

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA**

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



**Estudio sobre Trombocitopenia cíclica canina por
Anaplasma platys**

**POR
Jorge Eduardo Sánchez Dueñas**

MONOGRAFIA

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL
TITULO DE:**

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

ASESOR:

MVZ.FRANCISCO J CARRILLO MORALES

CO ASESORES:

MVZ. JOSE VICTOR SANCHEZ MIJARES

TORREÓN, COAHUILA

ENERO 2013

ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



POR

**Estudio sobre Trombocitopenia cíclica canina por
Anaplasma platys**

Jorge Eduardo Sánchez Dueñas

MONOGRAFIA

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OBTENER EL TITULO DE:**

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

TORREÓN, COAHUILA

ENERO 2013

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA

**ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA**

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



MONOGRAFIA

**Estudio sobre Trombocitopenia cíclica canina
por Anaplasma platys**


Aprobada por el

PRESIDENTE DEL JURADO


MVZ. FRANCISCO J. CARRILLO MORALES

**COORDINADOR DE LA DIVISIÓN REGIONAL
DE CIENCIA ANIMAL**


MVZ. RODRIGO I. SIMÓN ALONSO


Coordinación de la División
Regional de Ciencia Animal

TORREÓN, COAHUILA

ENERO 2013

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA

**ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA**

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



**Estudio sobre Trombocitopenia cíclica canina
por Anaplasma platys**

MONOGRAFIA

Aprobada por el H. jurado examinador


MVZ. FRANCISCO J. CARRILLO MORALES

PRESIDENTE


MVZ. CUAHTEMOC FELIX ZORRILLA

VOCAL


MC. JOSE DE JESUS QUEZADA AGUIRRE

VOCAL


MVZ. MC. JOSÉ LUIS FRANCISCO SANDOVAL ELÍAS

VOCAL SUPLENTE

TORREÓN, COAHUILA

ENERO 2013

INDICE

RESUMEN.....	1
TROMBOCITOPENIA CÍCLICA INFECCIOSA DEL PERRO.	2
GÉNERO ANAPLASMA.....	2
ANAPLASMOSIS POR ANAPLASMA PLATYS.....	4
MORFOLOGÍA Y FUNCIONALIDAD.....	5
PLAQUETAS.....	14
SIGNOS MULTISISTÉMICOS.....	17
SIGNOS OCULARES.....	18
SIGNOS NEUROMUSCULARES.....	18
SIGNOS LOCOMOTORES.....	19
SIGNOS ESPECÍFICOS DE ESPECIE.....	20
EHRlichiosis TROMBOCÍTICA CANINA.....	22
DIAGNÓSTICO.....	23
EHRlichiosis MONOCÍTICA Y GRANULOCÍTICA CANINAS.....	23
HEMATOLOGÍA.....	25
BIOQUÍMICA.....	26
SEROLOGÍA.....	28
EHRlichiosis TROMBOCÍTICA CANINA.....	31
CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS.....	32
TRATAMIENTO.....	33
PROFILAXIS.....	35
CONCLUSIONES.....	35
<i>LITERATURA CITADA.....</i>	<i>37</i>

ESTUDIO SOBRE TROMBOCITOPENIA CÍCLICA CANINA POR ANAPLASMA PLATYS

Resumen.

Anaplasma platys es el agente de la **trombocitopenia cíclica infecciosa del perro**. Esta *Ehrlichia* infecta exclusivamente plaquetas, no habiéndose encontrado en otro tipo de células. Se considera que la infección por este agente es específica del perro. La transmisión de la infección se produce a través de la picadura de garrapatas de la especie *Rhipicephalus sanguineus* (Simpson *et al*, 1991), las transfusiones sanguíneas con sangre infectada también podrían transmitir la infección (Woody *et al*, 1991; Breitschwerdt, 2003). La infección se ha descrito en EEUU, Venezuela, Asia (China, Taiwan, Japón), Israel, Australia y Europa, principalmente en España, Grecia, sur de Francia, Alemania e Italia (Kontos *et al*, 1991; Chang *et al*, 1996; McBride *et al*, 1996; Harvey, 1998; Sainz *et al*, 1999a; Brown *et al*, 2001; Motoi *et al*, 2001). Diversos estudios se han venido realizando sobre *Anaplasma platys* en especial en que realizaron Nádia Regina Pereira Almosny Renata Fernandes Ferreira, Ananda Müller Pereira y Carlos Luiz Massard, del *Departamento de Patología e Clínica Veterinária de la Universidade Federal Fluminense Niterói, Rio de Janeiro, Brazil* y del *Departamento de Parasitología Animal de la Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro* y que se relaciona con los cuerpos de inclusión en plaquetas de la sangre; sin embargo, esto puede ser una ocurrencia no específica y de acuerdo a esto, como hay cuerpos de inclusión no parasitaria dentro de estos elementos figurados.

Palabras claves: Trombocitopenia, cíclica, infecciosa, caninos, *Anaplasma, platys, Ehrlichia, Ehrlichiosis*, plaquetas

TROMBOCITOPENIA CÍCLICA INFECCIOSA DEL PERRO.

Anaplasma platys es el agente de la **trombocitopenia cíclica infecciosa del perro**. Esta *Ehrlichia* infecta exclusivamente plaquetas, no habiéndose encontrado en otro tipo de células. Se considera que la infección por este agente es específica del perro. La transmisión de la infección se produce a través de la picadura de garrapatas de la especie *Rhipicephalus sanguineus* (Simpson *et al*, 1991), las transfusiones sanguíneas con sangre infectada también podrían transmitir la infección (Woody *et al*, 1991; Breitschwerdt, 2003). La infección se ha descrito en EEUU, Venezuela, Asia (China, Taiwan, Japón), Israel, Australia y Europa, principalmente en España, Grecia, sur de Francia, Alemania e Italia (Kontos *et al*, 1991; Chang *et al*, 1996; McBride *et al*, 1996; Harvey, 1998; Sainz *et al*, 1999a; Brown *et al*, 2001; Motoi *et al*, 2001).

GÉNERO ANAPLASMA.

El género *Anaplasma*, según la última clasificación del Bergey's manual (Garrity *et al*, 2001), incluye las siguientes especies: *A. marginale*, *A. centrale*, *A. ovis*, *A. bovis*, *A. platys* y *A. phagocytophilum*, siendo las dos últimas especies las únicas de relevancia en medicina canina.

La infección es a menudo inaparente, pero tras una incubación de 8 a 15 días, puede producirse fiebre, adenopatía generalizada, leucopenia, anemia moderada, hipergammaglobulinemia moderada, hipoalbuminemia, hipocalcemia y especialmente trombocitopenia. La trombocitopenia se sucede en episodios de 3-4 días y a intervalos de 7-21 días, de ahí que a la enfermedad se le haya denominado "Trombocitopenia cíclica infecciosa del perro". Los valores mínimos de plaquetas se observan en el primer episodio, siendo posible visualizar numerosas plaquetas infectadas en los frotis sanguíneos. A pesar de la disminución del número de plaquetas, es rara la aparición de hemorragias espontáneas, si bien se han descrito hemorragias graves tras cirugía o traumatismo intenso.

Con el tiempo la trombocitopenia cíclica da paso a una trombocitopenia crónica de lenta recuperación (Harrus *et al*, 1997). Las cepas griega e israelita son

más agresivas y producen un cuadro caracterizado por fiebre elevada (41,5°C), anorexia, apatía, debilidad, palidez de mucosas y hemorragia (petequias en mucosas y lesiones hemorrágicas cutáneas) (Kontos *et al*, 1991).

En 1986, Glaze et Gaunt describieron un caso de uveitis bilateral en un perro infectado por *Anaplasma platys* sin presentar signos clínicos susceptibles de otras enfermedades responsables de uveitis en el perro (blastomycosis, histoplasmosis, criptococosis, toxoplasmosis, brucelosis, linfosarcoma...). Coinfecciones de *Anaplasma platys* con otros agentes como *Anaplasma phagocytophilum* y *Ehrlichia canis* se han descrito en Tailandia, Venezuela y España (Sainz *et al*, 1999b; Suksawat *et al*, 2001).

Anaplasma platys (anteriormente *Ehrlichia platys*) es una rickettsia pequeña que pueden causar la ehrlichiosis en los perros. Se transmite por la picadura de una garrapata infectada (*Rhipicephalus sanguineus*) o otro artrópodo. *A. platys* fue reportado por primera vez en 1978 en los perros de la Florida, trombocitopenia cíclica infecciosa canina (ICCT) fue el nombre dado a la enfermedad causada por esta cepa. Desde entonces, ICCT ha sido reportada en muchas áreas de los Estados Unidos y en otras regiones del mundo.

En la mayoría de los informes anteriores, ICCT era considerada una enfermedad benigna, sin signos clínicos evidentes. Por lo tanto, *A. platys* no se ha considerado un organismo patógeno o un agente muy importante causante de la enfermedad. Sin embargo, otros investigadores han reportado signos clínicos más graves, de forma similar en severidad a aquellos asociados con las infecciones por *E. canis*. Los perros infectados con estas rickettsias desarrollarán parasitemia cíclica y trombocitopenia cíclicas a las 7 - a intervalos de 14 días.

Debido a la cíclica parasitemia, la detección de *Anaplasma* en frotis de sangre puede ser difícil. El patógeno se encuentra en frotis de sangre como un organismo azul intraplaquetario en las vacuolas. Inclusiones de *Anaplasma* o mórulas son generalmente un hallazgo incidental en un examen de rutina frotis de sangre.

ANAPLASMOSIS POR ANAPLASMA PLATYS.

La Anaplasmosis canina se ha denominado como una enfermedad de infecciones bacterianas transmitidas por garrapatas duras (Ixodidae), que afecta al ser humano y a los animales.

Las especies de Anaplasma se consideraron en principio como protozoos parásitos, pero la investigación posterior reveló que no poseían atributos que justificaran esta descripción. Desde 1957 se han clasificado en la familia Anaplasmataceae del orden Rickettsiales, género Anaplasma.

Los microorganismos rickettsiales pertenecen al Reino Proteobacteria, clasificadas como alfa -proteobacterias gramnegativas intracelulares obligadas, grupo que incluye un gran número de agentes oligotrofos (capaces de crecer en niveles bajos de nutrientes). Dentro de este Reino se encuentran también los géneros Escherichia, Neisseria, Pseudomonas, Rhizobium, Salmonella y Vibrio. Esta clasificación ha sido tomada del Manual de Determinación Bacteriológica de Bergey, que actualmente se encuentra en su novena edición, el cual ordena a los microorganismos basándose en las secuencias de oligonucleótidos firma del gen ARNr 16S. Una característica que la diferencia de las rickettsias es que se replican en unas vacuolas derivadas de la membrana celular de las células que infectan, principalmente leucocitos y plaquetas.

MORFOLOGÍA Y FUNCIONALIDAD.

Estos microorganismos se presentan en formas bacilares, cocoides o pleomórficas, presentando paredes típicas de bacterias gramnegativas con ausencia de flagelos. Las formas bacilares son cortas, mientras que las cocoides se presentan aisladas, en pares, cadenas cortas o en filamentos). Estas bacterias tienden a ser muy pequeñas, teniendo un diámetro de 0.3 a 0.5 μm . y una longitud de 0.8 a 2.0 μm .

Estos agentes teñidos son fáciles de visualizar con el microscopio de luz. Con tinción de Giemsa muestran color azul, con la de Macchiavello color rojo en contraste con el citoplasma teñido de azul que las rodea. Todos los

microorganismos Rickettsiales son parásitos o mutualistas. Las formas parásitas crecen en diversos tipos celulares (eritrocitos de vertebrados, células retículo-endoteliales y células del endotelio vascular), habitando a menudo en artrópodos que se alimentan de sangre, como pulgas, garrapatas, ácaros o piojos, que actúan como vectores o como huéspedes primarios.

Estos microorganismos carecen de la ruta glucolítica y no utilizan glucosa como fuente de energía, sino que oxidan glutamato y productos intermedios del ciclo de los ácidos tricarboxílicos como el succinato. Presentan un sistema de transporte mediado por transportador, de tal forma que los nutrientes y las coenzimas de la célula huésped se absorben y se utilizan de forma directa. Estos microorganismos captan NAD y uridina glucosa difosfato, así como también realizan intercambio de

Diversos estudios se han venido realizando sobre *Anaplasma platys* en espacial en que realizaron Nádia Regina Pereira Almosny Renata Fernandes Ferreira, Ananda Müller Pereira y Carlos Luiz Massard, del *Departamento de Patología e Clínica Veterinária de la Universidade Federal Fluminense Niterói, Rio de Janeiro, Brazil* y del *Departamento de Parasitología Animal de la Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro* y que se relaciona con los cuerpos de inclusión en plaquetas de la sangre; sin embargo, esto puede ser una ocurrencia no específica y de acuerdo a esto, como hay cuerpos de inclusión no parasitaria dentro de estos elementos figurados.

Se realizó un estudio para validar el diagnóstico morfológico para *A. platys*, 101 perros fueron seleccionados debido a la aparición de cuerpos de inclusión, de forma independiente de parásitos sugestivos, que se sometieron a reacción en cadena de polimerasa (PCR) llevada a cabo en 2 etapas.

La primera etapa consistió en la utilización de las iniciales secuencias o cebadores específicos para la detección de algunas especies de la familia Anaplasmataceae, tales como: *Ehrlichia canis*, *Ehrlichia chaffeensis*, *Ehrlichia muris*, *Ehrlichia ruminantium*, *Anaplasma phagocytophilum*, *A. platys*, *Anaplasma marginale*, *Anaplasma centrale*, *Wolbachia pipientis*, *Neorickettsia sennetsu*, *risticii* *Neorickettsia*, y *Neorickettsia helminthoeca* (PCR1). el segundo etapa consistió en

la utilización de los específicos cebadores para la detección de la especie *A. platys* (PCR2).

Tras la comparación de los resultados, 18,81% de los animales estudiados mostraron positivo para la PCR1. Para PCR2, 15,84% de los animales estudiados tuvieron un resultado positivo. En el análisis morfológico de los cuerpos de inclusión, 14,85% de los animales resultaron positivos para *A. platys*. Los cuerpos de inclusión fueron otros considerarse como no específicos, por lo tanto negativa.

Cuando se compara con el análisis morfológico, los resultados del análisis molecular por medio de la prueba de McNemar condujo a la conclusión de que no había ninguna diferencia significativa entre las pruebas, lo que indica que el análisis de frotis de sangre es una buena alternativa a un diagnóstico de *A. platys*.

La posibilidad de uso PCR no ha sido descartada, ya que este es una prueba muy específica. La posibilidad de un falso negativo entre los animales PCR-negativos existe, ya que una cantidad reducida de microorganismos puede causar inflamación y la aparición de cuerpos de inclusión no específicos.

Anaplasma phagocytophilum comprende actualmente las especies anteriormente denominadas como *Ehrlichia phagocytophyla*, *Ehrlichia equi* y el agente causal de la ehrlichiosis granulocítica humana. Estudios genéticos determinaron la consideración de estos tres agentes como una única especie (Dumler *et al*, 2001). Este agente es capaz de infectar los leucocitos granulocíticos de un gran número de especies diferentes como caballos, pequeños rumiantes, hombres, perros e incluso gatos (Dumler *et al*, 1995; Johansson *et al*, 1995; Engvall *et al*, 1996; Parola *et al*, 1998; Bjorsdorff, 1999a; Magnarelli, 1999; Madigan y Pusterla, 2000), produciendo ehrlichiosis granulocítica en la especie infectada.

La ehrlichiosis granulocítica equina fue diagnosticada por primera vez en Suecia en 1989 (Van der Kolk, 1993). La ehrlichiosis granulocítica humana se diagnosticó por vez primera en 1994 en Estados Unidos (Bakken *et al*, 1994).

A. phagocytophylum se transmite principalmente por la garrapata *Ixodes ricinus*.

Este agente está ampliamente distribuido en Europa (Pusterla *et al*, 1998) y en Estados Unidos (Greig *et al*, 1996; Magnarelli *et al*, 1997; Goldman *et al*, 1998). Los pequeños mamíferos son hospedadores comunes de los estadios inmaduros de *Ixodes ricinus*, por lo que se sospecha que puedan ser reservorios naturales de *A. phagocytophylum* (Liz *et al*, 2000).

En rumiantes, la enfermedad se caracteriza por fiebre y leucopenia severa (Taylor,1941) debida a una linfopenia temprana y a una trombocitopenia y neutropenia prolongada con una reducción significativa en la reactividad linfocitaria durante el periodo de rickettsiemia que predispone a otras enfermedades bacterianas y virales más graves (Woldehiwet y Scott, 1982a; Woldehiwet y Scott, 1982b; Woldehiwet, 1987; Larsen *et al*, 1994; Gokce y Woldehiwet, 1999).

En équidos, la enfermedad cursa de manera semejante con fiebre, anorexia, depresión, edema de extremidades, trombocitopenia, leucopenia y anemia (Gribble, 1969).

La verdadera incidencia de *A. phagocytophylum* en perros es desconocida, sin embargo, se considera que en áreas donde esta ehrlichiosis es endémica, en otras especies animales, puede representar un elevado porcentaje de la ehrlichiosis granulocítica canina (Greig *et al*, 1996; Magnarelli *et al*, 1997; Goldman *et al*, 1998). La enfermedad en perros cursa con sintomatología muy inespecífica como anorexia, letargia, fiebre y trombocitopenia. No existen signos clínicos únicos atribuibles a esta ehrlichiosis y otros signos como conjuntivitis, cojeras o ataxia han sido descritos, aunque mucho menos frecuente que en la ehrlichiosis granulocítica canina producida por *E. ewingii* (Greig *et al*, 1996; Tarello, 2003). Se ha descrito una predisposición de las hembras a padecer esta ehrlichiosis (Greig *et al*, 1996) en contraste con la ehrlichiosis granulocítica por *E. ewingii*, en la que se ha registrado una predisposición de los machos a la enfermedad (Cohn, 2003).

En 1957, Philip reagrupa los géneros *Ehrlichia* (especie tipo *Ehrlichia canis*),

Cowdria y *Neorickettsia* en la tribu *Ehrlichieae* (familia *Rickettsiaceae*, orden *Rickettsiales*) (Ristic y Kreier, 1984). En 1980, la nomenclatura de *Ehrlichieae*, *Ehrlichia* y *Ehrlichia canis* es incorporada a la Lista aprobada de nombres bacterianos, lo que les confiere el estatus de nomenclaturas públicamente válidas.

La clasificación taxonómica clásica se basaba en las características morfológicas, ecológicas y epidemiológicas de las bacterias y en las manifestaciones clínicas de la enfermedad que producen (Dumler *et al*, 2001). El avance en técnicas científicas de clasificación genética, mucho más objetivas, tales como el análisis de secuencias de nucleótidos de genes o de aminoácidos de proteínas de membrana externa y los análisis antigénicos, han llevado a la reorganización taxonómica de estos y otros muchos agentes bacterianos y han demostrado la imperfección de la anterior clasificación taxonómica. (Weisburg *et al*, 1991; Woese *et al*, 1990; Brenner *et al*, 1993).

Ningún sistema de clasificación microbiológica es perfecto. Sin embargo, la clasificación genética de los microorganismos es óptima en lo que se refiere a su capacidad de predecir los comportamientos biológicos y la enfermedad producida por los agentes infecciosos incluidos en el mismo grupo (Dumler *et al*, 2001).

Basándose en los resultados obtenidos de las secuencias del gen 16S rRNA y groESL y de los análisis antigénicos (Sumner *et al*, 1997; Zhang *et al*, 1997), Dumler *et al* en 2001 en un artículo publicado en el International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology proponen una reorganización de estas especies a través de la eliminación de las tribus de la familia *Rickettsiaceae* y la incorporación de las especies de la anteriormente denominada tribu *Ehrlichieae* a la familia *Anaplasmataceae*. Así los géneros: *Ehrlichia*, *Anaplasma*, *Cowdria* y *Neorickettsia* se incorporan a la Familia *Anaplasmataceae* dentro del orden *Rickettsiales* y del Phylum *Proteobacteria*.

Basándose en la secuencia del gen 16S rRNA, las especies anteriormente incluidas en los géneros *Ehrlichia*, *Anaplasma*, *Cowdria* y *Neorickettsia* se reorganizarían en cuatro grupos genéticos (Dumler *et al*, 2001):

- Grupo 1: amplía el género *Anaplasma*, incluyendo en él: además de las especies hasta entonces incluidas *Anaplasma marginale*, *Anaplasma centrale* y *Anaplasma caudatum*; las siguientes especies *Ehrlichia phagocytophila* (hoy llamada *Anaplasma phagocytophilum*), *Ehrlichia bovis* (actualmente *Anaplasma bovis*) y *Ehrlichia platys*(hoy *Anaplasma platys*). La especie tipo es *A. Marginale*.

- Grupo 2: El género *Ehrlichia* se amplía con la inclusión de *Cowdria ruminantium* (ahora *Ehrlichia ruminantium*). La especie tipo es *E. canis*; otras especies de este género son *E. chaffeensis*, *E. Ewingii* y *E. Muris*.

- Grupo 3: El género *Neorickettsia*, cuya especie tipo es *N. helminthoeca* quedaría ampliado al incluirse en el mismo las especies *Ehrlichia risticii* y *Ehrlichia sennetsu* (que pasan a denominarse *N. risticii* y *N. sennetsu* respectivamente).

Grupo 4: la especie *Wolbachia pipientis* será el único miembro del género *Wolbachia*. Existe una elevada reacción antigénica cruzada entre las especies del mismo grupo, ya que comparten varios antígenos superficiales homólogos; sin embargo, entre las especies de los diferentes grupos esta reacción antigénica cruzada es mucho menor (Yu *et al*, 2000; Dumler *et al*, 2001)

La especie actualmente denominada *Anaplasma phagocytophilum* engloba tres especies anteriormente descritas, denominadas *Ehrlichia equi*, *Ehrlichia phagocytophila* y el agente de la ehrlichiosis granulocítica humana (EGH). Se ha observado tras los pertinentes estudios genéticos y biológicos que existen suficientes similitudes entre ellas como para clasificarlas en una única especie (Anderson *et al*, 1991; Dumler *et al*, 1995; Sumner *et al*, 1997).

La clasificación actual del Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (Garrity *et al* 2001), es similar a la propuesta por Dumler y colaboradores, si bien incluye los géneros: *Ehrlichia*, *Anaplasma*, *Cowdria* y *Neorickettsia* dentro de la familia *Ehrlichiaaceae*, en lugar de en la familia *Anaplasmataceae*.

