvios padrão da contagem de eosinófilos (células/ μ l) nos diferentes dias de avaliação.

Tabela 17. Valores observados, médias e desvios padrão da contagem de bastões (células/ μ l) nos diferentes dias de avaliação, para os 12 cães com ehrlichiose tratados com doxiciclina.

Animal	Período			
	-1	7	14	21
300020	0	126	0	102
291090	0	0	0	0
274848	1068	963	450	342
278555	260	126	128	124
290901	107	98	92	83
293700	209	182	176	159
296630	546	522	237	225
287585	92	86	81	78
280610	286	274	270	266
270719	495	460	252	225
258139	632	486	450	456
246514	126	107	84	83
Média	318.42	285.83	185.00	178.58
DP	315.56	275.62	152.65	129.73

Valores de referência: 0 a 540 células/ μ l

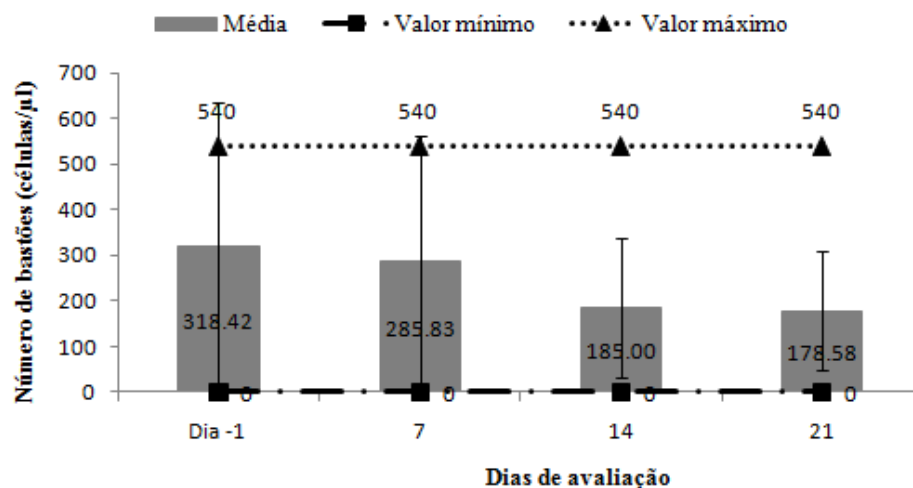


Figura 15. Valores observados de média e desvios padrão da contagem de bastões (células/ μ l) nos diferentes dias de avaliação.

4.2.3 Pesquisa de hemoparasitos

Mórulas intracitoplasmáticas em células mononucleares foram encontradas em esfregaços sanguíneos de ponta de orelha nos cães antes do tratamento, confirmando a infecção por *Ehrlichia* sp. antes do tratamento. Ao realizar esta técnica nos diferentes períodos de avaliação, não foi observada nenhuma mórula, assim como na técnica de esfregaço de capa leucocitária realizada durante as análises hematológicas. Mesmo diante de resultados negativos na detecção direta de inclusões citoplasmáticas, não se deve descartar as doenças ehrlichiais. As baixas e curtas parasitemias associadas à pancitopenia dificultam o encontro das inclusões, mesmo em animais com sintomas sugestivos da doença, podendo apresentar resultados negativos também por métodos moleculares (DUPLESSIS et al., 1990; WOODY; HOSKINS, 1991; BOJERSSON, 2000; ALSOPP; ALSOPP, 2001).

4.3 Avaliação do Efeito Terapêutico da Doxiciclina

A permanência de anormalidades clínicas e/ou hematológicas em cães com ehrlichiose, além da persistência de anticorpos reativos e da presença de DNA de *Ehrlichia* spp. em métodos de diagnóstico moleculares são fatores que induzem muitos veterinários a tratar a doença com doxiciclina ou tetraciclina por um longo período (meses ou anos), facilitando potencialmente o desenvolvimento de resistência bacteriana. Por essa razão, outras alternativas de tratamento têm sido utilizadas como esforço para obter uma resposta terapêutica satisfatória, como o uso de dipropionato de imidocarb, cloranfenicol, azitromicina e enrofloxacin. Entretanto, estes fármacos podem ter restrições quanto a sua administração em algumas situações (WEN et al., 1997).

Branger et al. (2004) avaliaram a susceptibilidade *in vitro* de *E. canis*, *E. chaffeensis* e *Anaplasma phagocytophilum* a vários antibióticos como gentamicina, ceftriaxona, amoxicilina, ciprofloxacina, tiamfenicol, cloranfenicol, eritromicina, rifampicina e doxiciclina. Estes autores concluíram que apenas doxiciclina e rifampicina foram efetivas e ainda sugerem que *Ehrlichia* e *Anaplasma* são considerados organismos altamente resistentes.

