

Síndrome do eutireoideo doente e alterações nos hormônios tireoidianos em cães com hemoparasitoses

Euthyroid Sick Syndrome and Changes in Thyroid Hormones in Dogs with Hemoparasitosis

Cinthy Brillante Cardinot¹, Caio Vaz Baqui Lima², Joaquim Gasparini dos Santos³, Gabriela Porfírio Passos⁴,
Letícia Gracielle Tôres de Miranda Estevam⁵, Rodrigo dos Santos Horta⁶, Camila Barbosa Amaral⁷,
Júlia Angélica Gonçalves da Silveira⁶, Jefferson Filgueira Alcindo¹ & Paulo Ricardo de Oliveira Paes⁶

ABSTRACT

Background: Hemoparasitoses are extremely important in the clinical routine because they affect a large number of dogs. In spite of the abundance of studies on this topic, hormonal alterations caused by infection with these agents are still poorly known. Therefore, the goal of this work was to assess the serum levels of thyroid hormones of dogs infected with *Ehrlichia canis* (*E. canis*) alone, and dogs infected with *E. canis* and *Babesia canis vogeli* (*B. vogeli*) and/or *Anaplasma platys* (*A. platys*) before and after treatment with doxycycline chlorohydrate. This study also aimed at checking for presence of euthyroid sick syndrome (ESS) in these animals.

Materials, Methods & Results: The concentrations of the thyroid hormones total triiodothyronine (TT3), total tetraiodothyronine (TT4), free tetraiodothyronine (FT4), and canine thyroid-stimulating hormone (cTSH) were assessed by chemiluminescence in 12 dogs. Nested polymerase chain reaction (nPCR) was used to confirm diagnoses. The dogs were divided into 2 groups: G1, which comprised animals infected by *E. canis* alone, and G2, which included animals simultaneously infected by *E. canis* and *B. vogeli* and/or *A. platys*. The serum concentrations of the thyroid hormones were measured at two time points: before (D1) and after (D2) the 28-day treatment with generic doxycycline chlorohydrate (DC) at a dose of 10 mg/kg SID. On D2, another nPCR was carried out to check the efficacy of the treatment. On D2, in both groups, all dogs became negative for *E. canis*; however, 8 animals remained infected or were reinfected by other hemoparasites. On D1, 4 dogs in G1 exhibited low TT3 in conjunction with low TT4; one of the dogs had increased TT3 alone, and another dog had an increased TT3 accompanied by decreased TT4. In G2, on D1, one dog exhibited high TT3 accompanied by a decreased concentration of TT4; 2 dogs had decreased TT4; 2 dogs had increased TT3; and one dog had both TT3 and TT4 decreased. On D2, with only one exception, the animals in G1 that became negative for all hemoparasites under study exhibited normal serum levels of TT3 and TT4. Three dogs in G1, which were reinfected on D2, sustained decreased TT4 serum concentrations. Whereas, in G1 on D2, only one dog remained with a reduced serum TT4 concentration.

Discussion: DC was effective at eliminating infection by *E. canis* in all dogs on D2. Even though this drug was unable to prevent reinfection of the animals by other hemoparasites, and in spite of divergent results on its efficacy at eliminating babesiosis and anaplasmosis, a clinical improvement was observed in all patients. A decrease in the serum concentrations of thyroid hormones (ESS) may occur in dogs with severe non-thyroid related diseases. Different authors have demonstrated the presence of ESS in dogs with hemoparasitoses; however, this is the first study to provide evidence on the existence of this syndrome in dogs with hemoparasitoses in Brazil, including dogs simultaneously infected by *E. canis* and *B. vogeli* and/or *A. platys*. We observed a reduction in TT3 and/or TT4 in dogs infected by *E. canis*, *B. vogeli*, and *A. platys*. We believe these results may help assessment of prognosis and patient follow-up, as TT4 concentrations returned to normal levels in all dogs that became negative for all hemoparasites after treatment; and only one dog in G1 sustained increased TT3, albeit lower than observed on D1. In animals of G1 that were reinfected after treatment started, TT3 returned to normal, even though TT4 levels remained decreased. In sum, all dogs in G1 and G2 exhibited TT3 and/or TT4 concentrations outside of the reference value ranges on D1, which indicates that alterations in the levels of thyroid hormones were due to infection by the hemoparasites. The animals infected by *E. canis* alone or simultaneously infected by *B. vogeli* and/or *A. platys* exhibited ESS.

Keywords: *Ehrlichia canis*, thyroid, hemoparasites, hormones.