Todos los miembros de la familia *Ehrlichiaaceae* son bacterias intracelulares obligadas que se replican en el interior de una vacuola intracitoplasmática derivada de la membrana externa de la célula eucariota hospedadora. Son

organismos de cocoides a elipsoides, a menudo pleomórficos, pequeños y gram-negativos que residen en vacuolas citoplásmicas, formando inclusiones únicas o, más habitualmente compactas (mórulas) (Theiler, 1910; Moshkovski, 1945; Ristic y Huxsoll, 1984; Ristic y Kreier, 1984; Dumler *et al*, 2001). Ultraestructuralmente existen dos morfologías: grandes células reticuladas y formas más pequeñas de protoplasma condensado denominadas en inglés dense-core forms (Popov *et al*, 1998).

Los géneros *Anaplasma*, *Ehrlichia* y *Neorickettsia* se multiplican en células hematopoyéticas maduras o inmaduras de hospedadores vertebrados. *Wolbachia* infecta exclusivamente a invertebrados, no habiéndose detectado infección en ningún organismo vertebrado.

Las especies ehrlichiales incluidas en los géneros *Ehrlichia* y *Anaplasma* son transmitidas por picadura de garrapatas. Las especies incluidas en los géneros *Neorickettsia* y *Wolbachia* son transmitidas por cercarias o metacercarias de helmintos que infectan serpientes, peces, insectos acuáticos o artrópodos (Rikihisa, 1991; Barlough *et al*, 1998; Pusterla *et al*, 2000). En el caso de las especies del género *Neorickettsia* la infección de hospedadores vertebrados superiores se produciría por ingestión de peces o invertebrados portadores del agente (Barlough *et al*, 1998; Madigan *et al*, 2000a; Pusterla *et al*, 2000).

Enfermedades producidas en animales superiores por agentes infecciosos pertenecientes a los géneros *Ehrlichia*, *Anaplasma* y *Neorickettsia*. La transmisión de estos agentes se produce a través de agentes vectores, garrapatas en el caso de *Ehrlichia* y *Anaplasma* y nematodos y trematodos en el caso de *Neorickettsia*.

Las garrapatas son parásitos externos pertenecientes taxonómicamente al suborden *Metastigmata*, orden *Parasitiformes*, subclase *Acari*, clase *Arachnida*, subphylum *Chelicerata*, phylum *Arthropoda*. Existen dos familias: *Ixodidae* o garrapatas duras y *Argasidae* o garrapatas blandas (Hoskins y Cupp, 1988; Cupp, 1991).

Las garrapatas son uno de los principales grupos de artrópodos que afectan la salud animal, ejerciendo una acción patógena directa, derivada de su efecto expoliatriz, mecánico y tóxico, (Murnaghan y O'Rourke, 1978; Quiroz, 1984) y una

acción patógena indirecta, derivada de su capacidad de vehiculizar agentes patógenos (Hoogstraal, 1985).

Cuando las garrapatas vehiculizan agentes patógenos con potencial zoonótico, la salud humana también se encuentra involucrada (Hoogstraal, 1977). Se considera que las garrapatas están sólo por detrás de los mosquitos como vectores de enfermedades humanas en el mundo (Parola y Raoult, 2001). Uno de los principales grupos de agentes patógenos, de conocido potencial zoonótico, de los que las garrapatas son vectores son los agentes ehrlichiales. Siendo las garrapatas de la familia *Ixodiade* las principalmente relacionadas con la transmisión de estas enfermedades (Kidd y Breitschwerdt, 2003).

Las garrapatas se encuentran distribuidas mundialmente aunque existe una distribución geográfica particular para cada una de las especies, a su vez cada especie de garrapata es vector de diferentes agentes patógenos. La existencia de las enfermedades transmitidas por garrapatas en un área geográfica está condicionada a la existencia de la garrapata vector. La identificación de las especies de garrapatas es un factor importante en la detección y diagnóstico de las enfermedades transmitidas por garrapatas y es un prerrequisito para su control y posible erradicación (Cupp, 1991).

Rhipicephalus sanguineus o garrapata marrón del perro se encuentra distribuida mundialmente, es vector entre otros agentes de *Ehrlichia canis* y *Anaplasma platys*, por ello la ehrlichiosis canina es una enfermedad de distribución mundial. Las garrapatas vectores de *Ehrlichia ruminantium* pertenecen a diversas especies de *Amblyoma* que sólo se encuentran en África, de ahí que la enfermedad del corazón de agua de los rumiantes se encuentre limitada a ese área geográfica (Bezuidenhout, 1987; Walker y Olwage, 1987; Camus y Barre, 1987; Deem, 1998). *Ehrlichia ewingii* y *E. chaffeensis* son transmitidas por *Amblyomma* americana, garrapata originaria del continente americano (Anziani *et al*, 1991; Murphy *et al*, 1998). *Ixodes ricinus* es la garrapata vector de *Anaplasma phagocytophilum* distribuida tanto en el continente americano como el europeo (Cupp, 1991).

Los géneros de garrapatas de la familia Ixodidae de mayor importancia médica, por su capacidad de transmisión de patógenos, son: *Rhipicephalus*, *Dermacentor*, *Ixodes*, *Boophilus*, *Amblyoma* y *Haemaphysalis*.

Las garrapatas son longevas y son capaces de mantenerse vivas, sin alimentarse, por periodos prolongados en cualquiera de sus estadios de desarrollo. En general el desarrollo de las garrapatas viene favorecido por climas cálidos, ya que no son capaces de soportar condiciones extremas de frío o humedad, sin embargo pueden buscar protección en casas, madrigueras, perreras, etc., pudiendo sobrevivir en climas fríos (Kidd y Breitschwerdt, 2003).

Rhipicephalus sanguineus es también capaz de producir enfermedad paralizante en perros.

Rhipicephalus sanguineus es una garrapata de tres hospedadores, en zonas tropicales y subtropicales, la garrapata se puede encontrar durante todo el año. En climas mediterráneos su actividad se inicia en primavera perdurando hasta el otoño. En invierno no se encuentran sobre los animales y en clima frío no son capaces de sobrevivir, sin embargo pueden encontrar refugio en casas, pajares, perreras, lo que les permite su supervivencia (Cupp, 1991).

PLAQUETAS,

La alteración hematológica más frecuentemente descrita en la ehrlichiosis canina es la trombocitopenia, habiendo sido muy empleada su presencia como dato previo para la sospecha de ehrlichiosis en perros (Woody y Hoskins, 1991). Esto, si cabe, ha hecho que su presentación haya sido sobreestimada, existiendo estudios en los que se describe trombocitopenia en el 100% de los animales estudiados (Troy *et al*, 1980). Otros estudios sugieren incidencias del 80% de los casos (Waddle y Littman, 1988; Sainz y Tesouro, 2001). En nuestro estudio hemos observado la existencia de trombocitopenia en torno a un 35% de los animales estudiados, porcentaje muy inferior a lo reseñado en estudios anteriores.

Concluimos que, admitiendo que la trombocitopenia es la alteración hematológica aparecida más frecuentemente en perros con ehrlichiosis, en la fase

subclínica de la enfermedad su presentación disminuye considerablemente, si bien sigue siendo ésta una de las pocas alteraciones que se pueden encontrar en animales con ehrlichiosis en fase subclínica y de hecho podemos comprobar como el valor medio del recuento de trombocitos en grupo el grupo control es un 50% mayor que en el grupo de perros con ehrlichiosis.

Por otro lado señalamos la ausencia de sintomatología hemorrágica en presencia de trombocitopenia, hecho que ya ha sido observado por otros autores y que, unido a la presencia de hemorragia en ausencia de trombocitopenia, sugiere que las principales responsables de esta sintomatología son alteraciones en la funcionalidad plaquetaria (Kuehn y Gaunt, 1985; Woody y Hoskins, 1991; Sainz y Tesouro, 2001).

La única correlación encontrada entre los valores plaquetarios y las distintas poblaciones y subpoblaciones leucocitarias en animales con ehrlichiosis subclínica ha sido una relación inversa con el porcentaje de células NK, relación no existente en el grupo.

Control. Sin embargo, ello no nos permite definir la trombocitopenia como indicador de alteraciones inmunológicas en el curso de la ehrlichiosis.

La ehrlichiosis canina es un trastorno multisistémico que hoy en día se sabe es causado por diversas especies de rickettsias. Con anterioridad, todos los informes clínicos de esta enfermedad confirmados por medios citológicos o serológicos se atribuyeron a infecciones por EC. Es posible que en Estados Unidos los casos diagnosticados citológicamente como infecciones por “cepa granulocítica” hayan sido causados por el agente de la EGH, por *E. equi* o por *E. ewingii*. Debido a la reactividad cruzada con EC, los casos confirmados serológicamente tal vez se debieron a *E. chaffeensis* o *E. Ewingii*. Por, esta razón en el comentario siguiente se clasifican primero las características clínicas publicadas con anterioridad basadas en sistemas corporales y se dirige principalmente a la infección por EC. En la tabla 5 se diferencian las anomalías clínicas y de laboratorio de especies ehrlichiales individuales basadas en observaciones experimentales y clínicas.

Tabla 5 Comparación de la enfermedad canina de ocurrencia natural causada por diversas especies de ehrlichia.

<i>Especie</i>	<i>Aislamientos geográficos</i>	<i>Características clínicas</i>	<i>Anormalidades de laboratorio</i>
Monocítica			
<i>E. canis</i>	Mundial	Fiebre, anorexia, pérdida de peso, diátesis hemorrágica, signos de SNC, linfadenomegalia	Anemia, leucopenia, trombocitopenia notable, hiperglobulinemia, pancitopenia, proteinuria
<i>E. risticii</i> (subespecie <i>atypicalis</i>)	EUA	Fiebre, letargo, diátesis hemorrágica, edema, poliartritis	Anemia, trombocitopenia
Granulocítica			
<i>E. ewingii</i>	Sur y medio oriente bajos de EUA, Missouri	Fiebre, anorexia, cojera, poliartritis	Trombocitopenia leve Anemia no regenerativa leve
Agente de la ehrlichiosis granulocítica humana	Medio oeste alto de EUA. (Minnesota, Wisconsin), noreste de EUA, Suiza	Fiebre, letargo, esplenomegalia, hepatomegalia, signos de SNC, cojera	Trombocitopenia, hipoalbuminemia leve, incremento de la actividad sérica de ALP, aumento de la amilasa sérica, proteinuria, neutropenia o desviación a la

			izquierda regenerativa ocasional
<i>E. phagocytophila</i>	Suecia, Gran Bretaña, Suiza	Fiebre, anorexia, depresión, cojera, linfadenomegalia, edema de miembros	Trombocitopenia
<i>E. equi</i>	California, Oklahoma	Fiebre, anorexia, edema de miembros, signos de SNC	Leucopenia, trombocitopenia
Trombocítica			
<i>E. platys</i>	EUA, Grecia, Francia, Italia, Israel	Febrícula, uveítis, petequias y equimosis, hemorragia de piel y mucosas	Trombocitopenia

Fuente: GREENE, 2000, p. 156.

SIGNOS MULTISISTÉMICOS.

Los signos clínicos encontrados en los animales problema, fueron muy variados entre ellos los más comunes, decaimiento presentado en el 75%, membranas mucosas pálidas en el 67.86%, linfadenitis en el 67.86% y pérdida de peso en el 64.28% de los animales. La variación de los signos clínicos puede deberse a la condición corporal, a la capacidad de respuesta inmunológica y la fase de la enfermedad que presentaban los animales al momento de ser examinados.(46)

Los hallazgos clínicos en los perros con Ehrlichiosis varían con la fase de la infección (tabla 4). La enfermedad pulmonar intersticial, disnea y tos ocurren a

veces y los signos gastrointestinales se presentan en algunos perros con infección aguda. Un cuadro común es depresión, letargo, pérdida de peso leve y anorexia con tendencias hemorrágicas o sin ellas. Cuando se presentan hemorragias suelen manifestarse por petequias, equimosis, o ambas, dérmicas y, aunque ocurren en cualquier superficie mucosa, es más frecuente epistaxis.(47)

Alrededor del 40% de los casos presentan linfadenomegalia, si bien ésta no siempre es generalizada. También se puede encontrar hepatomegalia y esplenomegalia.(48)

Las manifestaciones cutáneas pueden incluir hiperemia, petequias, edema y necrosis dérmica. La hemorragia proviene de la vasculitis, trombocitopenia por el consumo de plaquetas en los sitios de la inflamación endotelial, trombocitopenia por destrucción inmunológica.(49)

Se pueden presentar otros signos clínicos como vómitos, descarga oculonasal serosa a purulenta, claudicación, ataxia y disnea. Infecciones bacterianas secundarias y por protozoarios.(50)

SIGNOS OCULARES

Los perros pueden mostrar cambios en el color o el aspecto de los ojos y presentar ceguera. Los datos más comunes son uveítis anterior, hemorragia subconjuntival, hifema, hemorragia iridal y afección de la retina (como coriorretinitis, papiledema, hemorragia retiniana, infiltrados perivasculares en la retina, desprendimiento retiniano ampollar,(51) petequias retinianas y edema de retina). La uveítis también se ha relacionado con la infección por EP en el perro.(52)

SIGNOS NEUROMUSCULARES.

Los signos neurológicos de ehrlichiosis se deben principalmente a meningitis por inflamación, hemorragia, o ambas. Ocurre disfunción neurológica con daño del tejido nervioso central o periférico adyacente. Las infecciones con *E. canis* y cepas granulocíticas han sido más comunes y los signos no se distinguen de los de la Fiebre Moteada de las Montañas Rocosas (FMMR).

Se han observado convulsiones, estupor, ataxia con disfunción de neurona motora alta o baja, disfunción vestibular aguda central o periférica, anisocoria, disfunción cerebelosa, temblor de intención e hiperestesia generalizada o localizada, y en algunos casos, mórulas en células del líquido cefalorraquídeo (LCR). Dos perros seropositivos a EC tuvieron poliomiocitis y los signos consistieron en tetraparesia progresiva de inicio súbito, hiperreflexia y desgaste muscular. Los músculos esqueléticos estaban atróficos y se caracterizaron en el estudio histológico por infiltrados celulares linfoplasmocíticos y linforreticulares inmaduros dentro de áreas de necrosis. Desafortunadamente, no se publicó información acerca de la histopatología de nervios periféricos. (53)

En algunos casos coagulación intravascular diseminada (CID) incluyen lesiones vestibulares (nistagmo, ataxia e inclinación de la cabeza) convulsiones e hiperestesia en general es fatal como resultado de las arritmias cardíacas y estado de choque, enfermedad pulmonar, falla renal aguda o enfermedad grave del sistema nervioso central (SNC).(54)

SIGNOS LOCOMOTORES

En ocasiones, los perros con ehrlichiosis pueden presentar cojera con marcha rígida secundaria a poliartropatía. La enfermedad articular puede ocurrir por hemartrosis o depósito de complejos inmunitarios con la consiguiente artritis y derrame neutrofílico en la articulación.(55) En estos casos se pueden detectar cuerpos de inclusión de Ehrlichia en líquido sinovial.(56)

Casi todos los casos de poliartritis se han relacionado con la infección por cepas granulocíticas o *E. risticii*. Cuando se han determinado los títulos, aproximadamente el 81% de los perros con la cepa granulocítica tuvo títulos EC (que reacciona en forma cruzada con anticuerpos a *E. ewingii*) y el 8% a *E. equi*. (57)

La rigidez, intolerancia al esfuerzo y articulaciones dolorosas y tumefactas se reconocen en algunos perros con poliartritis supurativa. La mayoría de los pacientes con poliartritis en los cuales se identificó al microorganismo, han sido infectados por las cepas granulocíticas, probablemente *E. ewingii* o *A. phagocytophila*.(58).

SIGNOS ESPECÍFICOS DE ESPECIE.

En la tabla 3 se resumen los hallazgos clínicos y de laboratorio de las diversas infecciones ehrlichiales en perros.

Es posible establecer en forma experimental la infección por *E. risticii* en perros y gatos que causa una enfermedad clínica mínima. En dos de ocho gatos inoculados con *E. risticii*, se observó una enfermedad leve, de curación espontánea, que consistió en diarrea intermitente en uno de ellos y linfadenomegalia, depresión aguda y anorexia en otro. Aunque experimentalmente esta especie ehrlichial al parecer causa si acaso poca afección clínica en el perro y el gato, aún no se determina si sucede igual con las infecciones naturales.

En 100 casos de ehrlichiosis canina atípica desde el punto de vista serológico, con tres muertes, la prueba de inmunofluorescencia indirecta de anticuerpos (IFA) fue negativa para EC y *E. sennetsu*, pero positiva para *E. risticii*. Los datos clinicopatológicos incluyeron vómitos, letargo, anemia, trombocitopenia, poliartropatía, fiebre, o todos ellos. Se propuso una nueva especie llamada *E. risticii* subespecie *atypicalis*. Cuando existen signos característicos de ehrlichiosis en un perro y es seronegativo para EC, debe pensarse en valorar la presencia de títulos de anticuerpo a *E. risticii*.(59)

Ehrlichia ewingii causa una enfermedad clínicamente importante en perros con infección natural y experimental. Los principales signos clínicos son cojera y tumefacción articular con marcha rígida, todos característicos de poliartrosis. La anomalía hematológica más común es la trombocitopenia.(60)

El agente de EGH, relacionado estrechamente con *E. phagocytophila* y *E. equi*, causa enfermedad clínica en perros, caballos y personas infectados de manera natural. En perros han sido más comunes fiebre, letargo, anorexia, esplenomegalia, hepatomegalia, linfadenomegalia y signos de SNC. Los datos de laboratorio más consistentes en perros infectados con el agente de EGH son trombocitopenia, linfopenia, hipoproteinemia, hipoalbuminemia, actividades séricas altas de fosfatasa alcalina (ALP) y amilasa y proteinuria.

Se han descrito infecciones experimentales por *E. equi* en gatos, y naturales y experimentales en perros. Los signos incluyen fiebre, anorexia,

depresión, edema de los miembros y problemas de SNC. Los datos de laboratorio comprenden leucopenia y trombocitopenia.

Se ha descrito que *E. phagocytophila* infecta perros y caballos en Europa. Los signos incluyen los de *E. equi* y el agente de EGH, como fiebre, anorexia, depresión, cojera, linfadenomegalia y edema del miembro, y estos problemas llegan a reflejar la similitud de estas especies ehrlichiales, que es posible sean subespecies o variantes de cepa.

Se ha inoculado en forma experimental *E. chaffeensis* en cachorros y los signos fueron leves comparados con los animales correspondientes con *E. canis* ya que sólo se observó fiebre. Este dato contrasta con el síndrome clínico que se ha presentado en personas infectadas con *E. chaffeensis*, que tal vez se relaciona con diferencias de especie o atenuación del agente en cultivo celular. Se desconoce la importancia clínica de infecciones naturales en perros o gatos. Los signos clínicos en personas infectadas se asemejan a los de la FMMR. Pruebas serológicas y de RCP sugieren que en el sureste de Virginia los perros en albergues para animales y perreras están infectados de manera natural.(61)

La fiebre puede ocurrir en las fases clínicas pero es más corriente en la aguda. Las petequias u otras evidencias de sangrado notadas durante la fase aguda en general se deben a una combinación de trombocitopenia leve (consumo y destrucción inmunomediada) y vasculitis; la trombocitopenia (consumo, destrucción inmunomediada, secuestro, reducida producción), vasculitis y anormalidades de la función plaquetaria ocurren en la fase crónica. La trombocitopenia en la fase aguda en general no es de grado suficiente para promover sangrado espontáneo, por ello la hemorragia primariamente puede asociarse con vasculitis e hipofunción plaquetaria.

Las membranas mucosas pálidas por lo usual sólo se aprecian en la fase crónica durante el establecimiento de la pancitopenia. La hepatomegalia, esplenomegalia y linfadenopatía son el resultado de la inmunoestimulación crónica (hiperplasia linforreticular) y se detectan con mayor asiduidad en perros con la fase crónica. El edema intersticial o alveolar secundario a la vasculitis, hemorragia parenquimatosa vascular secundaria a vasculitis o trombocitopenia e infecciones secundarias resultantes de la neutropenia son responsables por la disnea o tos en

algunos perros con Ehrlichiosis.(62) También se puede encontrar en perros con ehrlichiosis una insuficiencia renal debido a glomerulonefritis inmunomediada parecida a la que aparece en leishmaniosis.(63)

EHRlichiosis Trombocítica Canina.

En Estados Unidos se han reconocido muy pocos signos clínicos en perros con infección experimental; en ocasiones se ha observado un incremento leve de la temperatura rectal durante las parasitemias iniciales y reconocido hematoquecia ligera en algunos perros trombocitopénicos. La esplenectomía antes de una infección experimental da por resultado cuentas iniciales de plaquetas más altas pero no altera la periodicidad de las parasitemias ni la gravedad de la enfermedad. Al parecer, la edad del paciente no tiene un efecto significativo en el curso de la infección; los datos clínicos y hematológicos en un grupo de tres cachorros destetados fueron similares a los de perros maduros. En casos naturales se han señalado signos clínicos más graves, que incluyeron fiebre y uveítis en un perro, y hemorragias petequiales y equimóticas de las encías, la esclerótica y la piel y epistaxis en otro.