O presente estudo demonstrou que a doxiciclina quando administrada na dose de 10mg/kg durante 21 dias normaliza as alterações clínico-hematológicas de cães infectados por *Ehrlichia* sp. Entretanto, Harrus et al. (1998) ao realizar um protocolo de tratamento por um período de 42 dias, concluíram que de um total de quatro cães que estavam na fase subclínica da ehrlichiose, após 30 dias de tratamento, tiveram amostras de sangue com resultado PCR negativo e um desses cães, na avaliação após 42 dias de tratamento, retornou a um resultado PCR positivo. Este fato sugere que 42 dias de terapia com doxiciclina pode não ser suficiente para eliminação *E. canis* de cães subclínicamente infectados.

Devido a possibilidade de persistência do DNA não associada com a viabilidade do microrganismo, a falta de sensibilidade de isolamento em cultura de células, a variabilidade na resposta da imunofluorescência indireta (IFI) a produção de anticorpos pós-tratamento, outras alternativas são necessárias para provar a eliminação terapêutica da infecção (BREITSCHWERDT et al., 1998).

Harrus et al. (1998) sugerem que o aumento na contagem de plaquetas pode ser um indicador importante para cães que se recuperaram de ehrlichiose subclínica.

5 CONCLUSÃO

A terapia com doxiciclina na dose de 10mg/Kg administrada a cada 12 horas durante 21 dias levou a recuperação clínica e hematológica de cães naturalmente infectados por *Ehrlichia* sp. sem provocar alterações clínicas em decorrência do tratamento.

6 REFÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, H. R. **Farmacologia e Terapêutica em Veterinária**, 8ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2003, 1034 p.

AGUIAR, D. M. et al. Diagnóstico sorológico de erliquiose canina com antígeno brasileiro de *Ehrlichia canis*. **Ciência Rural**, v. 37, p.796-802, 2007.

ALSOPP, M. T. E.; ALSOPP, B. A. Novel *Ehrlichia* genotype detected in dogs in South Africa. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 39, n. 11, p. 4204-4207, 2001.

ALMOSNY, N. R. P. ***Ehrlichia canis* (Donatien; Lestoquard, 1935). Avaliação parasitológica, hematológica e bioquímica sérica da fase aguda de cães e gatos experimentalmente infectados**. 1998. 224 f. Tese (Doutorado em Parasitologia Veterinária), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 1998.

ALMOSNY, N. R. P. **Hemoparasitoses em pequenos animais domésticos e como zoonoses**. Rio de Janeiro: L. F. Livros, 2002. 135p.

AMYX, H. L.; HXSOLL, D. L.; ZEILER, D. C.; HILDEBRANDT, P. K. Therapeutic and prophylactic value of tetracycline in dogs infected with the agent of tropical canine pancytopenia. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 159, n. 11, p. 1428-1432, 1971.

ANDEREG, P. I., PASSOS, L. M. F. Erliquiose canina - Revisão. **Clínica Veterinária**, v. 4, n. 19, p. 31-38, 1999.

BARR, S. C. Ehrlichiosis. In: Tilley, L. P. & Smith, F. W. K. **The 5-Minute Veterinary Consult. Canine and Feline. 2**. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins, 2000. 1428 p, p. 644 e 645.

BIRCHARD, S. J.; SHERDING, R. G., Manual Saunders - Clínica de Pequenos Animais. São Paulo. Roca, 2003. 1591 p.

BOJERSSON, D. Ehrlichiosis: new perspectives on pathogenesis and diagnosis. In: 18th **American College of Veterinary Internal Medicine**, 2000, Seattle. Proceedings...

BORIN, S.; CRIVELENTI, L. Z.; FERREIRA, F. A. Aspectos epidemiológicos, clínicos e hematológicos de 251 cães portadores de mórula de *Ehrlichia* spp. naturalmente infectados. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.61, n. 3, p. 566-571, 2009.

BRANGER, S.; ROLAIN, J. M.; RAOULT, D. Evaluation of antibiotic susceptibilities of *Ehrlichia canis*, *Ehrlichia chaffeensis*, and *Anaplasma phagcytophilum* by Real-Time PCR. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 48, n. 2, p. 4822-4828, 2004

BREITSCHWERDT, E. B. The rickettsioses. In: ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. (Ed.): **Textbook of veterinary internal medicine**. 5 ed. Philadelphia: WB Saunders Company, 2000. 2 v., v.1, cap. 86, p. 400-407.

BREITSCHWERDT, E. B.; HEGARTY, B. C.; HANCOCK, S. I. Sequential evaluation of dogs naturally infected with *Ehrlichia canis*, *Ehrlichia chaffeensis*, *Ehrlichia equi*, *Ehrlichia ewigii* or *Bartonella vinsonii*. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 36, n. 9, p. 2645-2651, 1998.

BREMER, W. G.; SCHAEFER, J. J.; WAGNER, E. R.; EWING, S. A.; RIKIHISA, Y.; NEEDHAM, G. R.; JITTAPALAPONG, S.; MOORE, D. L.; STICH, R. W. Transtadial and intrastadial experimental transmission of *Ehrlichia canis* by male *Rhipicephalus sanguineus*. **Veterinary Parasitology**, v. 131, n. 1-2, p. 95-105, 2005.