Descritores: *Ehrlichia canis*, tireoide, hemoparasitas, hormônios.

DOI: 10.22456/1679-9216.111432

Received: 12 January 2021

Accepted: 10 March 2021

Published: 24 April 2021

¹Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), Juiz de Fora, MG, Brazil. ²M.V. Autônomo, Vila Velha, ES, Brazil. ³Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), Alegre, ES. ⁴M.V. Autônoma, Salvador, BA, Brazil. ⁵Fundação Oswaldo Cruz - Instituto René Rachou (FIOCRUZ), Belo Horizonte, MG. ⁶Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte. ⁷Universidade Federal Fluminense (UFF), Niterói, RJ, Brazil. CORRESPONDENCE: C.B. Cardinot [cinthyabri@gmail.com]. Clínica Veterinária de Ensino - UFJF. Rua Capitão Arnaldo de Carvalho n. 135. CEP 36036-180 Juiz de Fora, MG, Brazil.

INTRODUÇÃO

As hemoparasitoses são doenças altamente incidentes na clínica médica, onde a *Ehrlichia canis* (*E. canis*) e a *Babesia canis vogeli* (*B. vogeli*) são respectivamente os principais agentes etiológicos da erliquiose e babesiose caninas no Brasil [14,22], já o agente causador da anaplasmose mais comumente relatado é o *Anaplasma platys* (*A. platys*) [18].

Nas doenças não tireoidianas, a transformação de T4T em T3T nas células, pode encontrar-se diminuída, resultando numa baixa concentração plasmática de T3T [6]. A síndrome observada em cães que se apresentam com valores dos hormônios tireoidianos diminuídos, apesar da glândula tireoide manter-se funcional, é denominada Síndrome do Eutireoideo Doente (SED) [10]. Em humanos, a presença da SED está fortemente relacionada ao aumento da mortalidade, pois reflete o agravamento da doença devido ao processo de degradação do estado clínico do paciente [15].

Embora existam poucas descrições da SED em animais com hemoparasitoses, esta já foi relatada em cães com *B. canis* [25], *Babesia canis rossi* (*B. rossi*) [16] e *E. canis*, mono ou coinfectados com *Babesia gibsoni* (*B. gibsoni*) [8]. Entretanto, não há relatos sobre a coinfeção da *E. canis* com *A. platys* e/ou *B. canis vogeli* levar à síndrome. O presente estudo propôs verificar a presença das alterações hormonais tireoidianas em cães mono infectados com *E. canis* e coinfectados com *E. canis* + *B. vogeli* e/ou *A. platys*, antes e depois do tratamento com cloridrato de doxiciclina, além de verificar a existência da SED nestes animais.

MATERIAIS E MÉTODOS

Critérios de inclusão

Foram incluídos no presente estudo 12 cães maiores de 1 ano de idade, independentes de raça e sexo, manifestando pelo menos 3 critérios compatíveis com erliquiose canina [12] e que depois de testados para *E. canis*, *A. platys* e *B. vogeli* por meio da técnica molecular nested PCR (nPCR) foram considerados positivos. Os animais que apresentavam sinais clínicos compatíveis com hipotireoidismo, [17] foram excluídos. Após a análise molecular, os cães foram divididos em 2 grupos, onde, no grupo 1 (G1) foram alocados 6 cães com monoinfecção por *E. canis* e no grupo 2 (G2) 6 cães coinfectados com *E. canis* + *A. platys* e/ou *B. vogeli*.

Tratamento

Todos os animais do G1 e do G2 receberam cloridrato de doxiciclina genérica¹ [10 mg/kg SID por 28 dias] como droga única, por ser considerado o protocolo padrão para o tratamento da erliquiose canina [12] e por se tratar de um fármaco que pode atuar nas outras hemoparasitoses deste estudo. Os cães foram avaliados no tempo D1 (antes do tratamento) e no tempo D2 (depois de 28 dias de tratamento).

Coleta de amostras

Foram obtidos aproximadamente 6,0 mL de sangue a partir da punção da veia jugular e/ou cefálica com prévia assepsia do local. Uma parte do sangue foi armazenada e congelada em microtubos contendo EDTA a 10% para a realização da técnica molecular e outra parte foi armazenada em tubos sem anticoagulante, do qual se obteve o soro após a centrifugação, para a realização da análise hormonal. As coletas das amostras sanguíneas foram realizadas em D1 e D2.