Fuera de Estados Unidos se ha publicado la existencia de más cepas patógenas de EP y la observación en estudios experimentales y naturales de perros infectados con una cepa griega de EP, signos clínicos que incluyeron fiebre, palidez de mucosas, hemorragias petequiales en la piel y en la mucosa oral, disminución del apetito y pérdida de peso.(64)

No obstante, también se han descrito cuadros similares a los encontrados en reacciones de hipersensibilidad. Del mismo modo, se ha sugerido recientemente la asociación de la ehrlichiosis con el pioderma profundo del Pastor Alemán. Por último, la infertilidad en hembras y la presencia de abortos también se ha relacionado ocasionalmente con ehrlichiosis.(65)

Es posible que la ocurrencia de EP con otros agentes infecciosos (EC y *Babesia canis*) potencie la enfermedad clínica causada por cualquiera de estos agentes. Igual que con EC, ciertas razas de perros o animales individuales son afectados más gravemente que los perros estudiados en forma experimental. Los pacientes con trombocitopenia pueden tener hemorragias después de traumatismos o cirugía. Incluso si bien en Estados Unidos la infección por EP rara

vez produce una enfermedad clínica, debe considerarse en el diagnóstico diferencial de trombocitopenia en perros.(66)

DIAGNÓSTICO

EHRlichiosis MONOCÍtica Y GRANULOCÍtica CANINAS

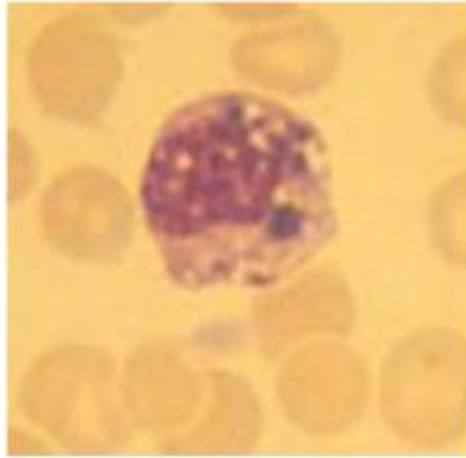
La mayoría de los casos de Ehrlichiosis monocítica canina (EMC) ocurren en áreas endémicas durante la primavera y los meses de verano cuando la población de garrapatas es más activa. Los propietarios pueden relatar una infestación previa con garrapatas o la visita reciente a un área endémica.(67)

Aunque, en la actualidad, resulta difícil dar un diagnóstico confirmativo de la enfermedad en clínicas y consultorios veterinarios, basados solamente en la apreciación de los signos clínicos del paciente, debido a que son inespecíficos (fiebre, anorexia, depresión, pérdida de peso, epistaxis, émesis) y a la variación presentada de acuerdo a la fase de la enfermedad.(68)

No existen signos patognomónicos en los perros con Ehrlichiosis. La poliartritis no es erosiva y los perros con anomalías respiratorias con mayor regularidad tienen aumentados los detalles intersticiales pulmonares, pero pueden haber patrones alveolares.(69)

Igualmente los resultados del cuadro hemático, caracterizado por trombocitopenia, leucopenia severa y anemia en pocos casos se pueden asociar con la presencia del parásito en frotis de sangre periférica, debido al grado de dificultad que representa, el contar con pocas células blancas y las características mismas de la rickettsia causante de la enfermedad, por lo tanto el diagnóstico se basa en la combinación de anamnésticos, sintomatología, anomalías hematológicas(70) y con la visualización de las mórulas en los monocitos circulantes (Fig.17), detección del aumento de anticuerpos en suero contra EC, o la demostración del ADN de EC mediante la reacción de cadena de polimerasa (PCR).(71)

Mórula de Ehrlichia en células mononucleares circulantes en un perro infectado (Giemsa).



Los aspirados de los ganglios linfáticos y bazo agrandados muestran hiperplasia linfocítica y plasmocítica reactivas. Los neutrófilos no degenerados son las células primarias en el líquido sinovial de los perros con poliartritis resultante de la infección con cualquier *Ehrlichia* spp; las mórulas de la *E. ewingii* y *A. phagocytophila* pueden identificarse en los neutrófilos sinoviales de algunos perros.

Los aspirados de médula ósea en los perros con Ehrlichiosis crónica típicamente muestran hipoplasia mieloide, eritroide y megacariocítica en asociación con hiperplasia linfocítica y de células plasmáticas. Las mórulas de la EC rara vez se detectan en el citoplasma de las células mononucleares. La Ehrlichiosis en general causa pleocitosis mononuclear e incremento de las concentraciones proteicas en el LCR. Los anticuerpos antinucleares (ANN), antiplaquetarios y antieritrocíticos (Coombs directa) y factor reumatoideo son detectados en algunos perros con Ehrlichiosis, conduciendo al diagnóstico inapropiado de la enfermedad inmunomediada primaria. (72),

HEMATOLOGÍA

Las alteraciones hematológicas se comprueban mejor en infecciones por EC e incluyen anemia (82%) que suele ser no regenerativa, trombocitopenia (82%) y leucopenia (32%, de la cual el 20% tuvo neutropenia).(73)

La neutropenia es habitual durante la fase aguda de la vasculitis y después de la supresión medular en la fase crónica. La inmunoestimulación crónica induce monocitosis y linfocitosis; son comunes los linfocitos granulados grandes (gránulos azurofílicos citoplasmáticos).(74)

La anemia regenerativa se origina en la hemorragia (fases aguda y crónica); la anemia normocítica, normocrómica arregenerativa es inducida por la mielosupresión o la anemia de la enfermedad crónica (fase crónica). La trombocitopenia puede ocurrir durante la fase aguda o crónica, pero en general es más pronunciada en la fase crónica. Las trombocitopatías resultantes de la hiperglobulinemia potencian el sangrado en algunos perros con Ehrlichiosis crónicas.(75)

La pancitopenia suele resultar de hipoplasia de todas las células precursoras en la médula ósea y ocurre en la fase crónica grave (18% de los casos) y con mayor frecuencia en perros pastor alemán.(76)

Los cambios en las líneas celulares de la médula ósea asociados con la Ehrlichiosis varían desde la hiper celularidad (fase aguda) hasta la hipocelularidad (fase crónica). La plasmocitosis de la médula ósea es habitual en los perros con Ehrlichiosis subclínica y crónica, y la enfermedad puede confundirse con mieloma múltiple, en particular con aquellos perros con gammapatías monoclonales.(77)

Un dato que se ha publicado constantemente es trombocitopenia en todas las etapas de ehrlichiosis por EC sin embargo, debido a que con frecuencia es una prueba de selección para ehrlichiosis, es posible que se haya estimado en exceso esta proporción. Nunca debe descartarse ehrlichiosis sólo porque la cuenta de plaquetas es normal. Es necesario llevar a cabo serología si hay otros signos clínicos compatibles.

Se ha observado linfocitosis granular en la infección con EC. Los perros afectados tuvieron cuentas absolutas de linfocitos que variaron de 5200 a 17200 células/ μ l y granularidad de su citoplasma característica de leucemia linfocítica bien diferenciada. Algunos de estos pacientes presentaron gammapatías monoclonales, que adicionalmente podrían llevar erróneamente al diagnóstico de leucemia linfocítica.(78)

BIOQUÍMICA

Las anormalidades químicas séricas más frecuentes han incluido hipoproteinemia, hiperglobulinemia, hipoalbuminemia y actividades de aminotransferasa de alanina y ALP elevadas.(79)

La detección de las mórulas en las células confirma el diagnóstico de infección con Ehrlichia pero es inusual excepto en el caso de una cepa granulocítica. Las mórulas pueden observarse con mayor facilidad en los extendidos de la capa leucocítica o examinando frotis sanguíneos con sangre recolectada de un vaso auricular marginal o dentro del líquido sinovial. Algunas cepas pueden ser cultivadas, pero el procedimiento es de escaso rendimiento y costoso; por ello no tiene aplicación clínica.(80)

La hiperproteinemia resulta de valores elevados de globulina pero no existe una correlación directa entre las concentraciones de globulinas séricas y anticuerpos séricos. La electroforesis sérica suele mostrar hiperglobulinemia policlonal, aunque ocurren gammopatías monoclonales. Es necesario valorar el título de anticuerpo a EC en todos los perros en que se piensa en el diagnóstico de gammopatía monoclonal benigna o en los que no existe una prueba definitiva de mieloma, leucemia o macroglobulinemia.(81)

Los perros infectados que presentan pancitopenia suelen tener concentraciones séricas más bajas de gammaglobulina comparados con los que no son pancitopénicos. Los pacientes con EC llegan a tener plasmacitosis en médula ósea o en ocasiones en otros tejidos, que se confunde con mieloma de células plasmáticas.(82)

Otros datos clinicopatológicos incluyen proteinuria, hematuria, tiempo de sangría prolongado (incluso en ciertos perros con cifras de plaquetas normales) y radiopacidad intersticial pulmonar que varía de un patrón lineal leve a infiltración intersticial notable con opacidades peribronquiales.

Experimentalmente, se observa una pérdida máxima de proteínas urinarias, que consiste en especial de albúmina, dos y media a tres y media semanas después de la inoculación y se resuelve alrededor de seis semanas después de la infección. Durante la pérdida máxima, las relaciones urinarias proteína/creatinina variaron de 4.5 a 23.2 (relación normal < 1.0). Se observó una caída correspondiente de las concentraciones séricas de albúmina (media, 2.1 g/dl). El análisis de LCR en perros con signos de enfermedad de SNC ha revelado un incremento del valor de proteínas y pleocitosis linfocítica predominante similar a la

que se observa en la infección viral. Se han observado alteraciones comparables en LCR en la ehrlichiosis en el hombre.

Es posible establecer un diagnóstico definitivo de enfermedad ehrlichial cuando se demuestran mórulas en leucocitos de frotis sanguíneos o aspirados de tejido como bazo, pulmón y ganglios linfáticos.(83)

La hipoalbuminemia en la fase aguda tal vez se deba a la fuga de la albúmina hacia el tercer espacio tisular, a causa de la vasculitis, mientras que en la fase crónica proviene de las pérdidas glomerulares motivadas por los depósitos de complejos inmunes o la inmunoestimulación crónica (gammapatía monoclonal o policlonal). La azotemia prerenal puede ocurrir durante las fases aguda o crónica; la azotemia renal se establece en algunos perros con glomerulonefritis pronunciada debido a ehrlichiosis crónica. La combinación de hiperglobulinemia e hipoalbuminemia es compatible con Ehrlichiosis subclínica o crónica. Las gammapatías policlonales son más comunes, pero también pueden ocurrir las gammapatías monoclonales.(84)

SEROLOGÍA

El diagnóstico de ehrlichiosis suele basarse en resultados positivos de la prueba de IFA. Este estudio detecta anticuerpos séricos tan temprano como a los siete días de la infección inicial, aunque es posible que algunos perros no se tornen seropositivos hasta 28 días después del inicio de la infección. En los no tratados, las concentraciones séricas de anticuerpo llegan al máximo a los 80 días de la infección.(85)

Los sueros que presentan reacción en diluciones iguales o mayores que 1:10 son considerados positivos, pero, títulos de 1:20 a 1:80 son considerados relativamente bajos. Los resultados falso-negativos pueden ocurrir si el antígeno no fuera de buena calidad o si el lector fuera inexperto, y los resultados falso-positivos pueden ser observados si la muestra de suero estuviera contaminada con bacterias. (86)

Los títulos de anticuerpos, se cuentan doble: 1:10, 1:20, 1:40, 1:80, 1:160 y así sucesivamente. Un título alto puede ser causado por exposición repetida a la enfermedad, a un gran número de ehrlichias en la sangre o a una mejor respuesta

del sistema inmune del perro que responde con mayor producción de anticuerpos, El test puede ser negativo en la primera fase de la enfermedad, aún habiendo signos clínicos o también en los últimos períodos de la fase crónica, cuando el sistema inmune ya no responde. (87)

Títulos menores a 1:40 se consideran negativos (exposición mínima) y títulos sobre 1:80 se consideran como una infección activa. El tratamiento o la recuperación del paciente no garantizan un IFA negativo, por lo que no debe considerarse como dador de sangre.(88)

La prueba de ELISA es un análisis confiable para obtener un diagnóstico rápido de la enfermedad y está remplazando a la prueba de IFA, ya que no requiere de equipo especializado, de tal manera que se puede practicar en centros clínicos con la dotación del kit.(89)

La mayoría de los laboratorios comerciales (que emplean IFA) y un método para consultorio (IDEXX Laboratorios) utilizan reactivos que detectan anticuerpos anti-EC en suero.(90)

El snap combo kit para la detección de anticuerpos contra Ehrlichia canis es un análisis de inmunoabsorción ligada a enzimas (ELISA) del laboratorio IDEXX, que identifica una región inmunodominante para lo cual utiliza anticuerpos monoclonales. Esta prueba posee una sensibilidad de 98.8% y una especificidad de 100%.(91)

Figura 21. Snap 3Dx (IDEXX Laboratorios) para uso clínico.



El Grupo de Estudio de Enfermedades Infecciosas del Colegio Americano de Medicina Interna Veterinaria (IDSG-ACVIM) sugirió que los títulos IFA entre 1:10 y 1:80 sean rechequeados en 2 a 3 semanas, debido a la posibilidad de resultados positivos falsos con tales niveles. Si los anticuerpos séricos son detectados en un perro con manifestaciones clínicas compatibles con Ehrlichiosis, corresponde hacer el diagnóstico presuntivo e implementar el tratamiento adecuado.(92)

Cuando se determina el título de anticuerpos contra EC mediante la prueba de IFA en perros, es esencial que el clínico tenga en cuenta las reacciones cruzadas que se pueden presentar y que pueden confundir el diagnóstico. En áreas endémicas a otras especies de Ehrlichias las reacciones cruzadas entre EC, *E. ewingii*, *E. equi* o *E. risticii* deben tenerse en cuenta. En un estudio reciente se demostró que perros artificialmente infectados con EC desarrollan anticuerpos que dan reacción cruzada con *E. equi* aproximadamente 4 meses después de la infección. No obstante, se observó que los anticuerpos contra *E. equi* eran considerablemente más bajos comparados con los de EC. La reactividad cruzada entre EC, *Neorickettsia helminthoeca* (el agente etiológico de la enfermedad del envenenamiento por salmón) también ha sido documentada. No hay reacción serológica cruzada entre EC y EP.

EHRlichiosis Trombocítica Canina.

Es causada por **Ehrlichia platys**,, esta solo se replica en las plaquetas, el modo de transmisión sería por garrapatas pero experimentalmente no se ha demostrado que sea la misma de EC. Esta produce rickettsemia y trombocitopenia que puede ser intensa y disminuir la agregación plaquetaria. La anemia arregenerativa, normocíticas, normocrómica leve asociada con la anemia de la inflamación, leucopenia, hipoalbuminemia e hiperglobulinemia, se comunicaron en relación con la infección experimental.(40)

El periodo de incubación después de la infección IV experimental en perros es de 8 a 15 días. No se ha demostrado la forma de transmisión, pero es probable que incluya una garrapata vector, aunque los intentos para transmitir el agente con RS no tuvieron éxito. El porcentaje más alto de plaquetas parasitadas ocurre

durante el episodio inicial de parasitemia. En el transcurso de unos cuantos días de la aparición de plaquetas parasitadas, hay una disminución precipitada de su cifra (por lo general 20000 células/ μ l o menos) y no suelen observarse más los microorganismos. Después de desaparecer estos últimos, aumentan con rapidez las cuentas de plaquetas y llegan a los valores normales en el transcurso de tres a cuatro días.

Las parasitemias y trombocitopenias subsecuentes recurren a intervalos de una a dos semanas. Aunque el porcentaje de plaquetas infectadas disminuye hasta 1% o menos con las parasitemias subsecuentes, los episodios trombocitopénicos son tan graves como los que se observan después de la parasitemia inicial. Si bien está puede ser principalmente una consecuencia de la lesión de plaquetas por los microorganismos en replicación, es posible que en los episodios trombocitopénicos subsecuentes sean más importantes mecanismos de mediación inmunitaria para la eliminación de plaquetas. La naturaleza cíclica de las parasitemias y trombocitopenias disminuye con el tiempo y da como resultado trombocitopenias leves que se resuelven con lentitud, acompañadas de microorganismos que aparecen en forma esporádica en plaquetas sanguíneas.

En algunos casos, han ocurrido de manera concomitante con la parasitemia disminuciones temporales de las cuentas totales de leucocitos, pero los valores no suelen ser menores que los límites de referencia para perros. Es posible que durante el primer mes de la infección se presenten anemias normocrómicas normocíticas leves. Con base en estudios del hierro sérico y la médula ósea, las disminuciones del volumen de eritrocitos concentrados pueden atribuirse al síndrome de anemia de inflamación. En las muestras séricas llegan a encontrar incrementos ligeros a moderados de proteínas de fase aguda e inmunoglobulinas y disminuciones leves de la albúmina.(41)

La fase aguda dura de 2-4 semanas. Hay replicación en las células mononucleares infectadas, diseminación hematógena a múltiples órganos. Cursa con vasculitis secundaria a la diseminación, sobre todo en microvasculatura, anemia regenerativa, leucopenia y/o trombocitopenia, ligera elevación en enzimas hepáticas y ligera disminución en albúmina sérica. La fase subclínica puede prolongarse por largo tiempo y a veces años. Se asocia con persistencia del microorganismo y producción de anticuerpos y múltiples anomalías analíticas incluyendo las de la fase aguda. La fase crónica representa una respuesta inmune ineficaz por parte del huésped. La gravedad de la enfermedad suele relacionarse

con la susceptibilidad de cada raza, la edad, enfermedades concomitantes e inmunocompetencia del animal. Los casos crónicos leves pueden presentar las mismas alteraciones descritas en la fase aguda. Los casos crónicos graves, que afectan especialmente al pastor alemán, pueden presentar una hipoplasia intensa de la médula ósea e insuficiencia multiorgánica, con o sin sepsis.(42)

CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS

La ocurrencia natural de Ehrlichiosis monocítica canina se puede manifestar con una amplia variedad de signos clínicos. Diferentes estudios han descrito una gran variación en los signos clínicos y esto puede ser debido a muchos factores, incluyendo diferencias en la patogenicidad entre las cepas de Ehrlichia, raza de perros, infecciones concomitantes con otras enfermedades transmitidas por garrapatas y el estado inmunitario del perro. No hay predilección sexual ni de edad en la infección con ECy todas las razas pueden ser infectadas. Sin embargo el Pastor Alemán parece ser el más predispuesto a desarrollar Ehrlichiosis monocítica canina clínica.

En la fase aguda es común encontrar garrapatas en el perro. En esta fase los signos clínicos pueden ser leves y no específicos, aunque en algunos casos pueden ser severos y comprometer la vida. Después del período de incubación que es de 8 a 20 días, los perros infectados entran en la fase aguda de la enfermedad que puede durar de 1 a 2 semanas.(43)

La enfermedad grave se presenta en perros con depresión de la inmunidad mediada por células.(44)

La sintomatología de la ehrlichiosis canina es muy variada. Especialmente durante la fase aguda la sintomatología suele ser poco específica por lo que el diagnóstico no siempre es sencillo. Si no se diagnostica la enfermedad en fase aguda, ésta progresa a la forma subclínica en la que sólo se encuentran alteraciones de laboratorio en perros asintomáticos. (45)

TRATAMIENTO.

El tratamiento de elección es la **DOXICICLINA** a dosis de 5 mg/Kg cada 12 h. o como una sola dosis de 10 mg/Kg cada 24 h. durante periodos de 28 a 30 días. Existe otro medicamento el cual en americana latina no se utiliza mucho pero en Norteamérica y otros países si, este producto es el **Dipropionato de Imidocarb**, el cual se aplica a través de dos aplicaciones inyectables con un intervalo de 14 días entre la administración de una y otra a dosis de 0,5ml/10Kg.

Se administra diluido en suero fisiológico. Se recomienda administrar atropina, antes del Imidocarb, a dosis de 0,025mg/Kg a fin de evitar o minimizar los efectos indeseables del imidocarb, como son la excesiva salivación, diarrea, disnea, exudado nasal seroso.

En casos graves de anemia, además del tratamiento antimicrobiano se aconseja transfusión sanguínea, (plasma rico en plaquetas), y si hay deshidratación aplicación de flúidoterapia.

Cuando hay trombocitopenia grave que hace peligrar la vida del animal, se pueden utilizar los Corticoides (prednisona) a corto plazo (2 a 7 días) recordar disminuir la dosis por efecto adrenal. También son útiles cuando hay poliartritis y meningitis.

Es importante como profilaxis, puesto que no existe vacuna hasta el momento, mantener un importante control sobre el vector de Ehrlichia, la garrapata ***Rhipicephalus sanguineus***. Como profiláctico contra la infección inicial o re-infección se puede utilizar las tetraciclinas a 6.6mg/Kg/día p.o. Es preciso tener en cuenta -y así hay que hacérselo saber al propietario- que han de practicarse controles hematológicos, así como pruebas de detección del parásito, (IFA o PCR), después de finalizar el tratamiento, ya que éste no es fácil eliminar en la mayoría de los casos y ha de volverse a instaurar de nuevo el tratamiento e incluso es posible que el parásito persista de por vida en el animal.

Hay que tener en cuenta que las tetraciclinas son antibióticos bacterioestáticos, (el cloranfenicol también tiene acción bacteriostática), cuya acción se dirige a Gram + y Gram - aerobios y anerobios, Rickettsias, Mycoplasma, Chlamydia, Espiroquetas y Protozoos y que se antagonizan con penicilinas y sus derivados y con antibióticos bactericidas. Los Macrólidos (entre ellos, la Eritromicina), son antibióticos bacterioestáticos.

Según Mussnug (1956) "La acción de las tetraciclinas no opone a la de eritromicina". El fenómeno de sinergismo también se da entre las tetraciclinas y la tilosina en la acción contra Pasteurella. También se produce sinergia entre el cloranfenicol y la polimixina. Por lo tanto, en animales que padezcan infección

concurrente con E.canis y que estén siendo tratados con doxiciclina y queramos combinarla con otro agente antimicrobiano para ampliar el espectro de acción o en animales que hayan sido tratados durante mucho tiempo con tetraciclinas y se tema que no haya suficiente respuesta ante la infección las resistencias son frecuentes deberemos tener en cuenta las posibles interacciones entre fármacos.

No olvidar de controlar las alteraciones hepáticas con la clásica terapéutica y otras manifestaciones como también la formación de radicales libres con Vitamina E 800 UI/Animal Día, se recomienda la utilización de Vitamina C en dosis de 500Mg./Animal al día.

PROFILAXIS:

La principal medida profiláctica para evitar la infección debe estar dirigida al control de garrapatas, tanto en el animal como en el medio en el que se encuentre. Para ello, existen en el mercado múltiples productos para su empleo en el perro.

En otras enfermedades transmitidas por garrapatas, parece necesario para que se produzca la transmisión que la garrapata esté fijada durante al menos 24 horas, por lo que, en el caso de que las medidas comentadas no funcionen, se debe intentar la retirada precoz de las garrapatas. Algunos autores han señalado la posibilidad de emplear tetraciclinas a dosis bajas en zonas endémicas, con la controversia que estas medidas ocasionan debido a la posibilidad de creación de resistencias.

Las medidas profilácticas también deben aplicarse a aquellos animales diagnosticados de ehrlichiosis debido al riesgo de reinfecciones que estos animales tienen, ya que normalmente el medio en el que residen continúa siendo el mismo.

CONCLUSIONES.

Se concluye .que Anaplasma platys (anteriormente Ehrlichia platys) es una rickettsia pequeñas que pueden causar la ehrlichiosis en los perros. Por lo general se transmite por la picadura de una garrapata infectada (Rhipicephalus sanguineus) o otro artrópodo.