BUHLES, W. C.; HUXSOLL, D. L.; HILDEBRANDT, P. K. Tropical canine pancytopenia: role of aplastic anemia in the pathogenesis of severe disease. **Journal of Comparative Pathology**, v. 85, n. 4, p. 511-521, 1975.

BUHLES, W. C.; HUXSOLL, D. L.; RISTIC, M. Tropical canine pancytopenia: clinical, hematologic, and serologic response of dogs to *Ehrlichia canis* infection, tetracycline therapy, and challenge inoculation. **Journal of Infectious Diseases**, v. 130, p. 357-367, 1974.

BULLA, C.; TAKAHIRA, R. K.; PAPANOTTO, T.; LANGRAFE, L.; PAES, P. R. O.; LOPES, R. S. Fase aguda da Ehrlichiose monocítica canina: um estudo retrospectivo de 10 anos. **Medvop – Revista Científica de Medicina Veterinária de Pequenos Animais**; v.2, n. 6, p. 82-85, 2004a.

BULLA, C. TAKAHIRA, R. K.; ARAUJO JR., J. P.; TRINCA, L. A.; LOPES, R. S.; WIEDMEYER, C. E. The relationship between the degree of thrombocytopenia and infection with *Ehrlichia canis* and endemic area. **Veterinary Research**, v. 35, p. 141-146, 2004b.

BUSH, B. M. **Interpretação de resultados laboratoriais para clínicos de pequenos animais**. São Paulo: Roca, 2004. 376 p.

CANTADORE, D. T. **Azitromicina no tratamento da ehrlichiose monocítica em cães naturalmente infectados**. 2008. 43 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal), Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 2008.

CASTRO, M. B. **Avaliação das alterações hematológicas, imunológicas e anatomopatológicas na infecção aguda experimental de cães por *Ehrlichia canis* (DONATIEN; LESTOQUARD, 1935)**. 1997. 69 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária – Patologia Animal), Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1997.

CASTRO, M. B.; MACHADO, R. Z.; AQUINO, L. P. C. T.; ALESSI, A. C.; COSTA, M. T. Experimental acute canine monocytic ehrlichiosis: clinicopathological and immunopathological findings. **Veterinary Parasitology**, v.119, p.73-86, 2004.

CODNER, E. C.; ROBERTS, R. E.; AINSWORTH, A. G. Atypical findings in 16 cases of canine ehrlichiosis. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 186, n. 2, p. 166-169, 1985.

COLES, H. **Veterinary clinical pathology**. 4. ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1986. 486p.

COUTO, C. G. It's a coagulopathy. But couldn't it be ehrlichiosis? In: FOURTH EUROPEAN FECAVA-SCIVAC CONGRESS, 1998. **Proceedings...**European FECAVA-SCIVAC Congress, 1998a. p. 135-136.

COUTO, C. G. Doenças Riquetsiais. In: Birchard, S. J.; Sherding, R. G. **Manual Saunders - Clínica de Pequenos Animais**. São Paulo: Ed. Roca, 1998b. 1591 p. Seção 2, Cap. 10, p. 139, 140.

DAGDONE, A. S.; MORAIS, H. S. A.; VIDOTTO, M. C. Erliquiose nos animais e no homem. **Ciências Agrárias**, v. 22, n. 2, p. 191-201, 2001.

DAVOUST, B. L'erhlichiose Canine. **Le Point Veterinaire**, v.25, n.151, p.43-51, 1993.

DONATIEN, A.; LESTOQUART, F. Existence em Algerie d'une Rickettsia du chien. **Bulletin de la Societe de Pathologie Exotique**, v. 28, p. 418-419, 1935.

DUMLER, J. S.; BAKKEN, S. Ehrlichial diseases of humans: emerging tick-born infections. **Clinical Infectious Diseases**, v. 20, p. 1102-1110, 1995.

DUMLER, J. S.; BARBET, A. F.; BEKKER, C. P. J.; DASCH, G. A.; PALMER, G. H.; RAY, S. C.; RIKIHISA, Y.; RURANGIRWA, F. R. Reorganization of the families *Rickettsiaceae* and *Anaplasmataceae* in the order *Rickettsiales*: inification of some species of *Ehrlichia* with *Anaplasma*, *Cowdria* with *Ehrlichia* and *Ehrlichia* with *Neorickettsia*, descriptions of six new species combinations and designation of *Ehrlichia equi* and 'HGE agent' as subjective synonyms of *Ehrlichia phagocytophila*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, Reading, v. 51, p. 2145-2165, 2001.

DUPLESSIS, J. L.; FOURIE, N.; NEL, P. W.; EVEZARD, D. N. Concurrente babesiosis and ehrlichiosis n the dog: blood smear examination supplemented by the indirect fluorescent antibody test, using *Cowdria ruminantium* as antigen. **Onderstepoort Journal of Veterinary Research**, n. 57, p. 151-155, 1990.