A. platys fue reportado por primera vez en 1978 en los perros de la Florida, trombocitopenia cíclica infecciosa canina (ICCT) fue el nombre dado a la enfermedad causada por esta cepa. Desde entonces, ICCT ha sido reportada en muchas áreas de los Estados Unidos y en otras regiones del mundo.

En la mayoría de los informes anteriores, ICCT era considerada una enfermedad benigna, sin signos clínicos evidentes. Por lo tanto, *A. platys* no se ha considerado un organismo patógeno o un agente muy importante causante de la enfermedad. Sin embargo, otros investigadores han reportado signos clínicos más graves, de forma similar en severidad a aquellos asociados con las infecciones por *E. canis*. Los perros infectados con estas rickettsias desarrollará parasitemia cíclico y trombocitopenia cíclicas a las 7 - a intervalos de 14 días.

Debido a la cíclica parasitemia, la detección de *Anaplasma* en frotis de sangre puede ser difícil. El patógeno se encuentra en frotis de sangre como un organismo azul intraplaquetario en las vacuolas. Inclusiones de *Anaplasma* o mórulas son generalmente un hallazgo incidental en un examen de rutina frotis de sangre.

La infección por *Anaplasma* se puede detectar por medio de ELISA o prueba IFA. Pruebas serológicas como los perros pueden identificar con la exposición previa, pero no es útil para detectar la re-infección o estado de portador. El examen de frotis de sangre puede detectar el agente patógeno, pero la sensibilidad de esta técnica es muy baja. Detección molecular por PCR en tiempo real, que es muy sensible y específico, es útil para identificar rápidamente este patógeno y confirmar los perros 're-infección o el estado de portador.

Utilidades:

Ayudar a confirmar el agente patógeno que causa

LITERATURA CITADA.

Abeygunawardena, I.; Kakoma, I., and Smith, R.D. Pathophysiology of canine ehrlichiosis. Ehrlichiosis. Williams, J.C., and Kakoma, I. (Ed). Netherlands.: Kluwer Academic Publishers.; 1990; pp. 79-92.

Abranches, P.; Silva-Pereira, M.C.; Conceicao-Silva, F.M.; Santos-Gomes, G.M., and Janz, J.G. Canine leishmaniasis: pathological and ecological factors influencing transmission of infection. J Parasitol. 1991; 77(4):557-561.

Adams, D.H. and Lloyd, A.R. Chemokines: leukocyte recruitment and activation cytokines. Lancet. 1997; 349:490-495.

Adeyanju, B.J. and Aliu, Y.O. Chemotherapy of canine ehrlichiosis and babesiosis with imidocarb propionate. J Am Anim Hosp Assoc. 1982; 18:827-830.

Aguirre, E.; Sainz, A.; Amusatogui, I.; Rodriguez, F., and Tesouro, M.A. Estudio serológico de *Ehrlichia canis*, *Anaplasma phagocytophila* y *Neorickettsia risticii* en perros residentes de colectividades de Madrid. Libro de Ponencias y Comunicaciones del 38 Congreso Nacional De AVEPA. Sevilla. 2003; 282.

Aguirre, E.; Tesouro, M.A.; Ruiz, L.; Amusatogui, I., and Sainz, A. *Anaplasma platys* in Spain: first molecular characterization in a dog with clinical ehrlichiosis. Proceedings EMOP-IX. Valencia(España). 2004a.

Ahn, A.; Wallace, D., and Barrick, R.A. A comparative study of Frontline Top Spot and Revolution in the control of flea and tick infestations on dogs. WSAVA/FECAVA. 2000.

Akkonyunlu, M. and Fikrig, E. Gamma interferon dominates the murine cytokine response to the agent of human granulocytic ehrlichiosis and helps to control the degree of early rickettsemia. Infect Immun. 2000; 68(4):1827-1833.

Allsopp, M.T.E.P. and Allsopp, B.A. Novel *Ehrlichia* genotype detected in dogs in South Africa. Journal of Clinical Microbiology. 2001; 39(11):4204-4207.

Anderson, B.E.; Dawson, J.E.; Jones, D.C., and Wilson, K.H. *Ehrlichia chaffeensis*, a new specie associated with human ehrlichiosis. J Clin Microbiol. 1991; 29:2838-2842. Anderson, B.E.; Greene, C.E.; Jones, D.C., and Dawson, J.E. *Ehrlichia ewingii*, sp. nov., the etiologic agent of canine granulocytic ehrlichiosis. Int J Syst Bacteriol. 1992; 42:299-302.

Anderson, B.E.; Sims, K.G.; Olson, J.G.; Childs, J.E.; Piesman, J.F.; Happ, C.M.; Maupin, G.O., and Johnson, B.J. *Amblyomma americanum*: a potential vector of human ehrlichiosis. Am J Trop Med Hyg. 1993 Aug; 49(2):239-44. 1993; 49(2):239-244.

Anthony, S.J.; Dummer, J.S., and Hunter, E. Human ehrlichiosis in a liver transplant recipient. Transplantation. 1995; 60:879-881.

- Anziani, D.S.; Ewing, S.A., and Barker, R.W. Experimental transmission of a granulocytic form of the tribe *Ehrlichieae* by *Dermacentor variabilis* and *Amblyomma americanum*. *Am J Vet Res.* 1991; 51:929- 931.
- Arraga-Alvarado, C.; Palmar, M.; Parra, O., and Salas, P. Fine structural characterisation of a Rickettsia-like organism in human platelets from patients with symptoms of ehrlichiosis. *J. Med. Microbiol.* 1999; 48(11):991-997.
- Artursson, K.; Gunnarsson, A.; Wikstrom, U.B., and Engvall, E.O. A serological and clinical follow-up in horses with confirmed equine granulocytic ehrlichiosis. *Equine Vet J.* 1999; 31(6):473-477.
- Backer, L.C.; Grindem, C.B., and Hunter, J.L. Biomarkers in pet dogs - a sentinel for humans health effects from environmental pollution. *Proceedings for Health Effects of Hazardous Wastes Symposium.* United States Department of Health and Human Services. 1993; 216.
- Bakken, J.S.; Dumler, J.S.; Chen, S.M.; Eckman, M.R.; Van Etta, L.L., and Walker, D.H. Human granulocytic ehrlichiosis in the upper midwest United States. A new species emerging? *J Am Med Assoc.* 1994; 272:212-218.
- Bakken, J.S.; Krueth, J.; Wilson-Nordskog, C.; Tildes, R.L.; Asanovich, K., and Dumler, J.S. Clinical and laboratory characteristics of human granulocytic ehrlichiosis. *J Am Med Assoc.* 1996; 275:199-205.
- Bakken, J.S and Dumler, J.S. Human granulocytic ehrlichiosis. *Clin Infect Dis.* 2000; 31:554-560.
- Balashov, Y.S. Bloodsucking ticks (*Ixodoidea*): Vectors of diseases of man and animals. *Miscellaneous Publications of the Entomological Society of America.* 1972; 8:161.
- Banerjee, R.; Anguita, J., and Fikrig, E. Granulocytic ehrlichiosis in mice deficient in phagocyte oxidase or inducible nitric oxide synthase. *Infect Immun.* 2000; 68:4361.
- Barlough, J.E.; Reubel, G.H.; Madigan, J.E.; Vredevoe, L.K.; Miller, P.E., and Rikihisa, Y. Detection of *Ehrlichia risticii*, the agent of Potomac horse fever, in freshwater stream snails (Pleuroceridae: *Jugaspp.*) from northern California. *Appl Environ Microbiol.* 1998; 64:2888-2893.
- Bartsch, R.C. and Greene, R.T. Post-therapy antibody titers in dogs with ehrlichiosis: follow-up study on 68 patients treated primarily with tetracycline and/or doxycycline. *J Vet Intern Med.* 1996; 10(4):271-274.
- Batmaz H.; Nevo E.; Waner T.; Senturk S.; Yilmaz Z., and Harrus S. Seroprevalence of *Ehrlichia canis* antibodies among dogs in Turkey. *Vet Rec.* 2001; 148(21):665-666.
- Batungbacal, M.R. Effect of *Cytoecetes phagocytophila* on phagocytosis by neutrophils in sheep. *Vet Med.* 1995; 32:70-76.

- Beaufils, J.P and Legroux, J.P. Présence simultanée d'*Ehrlichia sp* e d'*Hepatozoon canis* dans desgranulocites de chien: a propos de deux cas. Prat.Méd.Chir. Anim. Comp. 1992; 27(1):81-86.
- Bellah, J.R.; Shull, R.M., and Selcer, E.V. *Ehrlichia canis* - related polyarthritis in a dog. J Am Vet MedAssoc. 1986; 189(8):922-923.
- Berenberg, J.F.; Ward, P.A., and Sonenshine, D.E. Tick bite injury: mediation by a complement derivedchemotactic factor. J Immunol.1972; 109:451-456.
- Berton, G.; Yan, S.R.; Fumagalli, L., and Lowell, C.A. Neutrophil activation by adhesion: mechanisms andpathophysiological implications. Int J Clin Lab Res. 1996; 26(3):160-177.
- Bezuidenhout, J.D. Natural transmission of heartwater.Onderstepoort Journal of Veterinary Research.198754:349-351.
- Binnington, K.C. and Kemp, D.H. Role of tick salivary glands in feeding and disease transmission. AdvParasitol. 1980; 18:315.
- Bjorsdorff, A.; Svendenius, L., and Owens, J.H. Feline granulocytic ehrlichiosis-a report of a new clinicalentity and characterization of the infectious agent.J Small Anim Pract. 1999a; 40(1):20-24.
- Bjorsdorff, A.; Berglund, I.; Kristiansen, B.E. ; Soderstrom, C., and Eliasson, I. Variable presentation andcourse in human granulocytic ehrlichiosis: twelve case reports of the new tick -borne zoonosis.Lakartidningen. 1999b; 96:4200-4204.
- Borjesson D.L.; Simon S.I.; Hodzic E.; Ballantyne C.M., and Barthold S.W. Kinetics of CD11b/CD18 upregulationduring infection with the agent of human granulocytic ehrlichiosis in mice. Lab Invest.2002; 82(3):303-311.
- Botros, B.A.M.; Elmolla, M.S.; Salib, A.W.; Calamaio, C.A.; Dasch, G.A., and Arthur, R.R. Canine ehrlichiosis in Egypt: sero-epidemiological survey. Onderstepoort J Vet Res. 1995; 62:41-43.
- Bourdeau, P. The control of ticks in the dog.16th Annual Meeting of the ESVD-ECVD. Helsinki. 1999; 113-116.
- Bourdeau, P. Acaricides: Topical or systemic? 18th ESVD-ECVD Annual Congress; Nice, France. 2002:109-115.
- Bourdoiseau, G.; Bonnefont, C.; Magnol, J.P.; Saint-Andre, I., and Chabanne, L. Lymphocyte subsetabnormalities in canine leishmaniasis. Vet Immunol Immunopathol. 1997; 56(3-4):345-351.
- Breitschwerdt, E.B.; Woody, B.J.; Zerbe, C.A.; De Buysscher, E.V., and Barta, O. Monoclonal gammopathyassociated with naturally occurring canine ehrlichiosis. J Vet Intern Med. 1987; 1(1):2-9.

Breitschwerdt, E.B. The rickettsiosis. En: Textbook of Veterinary Internal Medicine. Diseases of the Dog and Cat. Ettinger SV, Feldman EC (Eds). W.B. Saunders. Philadelphia. 1995; 376-383.

Breitschwerdt, E.B.; Hegarty, B.C., and Hancock, S.I. Sequential evaluation of dogs naturally infected with *Ehrlichia canis*, *Ehrlichia chaffeensis*, *Ehrlichia equi*, *Ehrlichia ewingii*, or *Bartonella vinsonii*. J Clin Microbiol. 1998a; 36(9):2645-2651.

Breitschwerdt, E.B.; Hegarty, B.C., and Hancock, S.I. Doxycycline hyclate treatment of experimental canine ehrlichiosis followed by challenge inoculation with two *Ehrlichia canis* strains. Antimicrob Agents Chemother. 1998b; 42:362-368.

Breitschwerdt, E.B. Ehrlichiosis: a new zoonosis? Compendium (Merial). 2002; 24(1):10-14.

Breitschwerdt, E.B. Canine and feline ehrlichiosis: new developments. 19th Annual Congress of the ESVDECVD. Tenerife, Spain. 2003; 66-71.

Brenner, D.J.; O'Connor, S.P.; Winkler, H.H., and Steigerwalt, A.G. Proposals to unify the genera *Bartonella* and *Rochalimaea*, with descriptions of *Bartonella quintana* comb. nov., *Bartonella vinsonii* comb. nov., *Bartonella henselae* comb. nov., and *Bartonella elizabethae* comb. nov., and to remove the family *Bartonellaceae* from the order *Rickettsiales*. Int J Syst Bacteriol. 1993; 43(4):777-786.

Bressler, C.; Himes, L.C., and Moreau, R.E. Portal vein and aortic thromboses in a Siberian husky with ehrlichiosis and hypothyroidism. J Small Anim Pract. 2003; 44(9):408-410.

Brouqui, P. and Raoult, D. In vitro susceptibility of *Ehrlichia sennetsu* to antibiotics. Antimicrob Agents Chemother. 1990; 34(8):1593-1596.

Brouqui, P. and Raoult, D. In vitro antibiotic susceptibility of the newly recognized agent of ehrlichiosis in humans, *Ehrlichia chaffeensis*. Antimicrob Agents Chemother. 1992; 36(12):2799-2803.

Brouqui, P. and Dumler, J.S. Serologic evidence of human monocytic and granulocytic ehrlichiosis in Israel. Emerg Infect Dis. 2000; 6(3):314-315.

Brown, G.K.; Martin, A.R.; Roberts, T.K., and Aitken, R.J. Detection of *Ehrlichia platys* in dogs in Australia. Aust Vet J. 2001; 79(8):554-558.

Brown, W.C.; Brayton, K.A.; Styer, C.M., and Palmer, G.H. The hypervariable region of *Anaplasma marginale* major surface protein 2 (MSP2) contains multiple immunodominant CD4+ T lymphocyte epitopes that elicit variant-specific proliferative and IFN- γ responses in MSP2 vaccinates. J

Immunol.2003; 170:3790-3798.

Broxmeyer, H.E.; Sherry, B.; Lu, L.; Cooper, S.; Oh, K.O.; Tekamp-Olson, P.; Kwon, B.S., and Cerami, A.
Enhancing and suppressing effects of recombinant murine macrophage inflammatory proteins on colony formation in vitro by bone marrow myeloid progenitor cells. *Blood*. 1990; 76(6):1110-1116.

Bucci, J.B.; Gebhard, D.H.; Childers, T.A.; English, R.V., and Tompkins, W.A.F.
The CD8⁺ cell phenotype mediating antiviral activity in feline immunodeficiency virus-infected cats is characterized by reduced surface expression of the CD8 β chain. *J Infect Dis*. 1998; 178:968-977.

Bucy, P.; Chen, C.L.; Cichak, J.; Losh, V., and Cooper, M. Avian T cells expressing $\gamma\delta$ receptors localize in the splenic sinusoids and the intestinal epithelium. *J Immunol*.1988; 141:2200-2205.

Buhles, W.C.Jr.; Huxsoll, D.L, and Ristic, M. Tropical canine pancytopenia: clinical, hematologic, and serologic responses of dogs to *Ehrlichia canis* infection, tetracycline therapy, and challenge inoculation. *J Infect Dis*. 1974; 130:357-367.

Buhles, Jr.W.C.; Huxsoll, D.L., and Hildebrandt, P.K. Tropical canine pancytopenia: Role of aplastic anaemia in the pathogenesis of severe disease. *J Comp Path*. 1975; 85:85: 511-21, 1975.511-521.

Buller, R.S.; Arens, M., and Hmiel, S.P. *Ehrlichia ewingii*, a newly recognized agent of human ehrlichiosis. *N Engl J Med*. 1999; 341:148-155.

Bunnell, J.E.; Trigiani, E.R.; Srinivas, S.R., and Dumler, J.S. Development and distribution of pathologic lesions are related to immune status and tissue deposition of human granulocytic ehrlichiosis agent infect cells in a murine model system. *J Infect Dis*. 1999; 180(2):546-550.

Buoro, I.B.J.; Kanui, T.I.; Atwell, R.B.; Njenga, K.M., and Gathumbi, P.K.
Polymyositis associated with *Ehrlichia canis* infection in two dogs.*J Small Anim Pract*.1990; 31:624-627.

Burg, J.G.; Neely, D.M.; Williams, N.M., and Knapp, F.W. Retention and attempted mechanical transmission of *Ehrlichia risticii* by *Stomoxys calcitrans*. *Med Vet Entomol*. 1994; 8(1):43-36.

Burghen G.A.; Beisel, W.R.; Walker, J.S.; Nims, R.M.; Huxsoll, D.L., and Hildebrant, P. K. Development

of hypergammaglobulinemia in tropical canine pancytopenia. *Am J Vet Res.* 1971; 32:749-756.

Byrne, K.M; Hong Wook Kim; Chew, B.P; Reinhart, G.A., and Hayek, M.G. A standardized gating technique for the generation of flow cytometry data for normal canine and normal feline blood lymphocytes. *Vet Immunol Immunopathol.* 2000; 73:167-182.

Byrom, B.; Mahan, S.M., and Barbet, A.F. The development of antibody to *Cowdria ruminantium* in mice and its role in heartwater disease. *Rev Elev Med Vet Pays Trop.* 1993; 46(1-2):197-201.

Caldwell, C.W.; Everett, E.D., and McDonald, G. Lymphocytosis of $\gamma\delta$ T cells in human ehrlichiosis. *Am J Clin Pathol.* 1995; 103:761-766.

Calvelli, T.T.; Denny, T.N.; Paxton, H.; Gelman, R., and Kagan, J. Guideline for flow cytometric immunophenotyping: A report from the National Institute of Allergy and Infectious diseases. *Division of Aids.Cytometry.*1993; 14:702-715.

Camus, E. and Barre, N. Epidemiology of heartwater in Guadeloupe and in the Caribbean. *Onderstepoort J Vet Res.* 1987; 54(3):419-426.

Carpenter, C.F.; Gandhi, T.K.; Kong, L.K.; Corey, G.R.; Chen, S.M.; Walker, D.H.; Dumler, J.S.; Breitschwerdt, E.; Hegarty, B., and Sexton, D.J. The incidence of ehrlichial and rickettsial infection in patients with unexplained fever and recent history of tick bite in central North Carolina. *J Infect Dis.* 1999; 180(3):900-903.

Carvalho, E.M.; Johnson, W.D.; Barreto, E.; Marsden, P.D.; Costa, J.L.; Reed, S., and Rocha, H. Cell mediated immunity in American cutaneous and mucosal leishmaniasis. *J Immunol.* 1985; 135(6):4144-4148.

Caswell, J.L; Yage, J.A; Parker, W.M., and Moore, P.F. A prospective study of the immunophenotype and temporal changes in the histologic lesions of canine demodicosis. *Vet Pathol.* 1997; 34:279-287.

Cenini, P.; Berhe, N.; Hailu, A.; McGinnes, K., and Frommel, D. Mononuclear cell subpopulation and

cytokine levels in human visceral leishmaniasis before and after chemotherapy. J Infect Dis. 1993;

168:986-993.

Centers for Disease Control and Prevention. Lyme Disease: United States, 1995. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 1996;45:481-484.

Chabanne, L.; Marcha, T.; Denerolle, P.; Magnol, J.P.; Fournel, P.; Monier, J.C., and Rigal, D. Lymphocyte subset abnormalities in German shepherd dog pyoderma (GSP). Vet Immunol Immunopathol. 1995; 49:189-198.

Chabanne L.; Bonnefont C.; Bernaud J., and Rigal D. Clinical Applications of flow cytometry and cell immunophenotyping to companion animals (dog and cat). Methods Cell Sci. 2000; 22(2-3):199-207.

Chae, J.S.; Pusterla, N.; Johnson, E.; Derock, E.; Lawler, S.P., and Madigan, J.E. Infection of aquatic insects with trematode metacercariae carrying *Ehrlichia risticii*, the cause of Potomac horse fever. J Med Entomol. 2000; 37(4):619-625.

Chae, J. S.; Kim, M. S., and Madigan, J. Detection of *Neorickettsia (Ehrlichia) risticii* in tissues of mice experimentally infected with cercariae of trematodes by in situ hybridization. Vet Microbiol. 2002; 88(3):233-43.

Chang, A.C.; Chang, W.L.; Lin, C.T.; Pan, M.J., and Lee, S.C. Canine infectious cyclic thrombocytopenia found in Taiwan. J Vet Med Sci. 1996 May;58(5):473-6. 1996; 58(2):473-476.

Charley, B. and Blecha, F. Les cytokines: leur rôle dans la régulation du système immunitaire, leur utilisation potentielle chez l'animal. Point Vet. 1991; 23(139):71-77.

Chen, S.M.; Dumler, J.S.; Bakken, J.S., and Walker, D.H. Identification of a granulocytotropic *Ehrlichia* species as the etiologic agent of human disease. J Clin Microbiol. 1994; 32(3):589-595.

Cillari, E.; Liew, F.Y.; Lo Campo, P.; Milano, S.; Mansueto, S., and Salerno, A. Suppression of IL-2 production by cryopreserved peripheral blood mononuclear cells from patients with active visceral leishmaniasis in Sicily. J Immunol. 1988; 140(8):2721-2726.

Codner, E.C.; Roberts, R.E., and Ainsworth, A.G. Atypical findings in 16 cases of canine ehrlichiosis. J Am Vet Med Assoc. 1985; 186(2):166-169.

Codner, E.C. and Farris-Smith, L.L. Characterization of the subclinical phase of ehrlichiosis in dogs. J Am Vet Med Assoc. 1986; 189:47-50.

Codner, E.C. and Maslin, W. Investigation of renal protein loss in dogs with acute experimentally induced *Ehrlichia canis* infection. Am. J. Vet. Res. 1992; 53(3):264-269.

Cohn L.A. Ehrlichiosis and related infections. Vet Clin North Am. Small Anim Pract. 2003; 33:863-884.

Coligan, J.E.; Kruisbeek, A.M.; Margulies, D.H.; Shevach, E.M., and Strober, W. Antibody detection and preparation. En: Current protocols in immunology. 1992. John Wiley and sons. New York, unit 2,4.

Cordero del Campillo, M. Índice-catálogo de zooparásitos ibéricos. Servicio de Publicaciones del Ministerio de Sanidad y Seguridad Social. Madrid. 1980; 489.

Cowell, R.L., Tyler, R.D., and Clinkenberad, K.D. Ehrlichiosis and poliartthritis in three dogs. J Am Vet Med Assoc. 1988; 192(8):1093-1095.

Cruthers, L.; Slone, R., and Arther, R.G. K9 Advantix (imidacloprid plus permethrin) for controlling ticks and mosquitoes on dogs. Compend Contin Educ Pract Vet. 2003; 25(suppl):15-18.

Culmsee, K.; Simon, D.; Mischke, R., and Nolte, I. Possibilities of flow cytometric analysis for immunophenotypic characterization of canine lymphoma. J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med. 2001; 48(4):199-206.

Culmsee, K. and Nolte, I. Flow cytometry and its application in small animal oncology. Methods Cell Sci. 2002; 24(1-3):49-54.

Cupp, E.W. Biology of ticks: Tick-transmitted diseases. Vet Clin North Am. Small Anim Pract. 1991; 21(1):1-26.

Davoust, B.; Parzy, D.; Ott, D., and Hasselot, N. Ehrlichiose canine chronique: intérêt de la numération plaquettaire. Rev Méd Vét. 1991a; 142:287-292.

- Davoust, B.; Parzy, D.; Vidor, E.; Hasselot, N., and Martet, G. Ehrlichiose canine experimentale: étude clinique et thérapeutique. Rev. Méd. Vét. 1991b; 167:33-40.
- Davoust, B. Canine ehrlichiosis. Point Vét. 1993; 25(151):43-51.
- Davoust, B; Marie, J., and Mercier, S. Assay of fipronil efficacy to prevent canine monocytic ehrlichiosis in endemic areas. Vet Parasitol. 2002; 112:91-100.
- Dawson, J.E.; Anderson, B.E.; Fishbein, D.B.; Sánchez, J.L.; Goldsmith, C.S.; Wilson, K.H., and Duntley, C.W. Isolation and characterization of an *Ehrlichia* sp. from a patient diagnosed with human ehrlichiosis. J Clin Microbiol. 1991; 29(2741-2745).
- Dawson, J.E. and Ewing, S.A. Susceptibility of dogs to infection with *Ehrlichia chaffeensis*, causative agent of human ehrlichiosis. Am J Vet Res. 1992; 53(8):1322-1327.
- Dawson, J.E.; Stallknecht, D.E.; Howerth, E.W.; Warner, C.; Biggie, K.; Davidson, W.R. ; Lockhart, J.M.; Nettles, V.F.; Olson, J.G., and Childs, J.E. Susceptibility of white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) to infection with *Ehrlichia chaffeensis*, the etiologic agent of human ehrlichiosis. J Clin Microbiol. 1994; 32(1):2725-2728.
- De Castro, M. B.; Machado, R.Z.; Tomaz de Aquino, L.P.C.; Alessi, A.C., and Costa, M.T. Experimental acute canine monocytic ehrlichiosis: clinicopathological and immunopathological findings. Vet Parasitol. 2004; 119:73-86.
- De Rosa, S.C.; Andrus, J.P.; Perfetto, S.P.; Mantovani, J.J.; Herzenberg, L.A.; Herzenberg, L.A., and Roederer, M. Ontogeny of $\gamma\delta$ T cells in humans. J Immunol. 2004; 172:1637-1645.
- Deem, S.L. A review of heartwater and the threat of introduction of *Cowdria ruminantium* and *Amblyomma* spp. ticks to the American mainland. J Zoo Wild Med. 1998; 29(2):109-113.
- Deitsch, K.W.; Moxon, E.R., and Wellems, T.E. Shared themes of antigenic variation and virulence in bacterial, protozoal and fungal infections. Microbiol Mol Biol Rev. 1997; 61:281.
- Des Vignes, F.; Piesman, J., and Heffernan, R. Effect of tick removal on transmission of *Borrelia burgdorferi* and *Ehrlichia phagocytophila* by *Ixodes scapularis* nymphs. J Infect Dis. 2001; 183:773-778.

Deusch, K.; Luling, F.; Reich, K.; Classen, M.; Wagner, H., and Pfeffer, K. A major fraction of human intraepithelial lymphocytes simultaneously expresses the gamma delta T cell receptor, the CD8 accessory molecule, and preferentially uses the v δ 1 gene segment. *Eur J Immunol.* 1991; 21:1053-1059.

Dib, K. BETA 2 integrin signalling in leukocytes. *Front Biosci.* 2000; 5:438-451.

Dirscherl, P.; Beisker, W.; Kremmer, E.; Mihalkov, A.; Voss, C., and Ziessenis, A. Immunophenotyping of canine bronchoalveolar and peripheral blood lymphocytes. *Vet Immunol Immunopathol.* 1995; 48:1-10.

Donatien, A. and Lestoquard, F. Existence en Algérie d'une *Rickettsia* du chien. *Bull Soc Pathol Exot.* 1935; 28:418-419.

Dumler, J.S.; Asanovich, K.M., and Bakken, J.S. Serologic cross reaction among *Ehrlichia equi*, *Ehrlichia phagocytophila*, and human granulocytic *ehrlichia*. *J Clin Microbiol.* 1995; 33(5):1098-1103.

Dumler J.S; Trigiani E.R.; Bakken J.S.; Agüero-Rosenfeld M.E., and Wormser G.P. Serum cytokine responses during acute human granulocytic ehrlichiosis. *Clin Diagn Lab Immunol.* 2000; 7(1):6-8.

Dumler J.S; Barbet A.F.; Bekker C.P.J.; Dash G.A.; Palmer G.H.; Ray S.C.; Rikihisa Y., and Rurangirwa F.R. Reorganization of genera in the families *Rickettsiaceae* and *Anaplasmataceae* in the order *Rickettsiales*: unification 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.* 2001; 51:2145-2165.

Duque, C.; Parent, J., and Bienzle, D. The immunophenotype of blood and cerebrospinal fluid mononuclear cells in dogs. *J Vet Intern Med.* 2002; 16:714-719.

Dutra, F.; Schuch, L.F.; Delucchi, E.; Curcio, B.R.; Coimbra, H.; Raffi, M.B.; Dellagostin, O., and Riet-Correa, F. Equine monocytic Ehrlichiosis (Potomac horse fever) in horses in Uruguay and southern Brazil. *J Vet Diagn Invest.* 2001; 13(5):433-437.

Elfassy, O.J.; Goodman, F.W.; Levy, S.A., and Carter, L.L. Efficacy of an amitraz-impregnated collar in preventing transmission of *Borrelia burgdorferi* by adult *Ixodes scapularis* to dogs. JAVMA. 2001; 219(2):185-189.

Elias, E. Diagnosis of ehrlichiosis from the presence of inclusion bodies or morulae of *Ehrlichia canis*. J Small Anim Pract. 1991; 33(11):540-543.

Eng, T.R.; Harkess, J.R., and Fishbein, D.B. Epidemiologic, clinical and laboratory findings of human ehrlichiosis in the United States, 1988. 1990; 264:2251-2258.

Engvall, E.O.; Pettersson, B.; Persson, M.; Artursson, K., and Johansson, K.E. A 16S rRNA-based PCR assay for detection and identification of granulocytic *Ehrlichia* species in dogs, horses, and cattle. J Clin Microbiol. 1996. 1996; 34(9):2170-2174.

Estrada-Peña, A. Las garrapatas en España: introducción. Consejería De Sanidad y Bienestar Social. Junta de Castilla y León (Ed). Valladolid. 1994.

Estrada-Peña, A. and Ascher, F. Comparison of an amitraz-impregnated collar with topical administration of fipronil for prevention of experimental and natural infestations by the brown dog tick (*Rhipicephalus sanguineus*). JAVMA. 1999; 214:1799-1803.

Estrada-Peña, A. Distribution, abundance, and habitat preferences of *Ixodes ricinus* in northern Spain. J Med Entomol. 2001; 38(3): 361-70.

Estrada-Peña, A. Importancia de las garrapatas en España. Argos. 2003a; 48:20-22.

Estrada-Peña, A. Las garrapatas del perro y las enfermedades transmitidas en España: una panorámica con aspectos zoonóticos. Ed Virbac; 2003b.

Everett, E.D.; Evans, K.A.; Henry, B., and McDonald, G. Human ehrlichiosis in adults after tick exposure. Ann Intern Med. 1994; 120:730-735.

Ewing, S.A. and Buckner, R.G. Manifestations of babesiosis, ehrlichiosis, and combined infections in the dog. Am J Vet Res. 1965; 26(113):815-828.

Ewing, S.A. Canine ehrlichiosis. Adv Vet Sci Comp Med. 1969; 13:331-353.

Ewing, S.A.; Roberson, W.R.; Buckner, R.G., and Hayat, C.S. A new strain of *Ehrlichia canis*. J Am Vet Med Assoc. 1971; 159(12):1771-1774.

Fahey, J.L.; Prince, H.; Weaver, M.; Groopman, J.; Visscher, B.; Schwartz, K., and Detels, R. Quantitative changes in T helper or T-suppressor/cytotoxic lymphocyte subsets that distinguish acquired immunodeficiency syndrome from other immune subsets disorders. *Am J Med.* 1984; 76:95-100.

Faldyna, M.; Leva, L.; Knotigova, P., and Toman, M. Lymphocyte subsets in peripheral blood of dogs: a flow cytometric study. *Vet Immunol Immunopathol.* 2001; 82(1-2):23-37.

Feng, H.M. and Walker, D.H. Mechanisms of Immunity to *Ehrlichia muris*: a Model of Monocytotropic Ehrlichiosis. *Infect Immun.* 2004; 72(2):966-971.

Fichtenbaum, C.J.; Peterson, L.R., and Weil, G.J. Ehrlichiosis presenting as a life-threatening illness with features of the toxic shock syndrome. *Am J Med.* 1993; 95:351-357.

Fishbein, D.B.; Dawson, J.E., and Robinson, L.E. Human ehrlichiosis in the United States, 1985 to 1990. *Ann Intern Med.* 1994; 120:736-743.

Foley, J.E; Crawford-Miksza, L., and Dumler, J.S. Human granulocytic ehrlichiosis in northern California: two cases description with genetic analysis of the *Ehrlichiae*. *Clin Infect Dis.* 1999; 29:388-392.

Folz, S.D.; Ash, K.A., and Conder, G.A. Amitraz: A tick and flea repellent and tick detachment drug. *J Vet Pharmacol Ther.* 1986; 9:150-156.

Font, A.; Cairó, J., and Callés, A. Ehrlichiosis canina. *Clínica Veterinaria De Pequeños Animales.* 1988; (8):141-148.

Frank, J.R. and Breitschwerdt, E.B. A retrospective study of ehrlichiosis in 62 dogs from North Carolina and Virginia. *J Vet Int Med.* 1999; 13(3):194-201.

Freitas, A.A. and Rocha, B. Population biology of lymphocytes: the flight for survival. *Annu Rev Immunol.* 2000; 18:83-111.

French, T.W. and Harvey, J.W. Serologic diagnosis of infectious cyclic thrombocytopenia in dogs using an indirect fluorescent antibody test. *Am J Vet Res.* 1983; 44:2407-2411.

Fukuda, T. and Yamamoto, S. Neorickettsia-like organism isolated from metacercaria on a fluke, *Stellantchasmus falcatus*. *Jpn J Med Sci Biol.* 1981; 34(2):103-107.

Fuller, L.; Carreno, M.; Esquenazi, V.; Zucker, K.; Zheng, S.; Roth, D.; Burke, G.; Nery, J.; Asthana, D., and Olson, L. Characterization of anti-canine cytokine monoclonal antibodies specific for IFN- γ : effect of anti-IFN- γ on renal transplant rejection. *Tissue Antigens*. 1994; 43:163-169.

Ganta, R.R.; Chuanmin, Ch.; Wilkerson, M.J., and Chapes, S.K. Delayed clearance of *Ehrlichia chaffeensis* infection in CD4 + T-cell knockout mice. *Infect Immun*. 2004; 72 (1):159-167.

Garcia-Perez, A.L.; Barandika, J.; Oporto, B.; Povedano, I., and Juste, R.A. *Anaplasma phagocytophila* as an abortifacient agent in sheep farms from northern Spain. *Ann N Y Acad Sci*. 2003; 990:429-432.

Gardner, S.L.; Holman, R.C.; Krebs, J.W.; Berkelman, R, and Childs, J.E. National surveillance for the human ehrlichiosis in the United States, 1997-2001, and proposed methods for evaluation of data quality. *Ann N Y Acad Sci*. 2003; 990:80-89.

Garris, G.I. Control of ticks. *Vet Clin North Am*. 1991; 21:173-183.

Garrity, G.M.; Winters, M., and Searles, D.B. Taxonomic outline of the procaryotic genera. En *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Second Edition, April. 2001; 6.- 288 –

Gebhard, D.H. and Carter, P.B. Identification of canine T-lymphocyte subsets with monoclonal antibodies. *Vet Immunol Immunopathol*. 1992; 33:187-199.

Gelatt, K.N. Canine anterior uvea. En: *Veterinary Ophthalmology*. Gelatt K.N. (ed). Lea and Febiger. Philadelphia. 1991; 374-375.

Gewirtz, A.; Cornbleet, P., and Vugia, D.J. Human granulocytic ehrlichiosis: report of a case in northern California. *Clin Infect Dis*. 1996; 23:653-654.

Ghorbel, A.; Cadore, J. L.; Clerc, B.; Bouattour, A.; Vidor, E., and Sayn, M.J. Efficiency of oxytetracyclin in dog ehrlichiosis treatment. *Revue Med. Vet*. 1993a; 144(2):109-114.

Ghorbel, A.; Clerc, B.; Cadoré, J.L.; Djaeiim, A., and Sayn, M.J. Ehrlichiosis asymptotique: etude de l'electrophorese des protéines seriques. *Recueil De Médecine Vétérinaire*. 1993b; 169:561-566.

Gil, R.; Mercier, P.; Sánchez, I.; Bled, C; Laugier, S.; Tixier, S., and Ascher, F. Control de la infestación

natural por *Rhipicephalus sanguineus* en un criadero de perros. Proceedings del 33 Congreso Anual de AVEPA. 1998;38.

Gokce, H.I. and Woldehiwet, Z. Lymphocyte responses to mitogens and rickettsial antigens in sheep experimentally infected with *Ehrlichia (Cytoecetes) phagocytophila*. Vet Parasitol. 1999; 83(1):55-64.

Goldman, E.E.; Breitschwerdt, E.B., and Grindem, C.B. Granulocytic ehrlichiosis in dogs from North Carolina and Virginia. J Vet Intern Med. 1998; 12(2):61-70.

González, J. M.; Puig, V.; Collado, E., and Simeón, S. Seroprevalencia de ehrlichiosis canina en la provincia de Valencia. Consulta de Difusión Veterinaria. 2000; 76:67-71

Goodman, T. and Lefrancoi, S.L. Expression of the $\gamma\delta$ T cell receptor on intestinal CD8+ intraepithelial lymphocyte. Nature.1988; 33:855-858.

Goodman, R.A.; Hawkins, E.C.; Olby, N.J; Grindem, C.B.; Hegarty, B., and Breitschwerdt, E.B. Molecular identification of *Ehrlichia ewingii* infection in dogs: 15 cases (1997-2001). J Am Vet Med Assoc . 2003; 222(8):1102-1107.

Gothe, R.; Kunze, K., and Hoogstraal, H.The mechanisms of pathogenicity in the tick paralyses. J Med Entomol.1979; 16:357.

Gould, D.J.; Murphy, K.; Rudorf, H., and Crispin, S.M. Canine monocytic ehrlichiosis presenting as acute blindness 36 months a importation into the UK. J Small Anim Pract. 2000; 68(7):263-265.

Greeley, E.H.; Kealy, R.D.; Ballam, J.M.; Lawler, D.F., and Segre, M. The influence of age on the canine immune system. Vet Immunol Immunopathol. 1996; 55:1-10.

Greene, C.E. and Harvey, J.W. Canine ehrlichiosis. En: Clinical Microbiology and Infectious Diseases of the Dog and Cat. C.E. Greene (Ed). W.B. Saunders. Philadelphia .1984; 704-709.

Greene, C.E.; Burgdorfer, W.; Cavagnolo, R.; Philip, R.N., and Peacock, M.G. Rocky Mountain spotted fever in dogs and its differentiation from canine ehrlichiosis. J Am Vet Med Assoc. 1985; 186(5):465-472.

Greene, R.T. Canine ehrlichiosis: clinical implications for humoral factors. En: Bonagura, J.D., ed. Kirk's Current Veterinary Therapy XII. Small Animal Practice. WB Saunders; 1995; pp. 376-383.

Greig, B.; Asanovich, K.M., and Armstrong, P.J. Geographic, clinical, serologic, and molecular evidence of granulocytic ehrlichiosis, a likely zoonotic disease, in Minnesota and Wisconsin dogs. J Clin Microbiol. 1996; 34(1):44-48.

Gribble, D.H. Equine ehrlichiosis. J Am Vet Med Assoc. 1969; 155(2):462-469.

Grindem, C.B. Blood cell markers. Vet Clin North Am: Small Anim Pract. 1996; 26(5):1043-1064.

Grindem, C.B.; Breitschwerdt, E.B.; Perkins, P.C.; Cullins, L.D.; Thomas, T.J., and Hegarty, B.C. Platelet associated immunoglobulin (antiplatelet antibody) in canine Rocky Mountain spotted fever and ehrlichiosis. J Am Anim Hosp Assoc. 1999; 35(1):56-61.

Groves, M.G.; Dennis, G.L.; Amyx, H.L., and Huxsoll, D.L. Transmission of *Ehrlichia canis* to dogs by ticks (*Rhipicephalus sanguineus*). Am J Vet Res. 1975; 36(7): 937-940.

Guarga, J.L.; Moreno, J.; Lucientes, J.; Gracia, M.J.; Peribáñez, M.A.; Alvar, J., and Castillo, J.A. Canine leishmaniasis transmission: higher infectivity amongst naturally infected dogs to sand flies is associated with lower proportions of T helper cells. Res Vet Science. 2000; 69:249-253.

Guarga, J.L.; Moreno, J.; Lucientes, J.; Gracia, M.J.; Peribáñez, M.A., and Castillo, J.A. Evaluation of a specific immunochemotherapy for the treatment of canine visceral leishmaniasis. Vet Immunol Immunopathol. 2002; 88:13-20.

Guglielmino, R.; Miniscalco, B.; Tarducci, A.; Borgarelli, M.; Riondato, F.; Zini, E.; Borrelli, A., and Bussadori, C. Blood lymphocyte subsets in canine idiopathic pericardial effusion. Vet Immunol Immunopathol. 2004; 98:161-173.

Harkess, J.R.; Ewing, S.A.; Crutcher, J.M.; Kudlac, J.; McKee, G., and Istre, G.R. Human ehrlichiosis in Oklahoma. J Infect Dis. 1989; 159:576-579.

Harkess, J.R. Ehrlichiosis. Infect Dis Clin North Am. 1991; 5:37-51.

Harrus, S.; Waner, T.; Avidar, Y.; Bogin, E.; Peh, H., and Bark, H. Serum protein alterations in canine

ehrlichiosis. *Vet Parasitol.* 1996a; 66(3-4):241-249.

Harrus, S.; Waner, T.; Weiss, D. J.; Keysary, A., and Bark, H. Kinetics of serum antiplatelet antibodies in experimental acute canine ehrlichiosis. *Vet Immunol Immunopathol.* 1996b; 51(1-2):13-20.

Harrus, S.; Aroch, I.; Lavy, E., and Bark, H. Clinical manifestations of infectious canine cyclic thrombocytopenia. *Vet Rec.* 1997; 141(10):247-250.

Harrus, S.; Waner, T., and Aizenberg, I. Amplification of ehrlichial DNA from dogs 34 months after infection with *Ehrlichia canis*. *J Clin Microbiol.* 1998a; 36(1):73-76.

Harrus, S.; Waner, T.; Keysary, A.; Voet, I. H., and Bark, H. Investigation of splenic functions in canine monocytic ehrlichiosis. *Vet Immunol Immunopathol.* 1998b; 62:15-27.

Harrus, S.; Ofri, R.; Aizenberg, I., and Waner, T. Acute blindness associated with monoclonal gammopathy induced by *Ehrlichia canis* infection. *Vet Parasitol.* 1998c; 78(2):155-160.

Harrus, S.; Waner, T.; Bark, H.; Jongejan, F., and Cornelissen, A.W.C.A. Recent advances in determining the pathogenesis of canine monocytic ehrlichiosis. *J Clin Microbiol.* 1999; 37(9):2745-2749.

Harrus, S. ; Day, M.J.; Waner, T., and Bark, H. Presence of immunocomplexes, and absence of antinuclear antibodies in sera of dogs naturally and experimentally infected with *Ehrlichia canis*. 2001; 83Kluwer Academic Publishers.:343-349.

Harrus, S.; Alleman, A.R., and Bark, H.. Comparison of three enzyme-linked immunosorbent assays with the indirect immunofluorescent antibody test for the diagnosis of canine infection with *Ehrlichia canis*. *Vet Microbiol.* 2002; 86(4):361-368.

Harty, J.T.; Tvinnereim, A. R., and White, D.W. CD8+ T cell effector mechanisms in resistance to infection. *Annu Rev Immunol.*2000; 18:275-308.

Harvey, J.W. Canine thrombocytic ehrlichiosis. En: Greene, C.G., ed. *Infectious diseases of the dog and cat* . 2 ed. WB Saunders; 1998; pp. 147-149.

Hayday, A.C. $\gamma\delta$ cells: a right time and a right place for a conserved third way of protection. *Annu Rev Immunol.*2000; 18:975-1026.

Heeb, H.L.; Wilkerson, M.J.; Chun, R., and Ganta, R.R. Large granular lymphocytosis, lymphocyte subset inversion, thrombocytopenia, dysproteinemia, and positive *Ehrlichia* serology in a dog. J Am Anim Hosp Assoc. 2003; 39(4):379-384.

Hein, W.R. and Mackay, C.R. Prominence of $\gamma\delta$ T-cells in the ruminant immune system. Immunol Today. 1991; 12:30-34.

Hernández, A. and Lorente, C. Síndrome cervico-torácico asociado a infección por *Ehrlichia canis*. Proceedings del 38 Congreso de AVEPA. Sevilla. 2003; 321.