EDDLESTONE, S. M.; NEER, T. M.; GAUNT, S. D.; CORSTVET, R.; GILL, A.; HOSGOOD, G.; HEGARTY, B.; BREITSCHWERDT, E. B. Failure of imidocarb dipropionate to clear experimentally induced *Ehrlichia canis* infection in dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 20, n.4, p. 840-844, 2006.

FARIA, J. L. M. **Estudo comparativo de detecção de DNA de *Ehrlichia canis* em sangue total e em aspirado de baço pelo nested PCR em cães naturalmente infectados**. 2006. 80 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária), Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2006.

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

GÓRNIAK, S. L. Quimioterápicos, p.453-465. In: Spinosa H.S., Górnaiak S.L. & Bernardi M.M. 2006. *Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária*. 4ªed. Editora Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 920p.

GREENE, C. E. In: GREENE, C. E. (3a Ed.), **Infectious Diseases of the Dog and Cat**. W.B. Saunders, Philadelphia, 1440 p., 2005.

GREENE, C. E. Rickettsial diseases in dogs. In: Aiello, S. E. **The Merck Veterinary Manual**. 8. ed. Philadelphia: National Publishing, 1998. 2305 p. p. 562-564.

GREENE, C. E.; HARVEY, J. W. Canine ehrlichiosis. In: GREENE, C. E. **Infectious Diseases of the Dog and Cat**. Philadelphia: W. B. Saunders, 1990, p.545-561.

GREENE, C. E.; WATSON, A. D. J. Antibacterial chemotherapy. In: *Infectious diseases of the dog and cat*, 3rd ed. Greene CE, ed. St. Louis: Saunders Elsevier Inc. 2006; 274-301.

GROVES, M. G.; DENNIS, G. L.; AMYX, H. L.; HUXSOLL, D. L.. Transmission of *Ehrlichia canis* to dogs by ticks (*Rhipicephalus sanguineus*). **American Journal of Veterinary Research**, v. 36, n. 7, p. 937- 941, 1975.

HARDMAN J. G.; LIMBIRD, L. E.; GILMAN, G. A. **As bases farmacológicas da terapêutica**, 10ª ed. Rio de Janeiro: Mc Graw Hill. 2003, 1647 p.

HARRUS, S. Amplification of ehrlichial DNA from dogs 34 months after infection with *Ehrlichia canis*. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 36, n. 1, p. 73-76, 1998.

HARRUS, S.; BARK, H.; WANER, T.; ELDOR, A. ZWANG, E. Platelet dysfunction associated with experimental acute canine ehrlichiosis. **Veterinary Record**, n. 139, n.12, p. 290-293, 1996.

HARRUS, S.; BARK, H.; WANER, T. Canine monocytic ehrlichiosis: an Update. **The Compendium of Continuing Education**. v. 19, n. 4, p. 432-444, 1997a.

HARRUS, S.; KASS, P. H. H.; KLEMENT, E.; WANER, T. Canine monocytic ehrlichiosis: a retrospective study of 100 cases, and an epidemiological investigation of prognostic indicators for the disease. **The Veterinary Record**, v. 141, n.14 p. 360-363, 1997b.

HARRUS, S.; WANER, T. Therapeutic effect of doxycycline in experimental subclinical canine monocytic ehrlichiosis evaluation of a 6-week course. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 36, n. 7, 1998.

HARRUS, S.; WANER, T.; BARK, H.; JORGEJAN, F.; CORNELISSEN, A. W. C. A. Recent advances in determining the pathogenesis of canine monocytic ehrlichiosis. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 37, n. 9, p. 2745-2749, 1999.

- HARRUS, S ; WANER, T.; AYALI, D. S.; BARK, H.; JONGEJAN, F.; HECHT, G.; BANETH, G. Dynamics of IgG1 and IgG2 subclass response in dogs naturally and experimentally infected with *Ehrlichia canis*. **Veterinary Parasitology**. v. 99, p. 63-71, 2001.
- HARRUS, S.; WANER, T.; FRIEDMANN-MORVINSKI, D.; FISHMAN, Z.; BARK, H.; HARMELIN, A. Down-regulation of MHC class II receptors of DH82 cells, following infection with *Ehrlichia canis*. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 96, n. 3/4, p. 239-243, 2003.
- HARRUS, S.; KENNY, M.; MIARA, L.; AIZENBERG, I.; WANER, T.; SHAW, S. Comparison of simultaneous splenic sample PCR with blood sample PCR for diagnosis and treatment of experimental *Ehrlichia canis* infection. **Antimicrobial Agents Chemother**, v. 48, p. 4488-4490, 2004.
- HOSKINS, J. D. Tick-Borne Zoonoses: Lyme disease, ehrlichiosis, and Rocky Mountain Spotted Fever. **Small Animal**, v. 6, n. 3, p. 236-243, 1991.
- HUXSOLL, D. L.; HILDEBRANDT, P. K.; NIMS, R. M.; FERGUSON, J. A.; WALKER, J. S.; *Ehrlichia canis*. The causative agent of a hemorrhagic disease of dogs? **Veterinary Record**, v. 85, p. 587. 1969.
- HUXSOLL, D. L.; HILDEBRANDT, P. K.; NIMS, R. M.; AMYX, H. L.; FERGUSON, J. A. Epizootiology of tropical canine pancytopenia. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 6, n. 4, p. 220-225, 1970.
- HUXSOLL, D. L.; AMYX, H. L.; HEMELT, I. E; HILDEBRANDT, P. K; NIMS, R. M.; GOCHENOUR, Jr. W. S. Laboratory Studies of Tropical Canine pancytopenia. **Experimental Parasitology**, v. 31, p. 53-59, 1972.
- IMMELMAN, A.; BUTTON, C. *Ehrlichia canis* infection (Tropical Canine Pancytopenia or Canine Rickettsiosis). **Journal of the South African Veterinary Association**, v. 44, n. 3, p. 241-245, 1973.
- JAIN, N. C. **Essentials of veterinary hematology**. Philadelphia, Lea & Febiger, 1993. p. 82-132.
- KAHN, C. M. **Manual Merck de Veterinária**. 9^a ed. São Paulo: Ed, Roca. 2008, 2301p.
- KAKOMA, I.; RAOULT, D.; BROUQUI, P. Detection of *Ehrlichia platys* in brown dog ticks (*Rhipicephalus sanguineus*) in Okinawa Island, Japan. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, n. 38, p. 4219-4221, 2000.
- KAUFMAN, A. C.; GREENE, C. E. Increased alanine transaminase activity associated with tetracycline administration in a cat. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, n. 202, p. 628-30, 1993.
- KEYSARY, A.; WANER, T.; ROSNER, M.; WANER, C. K.; DAWSON, J. E.; ZASS, R.; BIGGIE, K. L.; HARRUS, S. The first isolation, in vitro propagation, and genetic characterization of *Ehrlichia canis* in Israel. **Veterinary Parasitology**, v. 62, n.3-4, p. 331-340, 1996.

KEYSARY, A.; WANER, T.; STRENGER, C.; HARRUS, S. Cultivation of *Ehrlichia canis* in a continuous BALB/C mouse macrophage cell culture line. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 13, n.6, p. 521-523, 2001.

KRYM, C. M. SALGADO, D.; FARIA, A. C.; SANTOS, F. V. Incidência da presença de mórula de *Ehrlichia* sp em células sanguíneas de sangue periférico de caninos no Distrito Federal, no período entre janeiro/ 1999 a dezembro/2001. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CLINICOS VETERINARIOS DE PEQUENOS ANIMAIS, 23º, Brasília, 2002. **Anais...**Brasília: ANCLIVEPA-DF, 2002. 1 CD-ROM.

KUEHN, N. F.; GAUNT, S. D. Clinical and hematologic findings in canine ehrlichiosis. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 186, n. 4, p. 355-358, 1985.

LAPPIN, M. R. Doenças Riquetsiais Polissistêmicas. In: Nelson, R. W.; Couto, C. G.: **Medicina Interna de Pequenos Animais**, 2ª ed., Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2001.

LEITE, R. F. B.; RIBEIRO, S. C. A. Prevalência da erliquiose canina em Uberlândia MG. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINARIA, 30o, Manaus, 2003. **Anais...** Manaus, 2003. 1 CD-ROM.

LEWIS, G. E. RISTIC, M.; SMITH, R. D.; LINCOLN, T.; STEPHENSON, E. H. The brown dog tick *Rhipicephalus sanguineus* and the dog as experimental host of *Ehrlichia canis*. **American Journal of Veterinary Research**, v. 38, n. 12, p. 1953-1955, 1977.

MACHADO, R. Z. Erliquiose canina. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 13, n. 1, p. 53-57, 2004.

MACIEIRA, D. B.; MESSICK, J. B.; CERQUEIRA ADE, M.; FREIRE, I. M.; LINHARES, G. F.; ALMEIDA, N. K.; ALMOSNY, N. R. Prevalence of *Ehrlichia canis* infection in thrombocytopenic dogs from Rio de Janeiro, Brazil. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 34, p. 44-48, 2005.

MAJCHERCZYK, J.; SZYMANSKA-JACHIMCZAK, E. I. Discoloration of the teeth and bones in young animals caused by tetracycline. **Zahnärztliche Praxis**, v. 16, p. 61-63, 1965.

MARTINEZ, M.; MCDERMOTT, P.; WALKER, R. Pharmacology of the Fluorquinolones: a perspective for the use in domestic animals. **Veterinary Journal**, v.172, p. 10-28, 2006..