Herrero, C.; Pelaz, C.; Alvar, J.; Molina, R.; Vazquez, J.; Anda, P.; Casal, J.; and Martin-Bourgon, C. Evidence of the presence of spotted fever group *Rickettsiae* in dogs and dog ticks of the central provinces in Spain. Eur J Epidemiol. 1992;8(4):575-579.

Hibler, S.C.; Hoskins, J.D., and Greene, C. E. Rickettsial infections in dogs: part II. Ehrlichiosis and infectious cyclic thrombocytopenia. Compend Contin Educ Pract Vet .1986; 106-114.

Hildebrant, P.K; Huxsoll, D.L; Walker, J.S; Nims, R.M; Taylor, R., and Andrews, M. Pathology of canine ehrlichiosis (tropical canine pancytopenia). Am J Vet Res. 1973; 34:1309-1320.
Hill, J.O.; Awwad, M., and North, R.J. Elimination of CD4+ suppressor T cells from susceptible BALB/c mice releases CD8+ T lymphocytes to mediate protective immunity against *Leishmania*. J Exp Med. 1989; 169:1819-1827.

Hodzic, E.; Fish, D.; Maretzki, C.M.; De Silva, A.M.; Feng, S., and Barthold, S.W. Acquisition and transmission of the agent of human granulocytic ehrlichiosis by *Ixodes scapularis* ticks. J Clin Microbiol. 1998; 36(12):3574-3578.

Holland, C.J.; Weiss, E.; Burgdorfer, W.; Cole, A.I., and Kakoma, I. *Ehrlichia risticii* sp. nov.: etiological agent of equine monocytic ehrlichiosis (synonym Potomac horse fever). Int J Syst Bacteriol. 1985a; 35:524-526.

Holland, C.J.; Ristic, M.; Cole, A.I.; Johnson, P.; Baker, G., and Goetz, T. Isolation, experimental transmission, and characterization of causative agent of Potomac horse fever. Science. 1985b; 227:522-524.

- Hoogstraal, H. Tickborne diseases of humans: a history of environmental and epidemiological changes. Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene Symposium Proceedings; 1977.
- Hoogstraal, H. *Argasid* and *Nuttalliellid* ticks as parasites and vectors. *Adv Parasitol.* 1985; 24:135.
- Hoskins, J. D.; Barta, O., and Rothschmitt, J. Serum hyperviscosity syndrome associated with *Ehrlichia canis* infection in a dog. *J Am Vet Med Assoc.* 1983; 183(9):1011-1012.
- Hoskins, J.D. and Cupp, E.W. Ticks of veterinary importance: Part 1. The *Ixodidae* family: Identification, behaviour, and associated diseases. *Compend Contin Educ Pract Vet.* 1988; 10:564.
- Hoskins, J.D. The brown dog tick. *Vet Clin North Am. Small Anim Pract.* 1991; 21(1):99-101.
- Hunter, J.S.I. Efficacy of Frontline spray and Frontline Top Spot. *Compend Contin Educ Pract Vet.* 1997; 19(suppl):15-16.
- Huxsoll, D.L.; Hildebrant, P.K.; Nims, R.M., and Walker, J.S. Tropical canine pancytopenia. *J Am Vet Med Ass.* 1970; 157:1627-1632.
- Huxsoll, D.L.; Williams J.C., and Kakoma I. Ehrlichiosis. Netherlands. Ed: Kluwer Academic Publishers. 1990: 1-8.
- Iqbal, Z.; Chaichanasiriwithaya, W., and Rikihisa, Y. Comparison of PCR with other tests for early diagnosis of canine ehrlichiosis. *J Clin Microbiol.* 1994; 32(7):1658-1662.
- Iqbal, Z. and Rikihisa, Y. Application of the polymerase chain reaction for the detection of *Ehrlichia canis* in tissues of dogs. *Vet Microbiol.* 1994; 42(4):281-287.
- Javed, M.Z.; Srivasta, M.; Zhang, S., and Kandathil, M. Concurrent babesiosis and ehrlichiosis in an elderly host. *Mayo Clin Proc.* 2001; 76(5):563-565.
- Johansson, K.E.; Pettersson, B.; Uhlén, M.; Gunnarsson, A.; Malmqvist, M., and Olsson, E. Identification of the causative agent of granulocytic ehrlichiosis in swedish dogs and horses by direct solid phase sequencing of PCR products from the 16S rRNA gene. *Res Vet Science.* 1995; 58:109-112.
- Jondal, M.; Schirmbeck, R., and Reimann, J. MHC class I-restricted CTL responses to exogenous antigens. *Immunity.* 1996; 5:295-302.
- Juste, R.A.; Scott, G.R.; Paxton, E.A.; Gelabert, J.L., and Jimenez, S. Presence of *Cytoecetes*

phagocytophilin an atypical disease of cattle in Spain. *Vet Record*. 1989; 124:636.

Kakoma, I.; Carson, C.A.; Ristic, M.; Huxsoll, D.L.; Stephenson, E.H., and Nyindo, M.B.A. Autologous Lymphocyte-Mediated Cytotoxicity Against Monocytes in Canine Ehrlichiosis. *Am J Vet Res*. 1977; 38(10):1557-1559

Kakoma, I.; Hansen, R.; Liu, L.; Fedrigon, S., and Bellamy, K. Serologically atypical canine ehrlichiosis associated with *Ehrlichia risticii* "infection". *J Am Vet Med Assoc*. 1991; 199(9):1120.

Kakoma, I.; Hansen, R.D.; Anderson, B.E.; Hanley, T.A.; Sims, K.G.; Liu, L.; Bellamy, C.; Long, M.T., and Baek, B.K. Cultural, molecular and immunological characterization of the etiologic agent for atypical canine ehrlichiosis . *J. Clin. Microbiol* .1994; 32:170-175.

Kakoma, I.; Sainz, A.; Tesouro, M.; Amusatogui, I.; Kim, C.H.; Biggerstaff, J.; McPeak, J., and Levy, M.G. Standardization of the diagnostic criteria for canine ehrlichiosis. Towards universal case definition. *Ann N Y Acad Sci*. 2000; 916:396-403.

Katavolos, P; Armstrong, P.M., and Dawson, J.E. Duration of tick attachment required for transmission of granulocytic ehrlichiosis. *J Infect Dis*. 1998; 177:1422-1425.

Kawahara, M.; Suto, C.; Rikihisa, Y.; Yamamoto, S, and Tsuboi, Y. Characterization of ehrlichial organisms isolated from a wild mouse. *J Clin Microbiol*. 1993; 31(1):89-96.

Kawahara, M.; Ito, T.; Suto, C.; Shibata, S.; Rikihisa, Y.; Hata, K., and Hirai, K. Comparison of *Ehrlichia muris* strains isolated from wild mice and ticks and serologic survey of humans and animals with *E. muris* antigen. *J Clin Microbiol*. 1999; 37(4):1123-1129.

Kaylor, P.S.; Crawford, T.B.; McElwain, T.F., and Palmer, G.H. Passive transfer of antibody to *Ehrlichia risticii* protects mice from ehrlichiosis. *Infect Immun*. 1991; 59(6):2058-2062.

Keefe, T.; Holland, C.; Salyer, P.E., and Ristic, M. Distribution of *Ehrlichia canis* among military working dogs in the world and selected civilian dogs in the United States. *JAVMA*.1982; 181:236-238.

Keenan, C.M.; Hendricks, L.D.; Lightner, L., and Johnson, A.J. Visceral leishmaniasis in the German shepherd dog. II. Pathology. *Vet Pathol*. 1984; 21(1):80-86.

Kelly, P.J.; Carter, S.D.; Bobade, P.A.; Matthewman, L.A., and Bell, S.C. Absence of antinuclear antibodies in dogs infected with *Ehrlichia canis*. Vet Rec. 1994a; 134(15):382.

Kelly, P.J.; Matthewman, L.A.; Mahan, S.M.; Semu, S.; Peter, T.; Mason, P.R.; Brouqui, P., and Raoult, D. Serological evidence for antigenic relationships between *Ehrlichia canis* and *Cowdria ruminantium*. Res Vet Sci. 1994b; 56(2):170-174.

Keren, D.F. History and evolution of surface marker assays. In Keren DF, Hanson, CA, Hartubise PE (Eds): Flow Cytometry and Clinical Diagnosis. Chicago, American Society of Clinical Pathologists . 1994; 1.

Kidd, L. and Breitschwerdt, E.B. Transmission times and prevention of tick-borne diseases in dogs. Compendium. 2003; 25(10):742-751.

Kitron, U. and Kazmierczak, J.J. Spatial analysis of the distribution of Lyme disease in Wisconsin. Am J Epidemiol. 1997; 145:558-566.

Klein, M.B.; Miller, J.S.; Nelson, C.M., and Goodman, J.L. Primary bone marrow progenitors of both granulocytic and monocytic lineages are susceptible to infection with the agent of human granulocytic ehrlichiosis. J Infect Dis. 1997; 176(5):1405-1409.

Klein M.B.; Hu S.; Chao C.G., and Goodman J.L. The agent of human granulocytic ehrlichiosis induces the production of myelosuppressing chemokines without induction of proinflammatory cytokines. J Infect Dis. 2000; 41(6):263-265.

Knapp, W. Antibody-defined surface molecules of normal and malignant hematopoietic cells. In Laerum OD, Bjerknes R (Eds): Flow Cytometry in Hematology. London, Academic Press. 1992; 213.

Kontos, V.I.; Papadopoulos, O., and French, T.W. Natural and experimental canine infections with a Greek strain of *Ehrlichia platys*. Vet Clin Pathol. 1991; 20(4):101-105.

Kontos, V.I. and Athanasiou, L.V. Use of enrofloxacin in the treatment of acute canine ehrlichiosis . Canine Practice. 1998; 23:10-14.

Kopecky, J.; Kuthejllova, M., and Pechova, J. Salivary glands extract from *Ixodes ricinus* ticks inhibits

production of interferon-gamma by the upregulation of interleukin-10. *Parasite Immunol.* 1999; 21(7):351-6.

Kordick, S.K.; Breitschwerdt, E.B.; Hegarty, B.C.; Southwick, K.L.; Hancock, S.I.; Bradley, J.M.; Rumbough, R.; Mcpherson, J.T., and McCormack, N. Coinfection with multiple tick-borne pathogens in a Walker Hound kennel in North Carolina. *J Clin Microbiol.* 1999; 37(8):2631-2368.

Krause, P.J.; Corrow, C.L., and Bakken, J.S. Successful treatment of human granulocytic ehrlichiosis in children using rifampin. *Pediatrics.* 2003; 112(3):252-253.
Kuehn, N.F. and Gaunt, S.D. Clinical and hematologic findings in canine ehrlichiosis. *J Am Vet Med Assoc.* 1985; 186(4):355-358.

Kuttler, K.L. Pharmacotherapeutics of drugs used in treatment of anaplasmosis and babesiosis. *J Am Vet Med Assoc.* 1980; 176(10):1103-1108.

Kuzin, I.I.; Snyder, J.E.; Ugine, G.D.; Wu, D.; Lee, S.; Bushnell, T.Jr; Insel, R.A.; Young, F.M., and Bottaro, A.
A. Tetracyclines inhibit activated B cell function. *Int Immunol.* 2001 ; 13(7):921-31.
B.

Larsen, H. J.; Overnes, G.; Waldeland, H., and Johansen, G.M. Immunosuppression in sheep experimentally infected with *Ehrlichia phagocytophila*. *Res Vet Sci.* 1994; 56(2):216-224.

Lewis, G.E.; Huxsoll, D.L.; Ristic, M., and Johnson, A. J. Experimentally induced infection of dogs, cats, and nonhuman primates with *Ehrlichia equi*, etiologic agent of equine ehrlichiosis. *Am J Vet Res.* 1975; 36(1):85-88.

Lewis, G.E.; Ristic, M.; Smith, R.D.; Lincoln, T., and Stephenson, E.H. The brown dog tick *Rhipicephalus sanguineus* and the dog as experimental hosts of *Ehrlichia canis*. *Am J Vet Res.* 1977; 38(12):1953-1955.

Liew, F.Y. Suppressor cells for cell-mediated immunity in infectious diseases. *Res Immunol.* 1989;140(3):328-333.

Lilliehöök, I.; Egenval, A., and Tvedten, H.W. Hematopathology in dogs experimentally infected with a swedish granulocytic *ehrlichia* species. *Vet Clin Pathol.* 1998; 27(4):116-122.

Lilliehöök, I.; Johannisson, A.; Magnusson, U.; Egenvall, A.; Trowald-Wigh, G., and Hakansson, L.

Granulocyte function in dogs experimentally infected with a Swedish granulocytic *Ehrlichia* species. *Vet Immunol Immunopathol.* 1999; 67:141-152.

Liz, J.S.; Anderes, L.; Sumner, J.W.; Massung, R. F.; Gern, L.; Rutti, B., and Brossard, M. PCR detection of granulocytic *Ehrlichia* in *Ixodes ricinus* ticks and wild small mammals in Western Switzerland. *J Clin Microbiol.* 2000; 38(3):1002-1007.

Loken, M.R.; Brosnan, J.M.; Bach, B.A., and Ault, K.A. Establishing optimal lymphocyte gates for immunophenotyping by flow cytometry. *Cytometry.* 1990; 11:453-459.

Long, M.T.; Goetz, T.E.; Kakoma, I.; Whiteley, H.E.; Lock, T.E.; Holland, C.J.; Foreman, J.H., and Baker, G.J. Evaluation of fetal infection and abortion in pregnant ponies experimentally infected with *Ehrlichia risticii*. *Am J Vet Res.* 1995a; (56):1307-1316.

Long, M.T.; Goetz, T.E.; Whiteley, H.E.; Kakoma, I., and Lock, T.E. Identification of *Ehrlichia risticii* as the causative agent of two equine abortions following natural maternal infection. *J Vet Diagn Invest.* 1995b; 7:201-205.

Lotric-Furlan, S.; Avsic-Zupanc, T.; Petrovec, M.; Nicholson, W.L.; Sumner, J.W.; Childs, J.E., and Strle, F. Clinical and serological follow-up of patients with human granulocytic ehrlichiosis in Slovenia. *Clin Diag Lab Immunol.* 2001; 8(5):899-903.

Loughran, T.J.; Starkebaum, G., and Aprile, J. Rearrangement and expression of T-cell receptor genes in large granular lymphocyte leukemia. *Blood.* 1988; 71:822-824.

Madewell, B.R. and Gribble, D.H. Infection in two dogs with an agent resembling *Ehrlichia equi*. *J Am Vet Med Assoc.* 1982; 180(5):512-514.

Madigan, J.E.; Hietala, S.; Chalmers, S., and DeRock, E. Seroepidemiologic survey of antibodies to *Ehrlichia equi* in horses of northern California. *J Am Vet Med Assoc.* 1990; 196(12):1962-1964

Madigan, J.E. and Pusterla, N. Ehrlichial diseases. *Vet Clin North Am Equine Pract.* 2000; 16(3):487-499.

Madigan, J.E.; Pusterla, N.; Johnson, E.; Chae, J.S.; Pusterla, J.B.; Derock, E., and Lawler, S.P. Transmission of *Ehrlichia risticii*, the agent of Potomac horse fever, using naturally infected aquatic insects and helminth vectors: preliminary report. *Equine Vet J.* 2000; 32:275-279.

Maeda, K.; Markowitz, N.; Hawley, R.C.; Ristic, M; Cox, D., and McDade, J.E.
Human infection with
Ehrlichia canis a leukocytic rickettsia. N Engl J Med. 1987; 853-856.

Magnarelli, L.A. and Anderson, J.F. Serologic evidence of canine and equine
ehrlichiosis in north-eastern
United States. J Clin Microbiol. 1993 . 1993; 31(11):2857-2860.

Magnarelli, L.A.; Ijdo, J.W., and Anderson, J.F. Antibodies to *Ehrlichia equi* in dogs
from the north-eastern
United States. J Am Vet Med Assoc. 1997; 211(9):1134-1137.

Magnarelli, L.A.; Ijdo, J.W.; Anderson, J.F.; Padula, S.J.; Flavell, R.A., and Fikrig,
E. Human exposure to a
granulocytic *ehrlichia* and other tick-borne agents in Connecticut. J. Clin. Microbiol.
1998;36(10):2823-2827.

Magnarelli, L.A.; Van Andel, A.E.; Ijdo, J.W.; Heimer, R., and Fikrig, E. Serologic
testing of horses for
granulocytic ehrlichiosis, using indirect fluorescent antibody staining and
immunoblot analysis. Am
J Vet Res. 1999; 60(5):631-635.

Makinde, M.O. and Bobade, P.A. Osmotic fragility of erythrocytes in clinically
normal dogs and dogs
infected with parasites. Res Vet Sci. 1994; 57(3):343-348.

Manian, F.A.; Weidner, J., and Costello, J. Human ehrlichiosis. Mo Med. 1989;
86:691-695.

Mansueto, S.; D'Ancona, F. P.; Colletti, P.; Graceffa, R.; La Seta, F.; Pecoraro, V.;
Gambino, G.; Grillo, G.;
Vitale, G.; Richiusa, P.; D'Agostino, P., and Cillari, E. Alteration of interleukin-2 (IL-
2) and soluble
IL-2 receptor secretion in the sera and urine of patients with rickettsial
boutonneuse fever. J Infect
Dis. 1997; 175(1):142-145.

Maretzki, C.H.; Fisher, D.J., and Greene, C.E. Granulocytic ehrlichiosis and
meningitis in a dog. J Am Vet
Med Assoc. 1994; 205(11):1554-1556.

Martin, G.S.; Christman, B.W., and Standaert, S.M. Rapidly fatal infection with
Ehrlichia chaffeensis. N
Engl J Med. 1999; 341:763-764.

Martinez-Moreno, A.; Moreno, T.; Martinez-Moreno, F.J.; Acosta, I., and
Hernandez, S. Humoral and cell mediated immunity in natural and experimental
canine leishmaniasis. Vet Immunol Immunopathol.
1995 Oct;48(3-4):209-20.

Marty, A.M.; Dumler, J.S., and Imes, G. Ehrlichiosis mimicking thrombotic thrombocytopenic purpura: case report and pathological correlation. *Hum Pathol.* 1995; 26:920-925.

Massung, R.F.; Owens, J.H.; Ross, D.; Reed, K.D.; Petrovec, M.; Bjoersdorff, A.; Coughlin, R.T.; Beltz, G.A., and Murphy, C.I. Sequence analysis of the ank gene of granulocytic *ehrlichiae*. *J Clin Microbiol.* 2000; 38(8):2917-2922.

Matthewman, L.A.; Kelly, P.J.; Mahan, S.M.; Semu, S.M.; Mason, P.R.; Bruce, D.; Brouqui, P., and Raoult, D. Reactivity of sera collected from dogs in Mutare, Zimbabwe, to antigens of *Ehrlichia canis* and *Cowdria ruminantium*. *Vet Rec.* 1994a; 134(19):498-499.

Matthewman, L.A.; Kelly, P.J.; Brouqui, P., and Raoult, D. Further evidence for the efficacy of imidocarb dipropionate in the treatment of *Ehrlichia canis* infection. *J S Afr Vet Assoc.* 1994b; 65(3):104-107.

Matus, R.E.; Leifer, C.E., and Hurvitz, A.I. Use of plasmapheresis and chemotherapy for treatment of monoclonal gammopathy associated with *Ehrlichia canis* infection in a dog. *J Am Vet Med Assoc.* 1987; 190(10):1302-1304.

McBride, J.W.; Corstvet, R.E.; Gaunt, S.D.; Chinsangaram, J.; Akita, G.Y., and Osburn, B.I. PCR detection of acute *Ehrlichia canis* infection in dogs. *J Vet Diagn Invest.* 1996; 8(4):441-447.

McDevitt, H.O. Discovering the role of the major histocompatibility complex in the immune response. *Annu Rev Immunol.* 2000; 18:1-17.

McDonough, S.P. and Moore P.F. Clinical, hematologic and immunophenotypic characterization of canine granular lymphocytosis. *Vet Pathol.* 2000; 37(6):637-646.

McKoy, J.P.Jr. Basic principles in clinical flow cytometry. In Keren DF, Hanson, CA, Hartubise PE (Eds): *Flow Cytometry and Clinical Diagnosis.* Chicago, American Society of Clinical Pathologists . 1994; 26.

McQuiston, J.H.; Paddock, C.D.; Holman, R.C., and Childs, J.E. Human ehrlichiosis in the United States. *Emerg Infect Dis.* 1999; 5:635-642.

Meinkoth, J.H.; Ewing, S.A.; Cowell, R.L.; Dawson, J.E.; Warner, C.K; Mathew, J.S; Bowles, M; Thiessen,

A.E; Panciera, R.J., and Fox, C. Morphologic and molecular evidence of a dual species ehrlichial infection in a dog presenting with inflammatory central nervous system disease. *J Vet Intern Med.* 1998; 12(5):389-393.

Meinkoth, J.H and Clinkenbeard, D.C. Normal hematology of the dog. En: Schalm's *Veterinary Hematology*, 5th Ed. Feldman BF, Zinkl JG, Jain NC (Eds). Baltimore. 2000.

Mendonca, S.C.; De Luca, P.M.; Mayrink, W.; Restom, T.G.; Conceicao-Silva, F.; Da-Cruz, A.M.; Bertho, A.L.; Da Costa, C.A.; Genaro, O., and Toledo, V.P. Characterization of human T lymphocytemediated immune responses induced by a vaccine against American tegumentary leishmaniasis. *Am J Trop Med Hyg.* 1995; 53(2):195-201.

Messick J.B., and Rikihisa Y. Supression of Ia antigen expression on gamma interferon treated macrophages infected with *Ehrlichia risticii*. *Vet Immunol Immunopathol.* 1992;32(3-4):225-241.

Messick J.B. and Rikihisa Y. Characterization of *Ehrlichia risticii* binding, internalization , and proliferation in host cells by flow cytometry. *Infect Immun.* 1993; 61(9):3803-3810.

Messick J.B. and Rikihisa Y. Inhibition of binding, entry or intracellular proliferation of *Ehrlichia risticii* in P388D1 cells by anti-*E. risticii*serum, immunoglobulin G or Fab fragment. *Infect Immun.* 1994; 62(8):3156-3161.

Misao, T and Kobayashi, Y. Studies on infectious mononucleosis (glandular fever). Isolation of etiologic agent from blood, bone marrow and lymph node of patients with infectious mononucleosis using mice. *Kiushu J Med Sci.* 1955; 6:145-152.