MATUS, R. E.; LEIFER, C. E.; HURVITZ, A. I. Use of plasmapheresis and chemotherapy for treatment of monoclonal gammopathy associated with *Ehrlichia canis* infection in a dog. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 190, n. 10, p. 1302-1304, 1987.

McBRIDGE, J. W.; CORSTVET, R. E.; GAUNT, S. D.; CHINSANGARAM, J.; AKITA, G. Y.; OSBURN, B. I. PCR detection of acute *Ehrlichia canis* infection in dogs. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 8, p. 441-447, 1996.

McDADE, J. E. Ehrlichiosis - A disease of Animals and Humans. **Journal of Infectious Diseases**, v. 161, p. 609-617, 1990.

MCGROTTY, Y. L.; KNOTTENBELT, C. M. Oesophageal stricture in a cat due to oral administration of tetracyclines. **Journal of Small Animal Practice**, v. 43, p. 221-223, 2002.

MELANDEZ, L.; TWEDT, D.; WRIGHT, M. Suspected doxycycline-induced esophagitis with esophageal stricture formation in three cats. **Feline Practice**, v. 28, p. 10-12, 2000.

MOREIRA, S. M.; BASTOS, C.V.; ARAÚJO, R. B.; SANTOS, M.; PASSOS, L. M. F. Estudo retrospectivo (1998 a 2001) da erliquiose canina em Belo Horizonte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 55, p. 141-147, 2003.

MOREIRA, S. M.; MACHADO, R. Z.; PASSOS, L. M. F. Detection of *Ehrlichia canis* in bone marrow aspirates of infected dogs. In: Fourth International Conference on Ticks and tickborne pathogens, 2002, Banff. Proceedings of the Fourth TTP4. University of Alberta, 2002, v. 1, p. 40-41, 2002.

MYLONAKIS, M. E.; KOUTINAS, A. F.; BILLINIS, C.; LEONTIDES, L. S.; KONTOS, V.; PAPADOPOULOS, O.; RALLIS, T.; FYTIANOU, A. Evaluation of cytology in the diagnosis of acute canine monocytic ehrlichiosis (*Ehrlichia canis*): a comparison between five methods. **Veterinary Microbiology**, v. 91, n. 2-3, p. 197-204, 2003.

NAKAGHI, A. C. H. **Estudo comparativo entre métodos de diagnóstico direto e indireto de *Ehrlichia canis* em cães com suspeita clínica de erliquiose.** 2004. 63 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária – Patologia Animal), Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2004.

NEER, T. M. EDDLESTONE, S.M.; GAUNT, S.D.; CORSTVET, R. Efficacy of enrofloxacin for the treatment of experimentally induced *Ehrlichia canis* infection. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 13, p. 501-504, 1999.

NEER, T. M.; BREITSCHWERDT, E. B.; GREENE R. T.; LAPPIN, M. R. Consensus statement on ehrlichial disease of small animals from the Infectious Disease Study Group of the ACVIM. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 16, p. 309-315, 2002.

NEER, T. M.; HARRUS, S. Ehrlichiosis, Neorickettsiosis, Anaplasmosis and Wolbachia Infection – Canine Monocytotropic Ehrlichiosis and Neorickettsiosis (*E. canis*, *E. chaffensis*, *E. ruminatum*, *N. sennetsu* and *N. risticii* infections). In: Greene, C. E. **Infectious Diseases in the dog and cat.** St. Louis: W.B. Saunders Company, p. 2003-216, 2006.

NEER, T. M. Erlichiosis: Canine Monocytic and granulocytic ehrlichiosis. In: GREENE, C. E.; Harvey, J.W. (Ed.): Infectious diseases of the dog and cat. 2nd ed. Philadelphia: W. B. Saunders, p. 139-154, 1998.

NEITZ, W.O.; THOMAS, A. D. Rickettsiosis in the Dog. **Journal of the South African Veterinary Association**, v. 9, p. 166-174, 1938.

NYINDO, M. B. A.; RISTIC, M.; HUXSOLL, D. L.; SMITH, A. R. Tropical canine pancytopenia: *In vitro* cultivation of the causative agent-*Ehrlichia canis*. **American Journal of Veterinary Research**, v. 32, n. 11, p. 1651-1658, 1971.

NYINDO, M.; HUXSOLL, D. L.; RISTIC, M.; KAKOMA, I.; BROWN, J. L.; CARSON, C. A.; STEPHENSON, E. H. Cell-mediated and humoral immune responses of German Shepherd and Beagles to experimental infection with *Ehrlichia canis*. **American Journal of Veterinary Research**, v. 41, n. 2, p. 250-254, 1980.

OLICHESKI, A. T.; ARAUJO, F. A. P.; BECK, C.; RODRIGUES, R. J. D. Frequência de protozoários do gênero *Babesia* Starcovici, 1983, e de riquetsias do gênero *Ehrlichia* Ehrlich, 1888, em cães (*Canis familiaris*) no município de Porto Alegre, RS, Brasil (resultados parciais). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINARIA, 29o, Gramado, 2002. **Anais...** Gramado, 2002. 1 CD-ROM.