Misao, T. and Kobayashi, Y. Studies on infectious mononucleosis (glandular fever). 1. Isolation of the etiological agent from blood, bone marrow and lymph nodes of a patient infected with infectious mononucleosis by using mice. *Kyushu J. Med. Sci.* 1987; 155:1059-1062.

Moore, P.F; Rossitto, P.V.; Danilenke, D.M.; Wielenga, J.J.; Raff, R.F., and Severns, E. Monoclonal antibodies specific for canine CD4 and CD8 define functional T-lymphocyte subsets and highdensity expression of CD4 by canine neutrophils. *Tissue Antigens* .1992; 40:75-85.

Morais, D.; Dawson, J.E.; Greene, C.; Filipe, A.R.; Galharda, L.C., and Bacellar, F. First european case of ehrlichiosis. *Lancet*. 1991; 338:633-634.

Morales, M.; Mateu, C., and Guitart, P. Seroprevalencia de ehrlichiosis y rickettsiosis. Libro de Resúmenes del XXXV Congreso Nacional de AVEPA. Madrid. 2000.

Moreno, J.A. and Estrada-Peña, A. Prevalence and seasonal activity of *Ixodes ricinus* on domestic ruminants of the Basque country, Spain. *Exp Appl Acarol* . 1997; 21(1):41-48.

Moreno, J.; Nieto, J.; Chamizo, C.; González, F.; Blanco, F.; Barker, D.C., and Alvar, J. The immune response and PBMC subsets in canine visceral leishmaniasis, before and after, chemotherapy. *Vet Immunol Immunopathol*. 1999; 71:181-195.

Moshkovski, S.D. Cytotropic inducers of infection and the classification of the *Rickettsiae* with *Clamydozoa*. *Adv Mod Biol (Moscow)*. 1945; 19:1-44.

Motoi, Y.; Satoh, H.; Inokuma, H.; Kiyuuna, T.; Muramatsu, Y.; Ueno, H., and Morita, C. First detection of *Ehrlichia platys* in dogs and ticks in Okinawa, Japan. *Microbiol Immunol*. 2001; 45(1):89-91.

Moulder, J.W. Interaction of *Chlamydiae* and host cells in vitro. *Microbiol Rev*. 1991; 55(1):143-190.

Murnaghan, M.F. and O'Rourke, F.J. Tick paralysis. In Bettini, S. (ed): *Arthropod Venoms*. New York: Springer-Verlag; 1978; p. 419.

Murphy, G.L; Ewing, S.A.; Whitworth, L.C.; Fox, J.C., and Kocan, A.A. A molecular and serologic survey of *Ehrlichia canis*, *E. chaffeensis* and *E. ewingii* in dogs and ticks from Oklahoma. *Vet Parasitol*. 1998; 79:325-339.

Mylonakis, M.E.; Koutinas, A.F.; Billinis, C.; Leontides, L.S.; Kontos, V.; Papadopoulos, O.; Rallis, T., and Fytianou, A. Evaluation of cytology in the diagnosis of acute canine monocytic ehrlichiosis (*Ehrlichia canis*): a comparison between five methods. *Vet Microbiol*. 2003; 91:197-204.

Müller, I.; Pedrazzini, T.; Kropf, P.; Louis, J., and Milon, G. Establishment of resistance to *Leishmania major* infection in susceptible BALB/c mice requires parasite-specific CD8+ T cells. *Intern Immunol*. 1991; 3:587-597.

Müller, I.; Kropf, P.; Etges, R.J., and Louis, J.A. Gamma interferon response in secondary *Leishmania major* infection: role of CD8+ T cells. *Infect Immun.* 1993; 61(9):3730-3738.

Müller, I.; Kropf, P.; Louis, J.A., and Milon, G. Expansion of gamma interferon-producing CD8+ T cells following secondary infection of mice immune to *Leishmania major*. *Infect Immun.* 1994; 62(6):2575-1581.

Nadelman, R.B.; Horowitz, H.W., and Hsieh, T.C. Simultaneous human granulocytic ehrlichiosis and Lyme borreliosis. *N Engl J Med.* 1997; 337:27-30.

National Committee for Clinical Laboratory Standards. Clinical applications of flow cytometry: Quality assurance and immunophenotyping of peripheral blood lymphocytes; tentative guideline. NCCLS, Villanova PA. Vol 12 No 6.1992; NCCLS Document H42-T.

Neer, T.M. Ehrlichiosis: canine monocytic and granulocytic ehrlichiosis. Greene, G.E., editor. *Infectious diseases of the dog and the cat.* 2 ed. Philadelphia: WB Saunders Co; 1998; pp. 139-149.

Neer, T.M.; Eddlestone, S.M.; Gaunt, S.D., and Corstvet, R.E. Efficacy of enrofloxacin for the treatment of experimentally induced *Ehrlichia canis* infection. *J Vet Intern Med.* 1999; 13(5):501-504.

Neer, T.M.; Breitschewerdt, E.B., and Green, R.T. Consensus statement on ehrlichial disease of small animals from the infectious disease study group of the ACVIM. *J Vet Intern Med.* 2002; 16(3):309-315.

Nims, R.M.; Ferguson, J.A.; Walker, J.S.; Hildebrant, P.K.; Huxsoll, D.L.; Reardon, M.J.; Varley, J.E.; Kolaja, G.J.; Watson, W.T.; Shroyer, E.L.; Elwell, P.A., and Vacura, G.W. Epizootiology of tropical canine pancytopenia in Southeast Asia. *J Am Vet Med Assoc.* 1971; 158:53-63.

Novotney, C.; English, R.V.; Housman, J.; Davidson, M.G.; Nasisse, M.P.; Jeng, C.R.; Davis, W.C., and Tompkins, M.B. Lymphocyte populations changes in cats naturally infected with feline immunodeficiency virus. *AIDS.*1990; 4:1213-1218.

Nyindo, M.; Huxsoll D.L.; Ristic, M.; Kakoma, I.; Brown, J.L; Carson, C.A., and Stephenson, E.H. Cellmediated and humoral immune responses of german shepherd dogs and beagles to experimental infection with *Ehrlichia canis*. *Am J Vet Res.* 1980; 41(2):250-254.

- Nyindo, M.; Kakoma, I., and Hansen, R. Antigenic analysis of four species of the genus *Ehrlichia* by use of protein immunoblot. *Am J Vet Res.* 1991; 52(8):1225-1230.
- Ogunkoya, A.B.; Adeyanju, J.B., and Aliu, Y.O. Experiences with the use of Imizol in treating canine blood parasites in Nigeria. *J Small Anim Pract.* 1981; 22(12):775-777.
- Olano, J.P.; Masters, E.; Hogrefe, W., and Walker, D.H. Human monocytotropic ehrlichiosis, Missouri. *Emerg Infect Dis* . 2003; 9(12):1579-1586.
- Olmeda, S.; Martín, R.; Rupérez, C.; Badiola, C.; Montes, C., and Miró, G. Estudio epidemiológico de las parasitosis de perros abandonados en la provincia de Madrid. Datos preliminares. III: Ectoparasitosis. *Acta Parasitológica Portuguesa.* 1993; 1:218.
- Ostfeld, R. The ecology of Lyme disease risk. *Am Sci.* 1997; 85:338-346.
- Otani, I.; Niwa, T.; Tajima, M.; Ishikawa, A.; Watanabe, T; Tsumagari, S.; Takeishi, M., and Kanayama, K. CD56 is expressed exclusively on CD3+ T lymphocytes in canine peripheral blood. *J Vet Med Sci.* 2002; 64(5):441-444.
- Oteo, J.A.; Blanco, J.R.; Marínez de Atola, V., and Ibarra, V. First report of human granulocytic ehrlichiosis from Southern Europe. *Emerg Infect Dis.* 2000; 6(4):430-432.
- Oteo, J.A.; Gil, H.; Barral, M.; Perez, A.; Jimenez, S.; Blanco, J.R.; Martínez de Artola, V.; García-Pérez, A., and Juste, R.A. Presence of granulocytic *Ehrlichia* in ticks and serological evidence of human infection in La Rioja, Spain. *Epidemiol Infect.* 2001; 127(2):353-358.
- Owens, M.A. and Loken, M.R. Components of flow cytometric Immunophenotyping in : Flow cytometry principles for clinical laboratory practice. 2002; pp. 17-43.
- Paddock, C.D.; Suchard, D.P.; Grunbach, K.L.; Hadley, W.K.; Kerschmann, R.L.; Abbey, N.W.; Dawson, J.E.; Anderson, B.E.; Sims, K.G.; Dumler, J.S., and Herndier, B.G. Brief report: fatal seronegative ehrlichiosis in a patient with HIV infection. *N Engl J Med.* 1993; 1164-1167.
- Paddock, C.D.; Sumner, J.W.; Shore, M.; Bartley, D.C.; Elie, D.C.; Mcquade, J.G.; Martin, C.R.; Goldsmith, C.S., and Childs, J.E. Isolation and characterization of *Ehrlichia chaffeensis* strains from patients with fatal ehrlichiosis. *J Clin Microbiol.* 1997; 35:2496-2502.

Paddock, C.D.; Folk, S.M.; Shore, G.M.; Machado, L.J.; Huycke, M.M.; Slater, L.N.; Liddell, A.M.; Buller, R.S.; Storch, G.A.; Monson, T.P.; Rimland, D.; Sumner, J.W.; Singleton, J.; Bloch, K.C.; Tang, Y.W.; Standaert, S.M., and Childs, J.E. Infections with *Ehrlichia chaffeensis* and *Ehrlichia ewingii* in persons coinfecting with human immunodeficiency virus. Clin Infect Dis. 2001; 33(4):1586-1594.

Paddock, C.D. and Childs, J.E. Ehrlichia chaffeensis: a prototypical emerging pathogen. Clin Microbiol Rev. 2003; 16(1):37-64.

Palmer, J.E. and Benson, C.E. Studies on oral transmission of Potomac horse fever. J Vet Intern Med. 1994; 8(2):87-92.

Pandolfi, F.; Zambello, R.; Cafaro, A., and Semenzato, G. Biologic and clinical heterogeneity of lymphoproliferative diseases of peripheral mature T lymphocytes. Lab Invest. 1992; 67:274-302.

Park, J. and Rikihisa, Y. Inhibition of *Ehrlichia risticii* infection in murine peritoneal macrophages by gamma interferon, a calcium ionophore, and concanavalin A. Infect Immun. 1991; 59(10):3418-3423.

Park, J. and Rikihisa, Y. L-Arginine-dependent killing of intracellular *Ehrlichia risticii* by macrophages treated with γ -interferon. Infect Immun. 1992; 60:3504.

Parola, P.; Beati, L., and Cambon, M. Ehrlichial DNA amplified from *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae) in France. J Med Entomol. 1998; 35(2):180-183.

Parola, P. and Raoult, D. Ticks and tickborne bacterial diseases in humans: an emerging infectious threat. Clin Infect Dis . 2001; 33 (5):749.

Patel, R.G. and Byrd, M.A. Near fatal acute respiratory distress syndrome in a patient with human ehrlichiosis. South Med J . 1999; 92(3):333-335.

Pearce, C.J.; Conrad, M.E.; Nolan, P.E.; Fishbein, D.B., and Dawson, J.E. Ehrlichiosis: a cause of bone marrow hypoplasia in humans. Am J Hematol.1988; 28:53-55.

Pérez, M.; Rikihisa, Y., and Wen, B. *Ehrlichia canis*-like agent isolated from a man in Venezuela: antigenic and genetic characterization. J Clin Microbiol.1996; 34:2133-2139.

Perille, A.L. and Matus, R.E. Canine ehrlichiosis in six dogs with persistently increased antibody titers. J Vet Intern Med. 1991; 5(3):195-198.

Perkocha, L.A. and Rodgers, G.M. Hematologic aspects of human immunodeficiency virus infection: laboratory and clinical considerations. Am J Hematol.1988; 29:94-105.

Perterson, L.R.; Sawyer, L.A.; Fishbein, D.B.; Kelley, P.W.; Thomas, R.J.; Magnarelli, L.A.; Redus, M., and Dawson, J.E. An outbreak of ehrlichiosis in members of an army reserve unit exposed to ticks. J Infect Dis. 1989; 159:562-568.

Petrovec, M.; Lotric Furlan, S., and Avsic Zupanc, T. Human disease in Europe caused by a granulocytic *Ehrlichia* species. J Clin Microbiol.1997; 35:1556-1559. Philip, C.B.; Hadlow, W.J., and Hughes, L.E. *Neorickettsia helminthoeca*, a new rickettsia-like disease agent in dogs in western United States transmitted by an helminth. Riass Commun VI Congr Int Microbiol, Roma. 1953; 2:256-257. Piesman J. and Spielman A. Human babesiosis on Nantucket Island: Prevalence of *Babesia microti* in ticks. Am J Trop Med Hyg. 1980; 29:742-746.

Pinelli, E.; Boog, C.J.P.; Rutten, V.P.M.G. ; Van Dijk, B.; Bernadina, W.E., and Ruitenber, E.J. A canine CD8+ cytotoxic T cell line specific for *Leishmania infantum*-infected macrophages. Tissue Antigens.1994; 43:189-192.

Pinelli, E.; Gonzalo, R.M.; Boog, C.J.P.; Rutten, V.P.M.G.; Bebbard, D.; Del Real, G., and Ruitenber, E.J. *Leishmania infantum*-specific T cell lines derived from asymptomatic dogs that lyse infected macrophages in a major histocompatibility complex-restricted manner. Eur J Immunol. 1995; 25:1594-1600.

Popov, V.L.; Han, V.C.; Chen, S.M.; Dumler, J.S.; Feng, H.M.; Andreadis, T.G.; Tesh, R.B., and Walker, D.H. Ultrastructural differentiation of the genogroups in the genus *Ehrlichia*. J Med Microbiol. 1998; 47:235-251.

Price, J.E.; Sayer, P.D., and Dolan, T.T. Improved clinical approach to the diagnosis of canine ehrlichiosis. Tropical Animal Health and Production in Africa.1987; 19:1-8.

Prieto, M. Estudio sobre la incidencia de garrapatas y piroplasmosis durante 1998. Libro de Resúmenes del XXXIV Congreso Nacional de AVEPA. Barcelona. 1999; 287.

Prieto, M. Aspectos clínicos de la babesiosis canina y de la infección simultánea por *Ehrlichia* y *Borrelia*. Libro de Resúmenes del XXXVIII Congreso Nacional de AVEPA. Sevilla.2003; 285.

Pusterla, N.; Pusterla, J.B.; Deplazes, P.; Wolfensberger, C.; Muller, W.; Horauf, A.; Reusch, C., and Lutz, H. Seroprevalence of *Ehrlichia canis* and of canine granulocytic *Ehrlichia* infection in dogs in Switzerland. J Clin Microbiol. 1998; 36(12):3460-3462.

Pusterla, N.; Leutenegger, C.M.; Huder, J.B.; Weber, R.; Braun, U., and Lutz, H. Evidence of the human granulocytic ehrlichiosis agent in *Ixodes ricinus* ticks in Switzerland. J Clin Microbiol. 1999; 37:1332-1334.

Pusterla, N.; Madigan, J E.; Chae, J.; Derock, E.; Johnson, E., and Pusterla, J.B. Helminthic transmission and isolation of *Ehrlichia risticii*, the causative agent of Potomac horse fever, by using trematode stages from freshwater stream snails. J Clin Microbiol. 2000; 38:1293-1297.

Quiroz, H. Ixódidos. En: Parasitología y Enfermedades Parasitarias de Animales Domésticos. 1984; 767-802.
Rapmund, G. Rickettsial diseases for the Far East: new perspectives. J Infect Dis. 1984; 149:330-338.

Ratnasamy, N.; Everett, E.D.; Roland, W.E.; McDonald, G., and Caldwell, C.W. Central nervous system manifestations of human ehrlichiosis. Clin Infect Dis. 1996; 23(2):314-319.

Raziuddin, S.; Telmasani, A.W.; El-Awad, M.E.; El-Amari, O., and Al-Janadi, M. γδ T cells and the immune response in visceral leishmaniasis. Eur J Immunol. 1992; 22:1143-1148.

Reardon, M.J. and Pierce, K.R. Acute experimental canine ehrlichiosis. Vet. Pathol.1981; 18:48-61.

Reddy, G.R.; Sulsona, C.R.; Barbet, A.F.; Mahan, S.M.; Burrige, M.J., and Alleman, A.R. Molecular characterization of a 28 kDa surface antigen gene family of the tribe *Ehrlichiae*. Biochem Biophys Res Commun. 1998; 247(3):336-343.

Reed, K.D.; Mitchell, P.D.; Persing, D.H.; Kolbert, C.P., and Cameron, V. Transmission of human granulocytic ehrlichiosis. JAMA.1995; 273-283.

Ribeiro, J.M.C.; Makoul, G., and Levine, J. Antihemostatic, antiinflammatory and immunosuppressive properties of the saliva of a tick, *Ixodes damming*. J Exp Med. 1985; 161:332.

Ribeiro, J.M.C. Role of saliva in blood-feeding by arthropods. *Ann Rev Entomol.* 1987; 32 :463.

Richards, S.J. and Scott, C.S. Human NK cells in health and disease: clinical, functional, phenotypic and DNA genotypic characteristics. *Leuk Lymphoma.* 1992; 7:377-399.

Rikihisa, Y.; Perry, B.D., and Cords, D.O. Ultra structural study of ehrlichial organisms in the large colons of ponies infected with Potomac horse fever. *Infect Immun.* 1985; 49(3):505-512.

Rikihisa, Y. The tribe *Ehrlichiae* and ehrlichial diseases. *Clin Microbiol Rev.* 1991; 4:286-308.

Rikihisa, Y.; Stills, H., and Zimmerman, G. Isolation and continuous culture of *Neorickettsia helminthoeca* in a macrophage cell line. *J Clin Microbiol.* 1991; 29(9):1928-1933

Rikihisa, Y.; Ewing, S.A.; Fox, J.C.; Sidebar, A.G.; Ascribe, F.H., and Malone, M.B. Analyses of *Ehrlichia canis* and a canine granulocytic *Ehrlichia* infection. *J Clin Microbiol.* 1992; 30(1):143-148.

Rikihisa, Y. Clinical and biological aspects of infection caused by *Ehrlichia chaffeensis*. *Microbes Infect.* 1999; 1(5):367-376.

Ristic, M.; Huxsoll, D.L.; Weedier, R.M.; Hildebrandt, P.K., and Nyindo, M.B. Serological diagnosis of tropical canine pancytopenia by indirect immunofluorescence. *Infect Immun.* 1972; 6(3):226-231.

Ristic, M. Tick-borne rickettsias of veterinary importance with emphasis on the immunology of the disease.

En: *Tick-Borne Diseases and Their Vectors.* Wilde, J.K.H. (Ed.). Edinburgh University Press. Edinburgh. 1976; 475-481.

Ristic, M.; Huxsoll, D.L.; Tachibana, N., and Rapmund, G. Evidence of a serologic relationship between *Ehrlichia canis* and *Rickettsia sennetsu*. *Am J Trop Med Hyg.* 1981; 30(6):1324-1328.

Ristic, M. and Huxsoll, D.L. Tribe II. *Ehrlichieae* Philip 1957, 948AL. En *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Vol1*, Pp. 704-711. Edited by N.R. Krieg y J.G. Holt. Baltimore: Williams y Wilkins. 1984.

Ristic, M. and Kreier, J.P. Family III. *Anaplasmataceae* Philip 1957, 980AL. En *Bergey's Manual of*

Systematic Bacteriology, Vol1, Pp. 719-729. Edited by N.R. Krieg y J.G. Holt. Baltimore: Williams y Wilkins. 1984.

Ristic, M.; Dawson, J.; Holland, C.J., and Jenny, A. Susceptibility of dogs to infection with *Ehrlichia risticii*, causative agent of equine monocytic ehrlichiosis (Potomac horse fever). Am J Vet Res. 1988; 49(9):1497-1500.

Ristic, M., Williams, J.C. and Kakoma, I. Current strategies in research on ehrlichiosis. Ehrlichiosis. Netherlands: Kluwer Academic Publishers.; 1990; pp. 138-153.

Ristic, M. and Holland, C.J. Canine ehrlichiosis. En: Rickettsial and Chlamydial Diseases of Domestic Animals. Woldehiwet, Ristic (Eds). Pergamon Press, Oxford, United Kingdom. 1993; 169-186.
Rivas, L.R. Functional and phenotypic analysis of in vitro stimulated canine peripheral blood mononuclear cells. Vet Immunol Immunopathol. 1995; 45:55-71.

Rocha, B.; Dautigny, N., and Pereira, P. Peripheral T lymphocytes: expansion potential and homeostatic regulation of pool sizes and CD4/CD8 ratios in vivo. Eur J Immunol. 1989; 19(5):905-911.

Rohrbach, B.W.; Harkess, J.R.; Ewing, S.A.; Kudlac, J.; Mckee, G.L., and Istre, G.R. Epidemiologic and clinical characteristics of persons with serologic evidence of *E. canis* infection. Am J Pub Health. 1990; 80:442-445.

Roitt, I. La base de la inmunología: Inmunidad innata e Inmunidad adquirida específica. En: Inmunología Fundamentos. Ivan Roitt (Eds). Editorial Médica Panamericana. 1998a.; 3-39.

Roitt, I. El reconocimiento de los antígenos: Anticuerpos y Receptores de membrana. En: Inmunología Fundamentos. Ivan Roitt (Eds). Editorial Médica Panamericana. 1998b.

Rosell, A.I. Análisis de la expresión de moléculas de adhesión celular en la leucemia linfática crónica y otros síndromes linfoproliferativos crónicos con expresión leucémica. Tesis Doctoral. Universidad De Valencia (Ed). 2002; 64-65.

Russo, D.M.; Armitage, R.J.; Barral-Netto, M.; Barral, A.; Grabstein, K.H., and Reed, S.G. Antigen-reactive $\gamma\delta$ T cells in human leishmaniasis. J Immunol. 1993; 151:3712-3718.

Sacks, D.L.; Lal, S.L.; Shrivastava, S.N.; Blackwell, J., and Neva, F.A. An analysis of T cell responsiveness in Indian kala-azar. *J Immunol.* 1987; 138(3):908-913.

Sadikot, R.; Shaver, M.J., and Reeves, W.B. *Ehrlichia chaffeensis* in a renal transplant recipient. *Am J Nephrol.* 1999; 19:674-676.

Sagredo, P.; Fraile, C.; Sainz, A.; Rupérez, C.; Tesouro, M., and González, J.L. Skin lesions associated with *Ehrlichia canis* infection in a dog. Proceedings 11th Annual Congress European Society of Veterinary Dermatology. Bordeaux. 1994.