OLIVEIRA, D.; NISHIMORI, C. T.; COSTA, M. T.; MACHADO, R. Z.; CASTRO, M. B. Detecção de anticorpos anti-*Ehrlichia canis* em cães naturalmente infectados, através do "DOT-ELISA". **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 9, n. 1, p. 1-6, 2000.

PAGANI, F.; RODRIGUES, L. M.; PINTO, A. R. S.; GOMES, F. A.; MENDONÇA, R. B.; ALMOSNY, N. R. P. Alterações hematológicas observadas em casos de ehrlichiose canina: Estudo retrospectivo. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 7, suplemento, p. 108-108, 2000.

PAPICH, M. G. **Manual Sanders Terapêutico Veterinário**. 2ªed. São Paulo: MedVet. 2009, 774 p.

PINYOOWONG, D.; JITTAPALAPONG, S.; SUKSAWAT, F.; STICH, R. W.; THAMCHAIPENET, A. Molecular characterization of Thai *Ehrlichia canis* and *Anaplasma platys* strains detected in dogs. **Infection, Genetics and Evolution** (*in press*), 2007.

PREDROSO, T. C. **Efficacy of doxycycline and combination with imidocarb dipropionate in the treatment of *Ehrlichia canis* in dogs**. 2006. 56 f. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 2006.

PRICE, J. E.; SAYER, P. D.; DOLAN, T. T. Improved clinical approach to the diagnosis of canine ehrlichiosis. **Tropical Animal Health and Production**, v. 19, p. 1-8, 1987.

RIBEIRO, B. C. C.; BATISTA, V. S.; REIS, R. R.; SOUZA, F. S.; ARRUDA, Z.; PORFÍRIO, L. C.; PASSOS, G. P. Alterações hematológicas em cães (*Canis familiaris*) com erliquiose. In: XXI Congresso Brasileiro de Clínicos Veterinários de Pequenos Animais, 2000, Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, 2000a. v. 7, p. 108.

RIBEIRO, B. C. C.; REIS, R. R.; BATISTA, V. S.; SOUZA, F. S.; MUNIZ, I. M.; GONDIN, F. S.; PORFÍRIO, L. C. Alterações hematológicas em cães (*Canis familiaris*) com mórulas de *Ehrlichia* sp em células mononucleares e plaquetas. In: XXI Congresso Brasileiro de Clínicos Veterinários de Pequenos Animais, 2000, Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, 2000b. v. 7, p. 109.

RIBEIRO, B. C. C. et al. Avaliação do Uso da Enrofloxacin (Flotril® 50 mg Comprimidos) no Tratamento da Erliquiose Canina Aguda e Crônica. 3o Prêmio de Pesquisa Clínica Schering-Plough Veterinária. 2001.

RIKIHISA, Y. The tribe *Ehrlichiae* and ehrlichial diseases. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 4, p. 286-308, 1991.

RIVIERE, J. E.; SPOO, J. W. (2001) Tetracycline antibiotics. In *Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. 8th edn. Ed. Adams, H. pp. 828-840. Iowa State University Press, Ames.

RODGERS, S. J.; MORTON, R. J.; BALDWIN, C. A. A. A serological survey of *Ehrlichia canis*, *Ehrlichia equi*, *Rickettsia rickettsii*, and *Borrelia burgdorferi* in dogs in Oklahoma. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 1, p. 154-159, 1989.

SAINZ, A. **Aspectos clínicos y epizootiológicos de la ehrlichiosis canina. Estudio comparado de la eficacia terapéutica de la doxiciclina y el dipropionato de imidocarb.** 1996. 255 p. Tese de Doutorado. Universidad Complutense de Madrid, 1996.

SILVA, V. L. D. **Avaliação das alterações hematológicas e dos aspectos citológicos e histopatológicos da medula óssea na erliquiose canina aguda: estudo experimental.** 2001. 102 f. (Mestrado em Patologia Veterinária Experimental e Comparada), Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.

SIMPSON, R. V. Canine Ehrlichiosis - A contrast of the domestic Disease and Tropical Canine Pancytopenia. **The Southwestern Veterinary**, v. 3, p. 31-33, 1972.

SKOTARCZAK, B. Canine ehrlichiosis. **Annals of Agricultural and Environmental Medicine**, v. 10, p. 137-141, 2003.

SMITH, R. D.; RISTIC, M.; HUXSOLL, D. L.; BAYLOR, R. A. Platelet kinetics in canine ehrlichiosis: evidence for increased platelet destruction as the cause of thrombocytopenia. **Infection and Immunity**, v. 11, n.6, p. 1216-1221, 1975.

SMITH, R. D.; SELLS, D. M.; STEPHENSON, E. H.; RISTIC, M. R.; HUXSOLL, D. L. Development of *Ehrlichia canis*, causative agente of canine ehrlichiosis, in the tick *Rhipicephalus sanguineus* and its differentiation from a symbiotic rickettsia. **American Journal of Veterinary Research**, v. 37, n. 2, p. 119-126, 1976.

SMITH, R. D.; RISTIC, M. *Ehrlichiae*. In: KREIER, J. **Parasitic Protozoa**. 4. Philadelphia. Ac. Press. p. 285-323, 1977.

SMITH, K.; LEYDEN, J. J. Safety of Doxycycline and minocycline: A systematic review. **Clinical Therapeutics**, v. 27, n. 7, p. 1329-1342, 2005.

SOUSA, M. G.; HIGA, A. C.; GERARDI, D. G.; TINUCCI-COSTA, M.; MACHADO, R. Tratamento da erliquiose canina de ocorrência natural com doxiciclina, precedida ou não pelo dipropionato de imidocarb. **Revista de Ciência Agroveterinária**, v. 3, p. 126-130, 2004.

SWANGO, L. J. et al. Infecções bacterianas, riquetsiais, protozoais, e outras. In: Ettinger, S. J. **Tratado de Medicina Interna Veterinária**. 3. ed. São Paulo: Manole, 1992. 4 v., Cap. 46, p. 290-293.

SWANGO, L. J.; BANKEMPER, K. W.; KONG, L. I. Bacterial, rickettsial, protozoal and miscellaneous infections. In: Ettinger, S.J. (ed): **Textbook of Veterinary Internal Medicine**. Philadelphia, W.B. Saunders Co, p. 265-297, 1989.

TENG, C. H.; PALANIAPPAN, R. U. M.; CHANG, Y. F. Cloning and characterization of an *Ehrlichia canis* gene encoding a protein located to the morula membrane. **Infection and Immunity**, v. 71, n. 4, p. 2218-2225, 2003.

TRAPP, S. M.; DAGDONE, A. S.; VIDOTTO, O.; FREIRE, R. L.; MORAIS, H. S. A. Seroepidemiology of canine babesiosis and ehrlichiosis in hospital population. **Veterinary Parasitology**, v. 140, p. 223-230, 2006.

TROY, G. C.; FORRESTER, S. D. Canine Ehrlichiosis. In: GREENE, C.E. **Clinical Microbiology Infectious Diseases of the Dog and Cat**, Philadelphia. W.S. Saunders Co., p. 404-417, 1990.

VANCUTSEM, P. M.; BABISH, J. G.; SCHWARK, W. S. The fluorquinolone antimicrobials: structure, antimicrobial activity, pharmacokinetics, clinical use in domestic animals and toxicity. **Cornell Veterinary**, v. 80, p. 173-186, 1990.

WALDEMARIN, K. C. A.; MUNDIM, A. V.; BASTOS, J. E. D. et al. Alterações hematológicas em cães (*Canis familiaris*) naturalmente infectados por *Ehrlichia* spp. **Veterinária Notícias**, v. 9, p. 23-29, 2003.

WANER, T.; HARRUS, S.; BARK, H.; BOGIN, E.; AVIDAR, Y.; KEYSARY, A. Characterization of the subclinical phase of canine ehrlichiosis in experimentally infected beagle dogs. **Veterinary Parasitology**, v. 69, p. 307-317, 1997.

WANER, T.; KEYSARY, A.; BARK, H.; SHARABANI, E.; HARRUS, S. Canine monocytic ehrlichiosis – an overview. **Israel Journal of Veterinary Medicine**, v. 54, n. 4, p. 103-107, 1999.

WANER, T.; HARRUS, S.; JONGEJAN, F.; BARK, H.; KEYSARY, A.; CORNELISSEN, A. W. C. A. Significance of serological testing for ehrlichial diseases in dogs with special emphasis on the diagnosis of canine monocytic Ehrlichiosis caused by *Ehrlichia canis*. **Veterinary Parasitology**, v. 95, p. 1-15, 2001.

WANER, T.; HARRUS, S.; WEISS, D. J.; BARK, H.; KEYSARY, A. Demonstration of serum antiplatelet antibodies in experimental acute canine ehrlichiosis. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 48, p. 177-182, 1995.

WEN, B.; RIKIHISA, Y.; MOTT, J. M.; GREENE, R.; KIM, H. Y.; ZHI, N.; COUTO, G. C.; UNVER, A.; BARTSCH, R. Comparison of nested PCR with immunofluorescent-antibody assay for detection of *Ehrlichia canis* infection in dogs treated with doxycycline. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 35, n. 1, p. 1852-1855, 1997.

WOODY, B. J.; HOSKINS, J. D. Ehrlichial diseases of dogs. **The Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 21, n. 1, p. 75-99, 1991.

WOODWARD K.N. Veterinary pharmacovigilance. Part 6. Predictability of adverse reactions in animals from laboratory toxicology studies. **Journal of Veterinary. Pharmacology**, v. 28, p. 213-231. 2005.