Sainz, A.; Tesouro, M.A.; Rodríguez, F., and Mazzucchelli, F. Seroprevalence of *Ehrlichia canis* infections in police dogs in Spain. *Preventive Vet Med.* 1995; 23:179-182.

Sainz, A. Aspectos clínicos y epizootológicos de la ehrlichiosis canina. Estudio comparado de la eficacia terapéutica de la doxiciclina y el dipropionato de imidocarb. Tesis Doctoral. Universidad Complutense de Madrid (Ed). 1996.

Sainz, A.; Delgado, S.; Amusatogui, I.; Tesouro, M.A., and Cármenes, P. Seroprevalence of canine ehrlichiosis in Castilla-León (NW Spain). *Preventive Veterinary Medicine.* 1996; 29:1-7.

Sainz, A.; Amusatogui, I., and Tesouro, M.A. Canine ehrlichiosis in the Comunidad de Madrid (Central Spain). *Annals of New York Academy of Sciences.* 1998a; 849:438-440.

Sainz, A.; Muñoz, M.C.; Montoya, J.A.; Amusatogui, I., and Tesouro, M.A. Estudio de seroprevalencia de *Ehrlichia canis* en perros de la isla de Gran Canaria (España). IV Symposium Ibérico Sobre *Ixodoidea* y Enfermedades Transmitidas. Setubal (Portugal) 24-26 de Septiembre. 1998b.

Sainz, A.; Kim, C.H.; Tesouro, M.A.; Hansen, R.; Amusatogui, I.; Koo, H.Y., and Kakoma, I. Serological evidence of exposure to *Ehrlichia risticii* in dogs in Spain. Proceedings 5th Conference Society for Tropical Veterinary Medicine. Florida (USA). 1999a.

Sainz, A.; Amusatogui, I, and Tesouro, M.A. *Ehrlichia platys* infection and disease in dogs in Spain. *J Vet Diagn Invest.* 1999b; 11(4):382-384.

Sainz, A.; Amusatogui, I.; Kakoma, I.; Rodríguez, F., and Tesouro, M.A. Estudio sobre la presencia de

anticuerpos frente a diferentes *Ehrlichia spp*, en perros de la zona centro de España. Libro De Ponencias y Comunicaciones. XXXV Congreso Nacional De AVEPA. Madrid 12-15 Octubre. 2000a.

Sainz, A.; Tesouro, M.A.; Hansen, R.; Amusategui, I.; Hyun-Young, K., and Kakoma, I. Serological evidence of exposure to *Ehrlichia* species in dogs in Spain. Ann N Y Acad Sci. 2000b; 916:635-642.

Sainz, A.; Tesouro, M.A., and Amusategui, I. Prospective comparative study of three treatment protocols using doxycycline or imidocarb dipropionate in dogs with naturally occurring ehrlichiosis. J Vet Intern Med . 2000c; 14(2):134-139.

Sainz, A. and Tesouro, M.A. Alteraciones Biopatológicas: Hematología, Bioquímica Sanguínea, Urianálisis. En: Ehrlichiosis. Canis Et Felis. 2001; 51:41-48.

Sakai, M.; Otani, I.; Watari, T.; Sato, T.; Kanayama, K.; Takeuchi, A., and Hasegawa, A. Phenotypic analysis of hepatic lymphocytes from healthy dogs. J Vet Med Sci. 2003; 65(1):157-159.

Sauer, J.R.; Mane, S.D., and Smichmidt, S.P. Molecular basis for salivary fluid secretion in ixodid ticks. In Sauer, J.R, Hair J.A (Eds): Morphology, Physiology and Behavioural Biology of Ticks. Chichester, England, Ellis Horwood. 1986; 55.

Saz, J.V.; Dawson , J.E.; Bacellar, F.; Merino, F.J., and Filipe, A.R. Human ehrlichiosis in Spain. Enferm Infecc Microbiol Clin. 1994; 12(7):357-358.

Scharton, T.M. and Scott, P. Natural killer cells are a source of interferon gamma that drives differentiation of CD4+ T cells subsets and induces early resistance to *Leishmania major* in mice. J Exp Med. 1993; 178.

Schwartz, I.; Fish, D., and Daniels, T.J. Prevalence of the rickettsial agent of human granulocytic ehrlichiosis in ticks from a hyperendemic focus of Lyme disease. N Engl J Med. 1997; 337:49-50.

Scott, C. and Richards, S. Classification of large granular lymphocyte (LGL) and NK-associated (NKa) disorders. Blood Rev. 1992; 6 :220-233.

Scott, D.W.; Miller, W.H., and Griffin, G.E. Small Animal Dermatology. Diagnostic Methods. 6th ed. W.B. Saunders Company; 2001; pp. 93-94.

Sellon, R.K. Update on molecular techniques for diagnostic testing of infectious disease. Vet Clin North Am Small Anim Pract. 2003; 33(4):677-693.
Shanahan, T. Application of flow cytometry in transplantation medicine. Immunological Investigation. 1997; 26:91-101.

Shaw, D.H. and Rubin, S.I. Pharmacologic activity of doxycycline. J Am Vet Med Assoc. 1986; 189(7):808-810.

Shaw, S. Ehrlichiosis and Anaplasmosis. Tijdsch Diergeneeskd. 2003; 128(11):353-354.

Silverstein, A.M. On the naming of *Rickettsiae* after Paul Ehrlich. Bull Hist Med. 1998; 72:731-733.

Simpson, T.M.; Gaunt, S.D.; Hair, J.A.; Kocan, K.M.; Henk, W.G., and Casey, H.W. Evaluation of *Rhipicephalus sanguineus* as a potential biologic vector of *Ehrlichia platys*. Am J Vet Res. 1991; 52(9):1537-1541.

Skotarczak, B. Canine ehrlichiosis. Ann Agric Environ Med. 2003. 2003; 10(2):137-141.

Slappendel, R.J. Canine leishmaniasis. A review based on 95 cases in The Netherlands. Vet Q. 1988; 10(1):1-16.

Sloand, E.M.; Klein, H.G., and Banks, S.M. Epidemiology of thrombocytopenia in HIV infection. Eur J Haematol. 1992; 48:168-172.

Smith, R.D.; Sells, D.M.; Stephenson, E.H.; Ristic, M, and Huxsoll, D.L. Development of *Ehrlichia canis*, causative agent of canine ehrlichiosis, in the tick *Rhipicephalus sanguineus* and its differentiation from a symbiotic *Rickettsia*. Am J Vet Res. 1976; 37(2):119-126.

Smyth, M.J. and Trapini, J.A. Granzymes: exogenous proteinases that induce target cell apoptosis. Immunol Today. 1995; 16:202-206.

Sonea, I.M.; Jergens, A.E; Sacco, R.E.; Niyo, Y.; Merten, E.; Kauffman, L.K, and Moore, P.F. Flow cytometric analysis of colonic and small intestinal mucosal lymphocytes obtained by endoscopic

biopsy in the healthy dog. *Vet Immunol Immunopathol.* 2000; 77:103-119.

Sood, S.; Salzman, M.B., and Johnson, B.J.B. Duration of tick attachment as a predictor of the risk of Lyme disease in an area in which Lyme disease is endemic. *J Infect Dis.* 1997; 175:996-999.

Stewart, C.C. Identification and function of host defense cells by flow cytometry. *Immunological Investigations* .1997; 26:83-89.

Stone, B.F. Tick paralysis, particularly involving *Ixodes holocyclus* and other *Ixodes* species. *Biology of ticks: Harris KF (ed). Current Topics in Vector Research.* New York: Springer Verlag; 1988; p. 61.

Stone, B.F.; Binnington, K.F., and Gauci, M. Tick/host interactions for *Ixodes holocyclus*: Role, effects, biosynthesis and nature of its toxics and allergenic oral secretions. *Experimental and Applied Acarology.* 1989; 7:59.

Stone, M.; Fortin, P.R.; Pacheco-Tena, C., and Inman, R.D. Should tetracycline treatment be used more extensively for rheumatoid arthritis? Metaanalysis demonstrates clinical benefit with reduction in disease activity. *J Rheumatol.* 2003; 30(10):2085-2097.

Suksawat, J.; Pitulle, Ch.; Arraga-Alvarado, C.; Madrigal, K.; Hancock, S.I., and Breitschwerdt, E.B. Coinfection with three *Ehrlichia* species in dogs from Thailand and Venezuela with emphasis on consideration of 16S ribosomal DNA secondary structure. *Journal of Clinical Microbiology.* 2001; 39(1):90-93.

Sumner, J.W.; Nicholson, W.L., and Massung, R.F. PCR amplification and comparison of nucleotide sequences from the *groESL* heat shock operon of *Ehrlichia* species. *J Clin Microbiol.* 1997; 35:2087-2092.

Tarello, W. Canine granulocytic ehrlichiosis (CGE) in Italy. *Acta Vet Hung.* 2003; 51(1):73-90.

Tatchell, R.J. Salivary secretion in the cattle tick as a means of water elimination. *Nature.* 1967; 213:940.

Tatchell, R.J. The ionic regulatory role of the salivary secretions of the cattle tick, *Boophilus microplus* (Canestrini). *Journal of Insect Physiology.* 1969; 15:1421 .

- Tatchell, R.J. and Moorhouse, D.E. Neutrophils: their role in the formation of a tick feeding lesion. *Science*. 1970; 167:1002.
- Taylor, A.W.; Holman, H.H., and Gordon, W.S. Attempts to reproduce the pyaemia associated with tickborne fever. *Vet Rec*. 1941; 24:337-344.
- Telford, S.R.; Dawson, J.E.; Katavolos, P.; Warner, C.K.; Kolbert, C.P., and Persing, D.H. Perpetuation of the agent of human granulocytic ehrlichiosis in a deer tick-rodent cycle. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1996; 93:6209-6214.
- Tesouro, M.A. Aspectos clínicos y laboratoriales de la leishmaniosis canina. Estudio epizootológico en la provincia de Madrid. 1984. Tesis doctoral. Madrid.
- Tesouro, M.A.; Amusatogui, I.; Mazzuchelli, F.; Sainz, A., and Rodriguez, F. Tratamientos actuales. En: Tratamiento de la leishmaniosis canina. Encuesta epizootológica en la Comunidad Autónoma de Madrid, pp. 7-54. Ed. Por Ilustre Colegio Oficial de Veterinarios de Madrid, Madrid 28009, 1995
- Tesouro, M.A.; Amusatogui, I.; Rodríguez, F.; Alonso, A.; Miró, G., and Sainz, A. Detección de anticuerpos frente a *E. canis* en sangre de gatos de la zona centro de España (Madrid). *Proceedings IV SISIET*. Setúbal (Portugal). 1998.
- Tesouro, M.A. and Sainz, A. Profilaxis, Ehrlichiosis canina en España. *Canis Et Felis*. 2001; 51:65-71.
- Theiler, A. *Anaplasma marginale* (gen. and spec. nov.). The marginal points in the blood of cattle suffering from a specific disease. In Report to the Government, Transvaal, South Africa. *Veterinary Bacteriology, Dept of Agriculture* 1908-1909. 1910; 7-64.
- Theis, J.H. and Budwiser, P.D. *Rhipicephalus sanguineus*: sequential histopathology at the host-arthropod interface. *Exp Parasitol*. 1997; 36(1):77-105.
- Titus, R.G.; Ceredig, R.; Cerottini, J.C., and Louis, J.A. Therapeutic effect of anti-L3T4+ monoclonal antibody GK1-5 on cutaneous leishmaniasis in genetically-susceptible BALB/c mice. *J Immunol*. 1985; 135:2108-2114.
- Tompkins, M.B.; Nelson, P.D., and English, R.V. Early events in the immunopathogenesis of feline

- retroviral infections. J Am Vet Med Assoc. 1991; 199:1311-1313.
- Troy, G.C.; Vulganot, J.C., and Turnwalt, G.H. Canine ehrlichiosis: a retrospective study of 30 naturally occurring cases. J Am Anim Hosp Assoc. 1980; 16:181-187.
- Troy, G.C. and Forrester, S.D. *Ehrlichia canis*, *E. equi*, and *E. risticii* infections. En: Infectious Diseases of the Dog and Cat. C.E. Greene (Ed.). W.B. Saunders. Philadelphia. 1990; 404-414.
- Tyzzar, E.E. *Cytoecetes microti* n. gen. n.sp. A parasite developing in granulocytes and infection in small rodents. Parasitology. 1938; 30:242-257.
- Uhaa, I.J.; McLean, J.D.; Greene, C.R., and Fishbein, D.B. A case of human ehrlichiosis adquired in Mali: clinical and laboratoey findings. Am J Trop Med Hyg. 1992; 46:161-164.
- Uilenberg, G.; Dobbelaere, D.A.; de Gee, A.L., and Koch, H.T. Progress in research on tick-borne diseases: theileriosis and heartwater. Vet Q. 1993; 15(2):48-54.
- Unver, A.; Perez, M.; Orellana, N.; Huang, H., and Rkihisa, Y. Molecular and antigenic comparison of *Ehrlichia canis* isolates from dogs, ticks and a human in Venezuela. J Clin Microbiol. 2001; 39(8):2788-2793.
- Van der Kolk, J.H; Van der Wijden, M.W., and Jongejan, F. Equine granulocytic ehrlichiosis (EGE), a review. Tijdschr Diergeneeskd. 1993; 118(7):227-229.
- Van Dobbenburgh, A.; Van Dam, A.P., and Fikrig, E. Human granulocytic ehrlichiosis in western Europe. N Engl J Med. 1999; 340:1214-1216.
- Van Heerden, J. and Immelman, A. The use of doxycycline in the treatment of canine ehrlichiosis. J S Afr Vet Assoc. 1979; 50(4):241-244.
- Van Heerden, J. and Van Heerden, A. Attempted treatment of canine ehrlichiosis with imidocarb dipropionate. J S Afr Vet Assoc. 1981; 52(3):173-175.
- Vugia, D.J. and Kramer, V.L. A human case of monocytic ehrlichiosis with adult respiratory distress syndrome in northern California. West J Med. 1996; 164(6):525-528.
- Waddle, J.R. and Littman, M.P. A retrospective study of 27 cases of naturally occurring canine ehrlichiosis. J Am Anim Hosp Assoc. 1988; 24:615-620.

- Walker, J.B. and Olwage, A. The tick vectors of *Cowdria ruminantium* (*Ixodoidea*, *Ixodidae*, genus *Amblyomma*) and their distribution. Onderstepoort J Vet Res. 1987; 54(3):353-379.
- Waner, T.; Harrus, S.; Weiss, D.J.; Bark, H., and Keysary, A. Demonstration of serum antiplatelet antibodies in experimental acute canine ehrlichiosis. Vet Immunol Immunopathol. 1995; 48(1-2):177-182.
- Waner, T.; Rosner, M.; Harrus, S.; Naveh, A.; Zass, R., and Keysary, A. Detection of ehrlichial antigen in plasma of beagle dogs with experimental acute *Ehrlichia canis* infection. Vet Parasitol. 1996; 63(3-4):331-335.
- Waner, T.; Leykin, I.; Shinitsky, M.; Sharabani, E.; Buch, H.; Keysary, A.; Bark, H., and Harrus, S. Detection of platelet-bound antibodies in beagle dogs after artificial infection with *Ehrlichia canis*. Vet Immunol Immunopathol. 2000a; 77:145-150.
- Waner, T.; Strenger, C., and Keysary, A. Comparison of a clinic-based ELISA test kit with the immunofluorescence test for the assay of *Ehrlichia canis* antibodies in dogs. J Vet Diagn Invest. 2000b; 12(3):240-244.
- Waner, T.; Harrus, S.; Jongejan, F.; Bark, H.; Keysary, A., and Cornelissen, A.W. Significance of serological testing for ehrlichial diseases in dogs with special emphasis on the diagnosis of canine monocytic ehrlichiosis caused by *Ehrlichia canis*. Vet Parasitol. 2001; 95(1):1-15.
- Weaver, R.A.; Virella, G., and Weaver, A. Ehrlichiosis with severe pulmonary manifestations despite early treatment. South Med J. 1999; 92(3):336-339.
- Weisburg, W.G.; Barns, S.M.; Pelletier, D.A., and Lane, D.J. 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. J Bacteriol. 1991; 173(2):697-703.
- Weiser, M.G.; Thrall, M.A., and Fulton, R. Granular lymphocytosis and hyperproteinemia in dogs with chronic ehrlichiosis. J Am Anim Hosp Assoc. 1991; 27:84-88.
- Weisiger, R.M.; Ristic, M., and Huxsoll, D.L. Kinetics of antibody response to *Ehrlichia canis* assayed by indirect fluorescent antibody method. Am J Vet Res. 1975; 36(5):689-694.
- Weiss, D.J. Evaluation of monoclonal antibodies for identifications of subpopulations myeloid cells in bone

marrow obtained from dogs. Am J Vet Res. 2001a; 62(8):1229-1233.

Weiss, D.J. Evaluation of proliferative disorders in canine bone marrow by use of flow cytometric scatter plots and monoclonal antibodies. Vet Pathol. 2001b; 38(5):512-518.

Weiss, D.J. Flow cytometric and immunophenotypic evaluation of acute lymphocytic leukemia in dog bone marrow. J Vet Intern Med. 2001c; 15:589-594.

Weiss, D.J. Use of monoclonal antibodies to refine flow cytometric differential counting of canine bone marrow cells. Am J Vet Res. 2001d; 62(8):1273-1278.

Weiss, D.J. Flow cytometric evaluation of hemophagocytic disorders in canine. Vet Clin Pathol. 2002; 31(1):36-41.

Wellman, M.; Couto, C.; Starkey, R., and Rojko, J. Lymphocytosis of large granular lymphocytes in three dogs. Vet Pathol. 1989; 26:158-163.

Wells, M.Y. and Rikihisa, Y. Lack of lysosomal fusion with phagosomes containing *Ehrlichia risticii* in P388D1 cells: abrogation of inhibition with oxytetracycline. Infect Immun. 1988 Dec;56(12):3209-3215.

Wen, B.; Rikihisa, Y.; Mott, J.; Fuerst, P.A.; Kawahara, M., and Suto, C. *Ehrlichia muris* sp. nov. identified on the basis of 16S rRNA base sequences and serological, morphological, and biological characteristics. Int J Syst Bacteriol. 1995; 45:250-254.
Wen, B.; Cao, W., and Pan, H. *Ehrlichiae* and ehrlichial diseases in China. Ann N Y Acad Sci. 2003; 990:45-53.

Whist, S.K.; Storset, A.K., and Larsen, H.J.S. Functions of neutrophils in sheep experimentally infected with *Ehrlichia phagocytophila*. Vet Immunol Immunopathol. 2002; 86(3-4):183-193.

Whist, S.K.; Storset, A.K.; Johansen, G.M., and Larsen, H.J. Modulation of leukocyte populations and immune responses in sheep experimentally infected with *Anaplasma* (formerly *Ehrlichia*) *phagocytophilum*. Vet Immunol Immunopathol. 2003; 94(3-4):163-175.

Williams, D.L. Studies of canine leucocyte antigens: a significant advance in canine immunology. Vet J. 1997; 153:31-39.

Williams, N.M.; Cross, R.J., and Timoney, P.J. Respiratory burst activity associated with phagocytosis of *Ehrlichia risticii* by mouse peritoneal macrophages. Res Vet Science. 1994; 57(2):194-199.

Williams, R.C.; Koste, F.T., and Kilpatrick, K.A. Alterations in lymphocyte cell surface markers during various human infections. Am J Med. 1983; 75:807-810.

Wiltrout, R.H. Regulation and antimetastatic functions of liver-associated natural killer cells. Immunol Rev. 2000; 174:63-76.

Winnicka, A.; Jagielski, D.; Hoffmann-Jagielska, M., and Lechowski, R. Cytometric evaluation of peripheral blood lymphocytes in dogs with lymphoma during chemotherapy. J Vet Med. 2002; 49:303-306.

Winslow, G.M.; Yager, E.; Shilo, K.; Volk, E.; Reilly, A., and Chu, F.K. Antibody-mediated elimination of the obligate intracellular bacterial pathogen *Ehrlichia chaffeensis* during active infection. Infect Immun. 2000; 2187-2195

Woese, C.R.; Kandler, O., and Wheelis, M.L. Towards a natural system of organisms: proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eucarya. Proc Natl Acad Sci U S A. 1990; 87(12):4576-4579.

Woldehiwet, Z. and Scott, G.R. Tick-borne fever: leucocyte migration inhibition. Vet Microbiol. 1982a; 7(5):437-445.

Woldehiwet, Z. and Scott, G.R. Immunological studies on tick-borne fever in sheep. J Comp Pathol. 1982b; 92(3):457-467.

Woldehiwet, Z. Depression of lymphocyte response to mitogens in sheep infected with tick-borne fever. J Comp Pathol. 1987; 97(6):637-643.

Woldehiwet Z. Lymphocyte subpopulations in peripheral blood of sheep experimentally infected with tickborne fever. Research in Veterinary Science. 1991; 51(1):40-43.

Wolf, L.; McPherson, T.; Harrison, B.; Engber, B.; Anderson, A., and Whitt, P. Prevalence of *Ehrlichia ewingii* in *Amblyomma americanum* in North Carolina. J Clin Microbiol. 2000; 38:2795.

Wong, S.J. and Thomas, J.A. Cytoplasmic, Nuclear and platelet autoantibodies in human granulocytic ehrlichiosis patients. J Clin Microbiol. 1998; 1959-1963.

Woody, B.J and Hoskins, J.D .Ehrlichial diseases of dogs. Vet Clin North Am. Small Anim Pract. 1991; 21(1):75-98.

Young, D.R.; Davis, W., and Arther, R.G. Evaluation of K9 Advantix versus Frontline Plus topical treatments to repel brown dog ticks (*Rhipicephalus sanguineus*) on dogs. Compend Contin Educ Pract Vet. 2003; 25 (supl):19-21.

Yu, X.; McBride, J.W.; Diaz, C.M., and Walke,r D.H. Molecular cloning and characterization of the 120-kilodalton protein gene of *Ehrlichia canis* and application of the recombinant 120-kilodalton protein for serodiagnosis of canine ehrlichiosis. J Clin Microbiol. 2000; 38(1):369-374.

Zhang, Y.; Ohashi, N.; Lee, E.H.; Tamura, A., and Rikihisa, Y. *Ehrlichia sennetsu* groE operon and antigenic properties of the GroEL homolog. FEMS Immunol Med Microbiol. 1997; 18:39-46.