Diagnóstico molecular

O DNA foi extraído a partir de 300 µL de sangue de cada cão, com o Kit de extração Wizard Genomic DNA Purification Kit^{®2}, de acordo com as recomendações do fabricante. A PCR foi realizada pelas técnicas convencional e nestedPCR (nPCR). Utilizou-se uma alíquota do primeiro produto de PCR amplificado para a segunda reação de nPCR. Os iniciadores foram utilizados para detectar *Babesia* spp. e membros da família Anaplasmataceae que infectam monócitos, granulócitos e plaquetas, conforme descrito por autores anteriormente [2].

Os produtos da amplificação da PCR foram separados por eletroforese em gel de agarose a 1% (40 min, 100 V), corados com GelRedTM^{®3} e visualizados sob luz ultravioleta. As amostras positivas foram purificadas com o kit QIAquick PCR Purification^{®4} conforme o fabricante e sequenciadas com o Applied Biosystems modelo ABI3130^{®5} e o Applied Biosystems BigDye[®] Direct Cycle Sequencing Kit (v.3.1)⁵, com o uso do polímero POP-7TM como matriz de separação, assim como os primers utilizados na reação de PCR. As sequências foram alinhadas, editadas e analisadas utilizando o programa MEGA⁶ [19]. A identidade de cada sequência foi confirmada por comparação com as sequências disponíveis no GenBank com auxílio do software BLAST^{®6}.

Hormônios tireoidianos

As concentrações séricas dos hormônios tireoidianos triiodotironina (T3T), tetraidotironina (T4T), tetraidotironina livre (T4L) e hormônio estimulante da tireoide canina (TSHc) foram determinadas antes (D1) e 28 dias após o início do tratamento com doxiciclina (D2). As concentrações de T3T, T4T e T4L, foram mensuradas por quimioluminescência em ensaio competitivo Immulite® 2000 Human⁷, já as concentrações séricas de TSHc foram mensuradas pela técnica de quimioluminescência Immulite® 2000 Canine TSHc⁷. As amostras de soro foram inicialmente armazenadas a -20°C em microtubos, e transportadas em gelo seco, para o local de análise, onde foram armazenadas a -80°C até posterior mensuração. Valores de T3T, T4T, T4L e TSHc, foram comparados com intervalos de referência do laboratório (T3T: 0.45-1.10 ng/mL; T4T: 1.2-4.0 µ/dL; T4L: 0.50-1.60 ng/dL; TSHc: 0.04-0.40 ng/mL). Todos os ensaios foram validados para utilização em cães. Os padrões, amostras e controles foram realizados em duplicata.

Análise estatística

Todos os dados obtidos foram analisados de forma descritiva com frequências percentuais.

RESULTADOS

Observou-se no presente estudo que todos os 12 cães estavam infectados com *Ehrlichia canis* antes do início do tratamento com doxiciclina (Tabela 1). Desses, 6 animais pertencentes ao G1 apresentavam monoinfecção e os outros 6 animais, que constituíam o G2, apresentaram-se coinfectados [3 por *E. canis* + *B. vogeli*; 2 por *E. canis* + *A. platys* e 1 por *E. canis* + *A. platys* + *B. vogeli*].

Após o tratamento (D2), todos os 12 cães tornaram-se negativos, pela nested PCR, para *E. canis*. Entretanto, do grupo G2 - 3 permaneceram com suas coinfeções e do grupo G1 - 5 se infectaram por hemoparasitas anteriormente não detectados no D1

Dos animais do grupo G1, no tempo D2 - 3 não se encontravam positivos para qualquer agente, entretanto, 3 se reinfectaram com outros hemoparasitas (2 positivos para *A. platys* e 1 para *A. platys* + *B. vogeli*). No G2, no tempo D2, somente um 1 cão negativou para todos os patógenos.

Quanto aos hormônios tireoidianos no D1, 4 cães do G1 apresentaram valores reduzidos para o hormônio T3T associado à diminuição do T4T, 1 cão com

aumento somente do T3T e 1 cão com aumento de TT3 associado à diminuição do TT4.

No tempo D2: os 3 cães do G1 que negativaram para todos os hemoparasitas, retornaram com os valores hormonais de T4T para normalidade e os outros 3 cães, que se reinfectaram com outros hemoparasitas, apresentaram valores desse hormônio reduzidos. Em relação aos valores de T3T, apenas 1 cão manteve a elevação nos níveis, embora menor que em D1.

No G2: 1 cão apresentou valores do hormônio T3T elevado associado a T4T reduzido no D1; 2 cães demonstraram somente valores de T4T diminuído; 2 revelaram valores somente de T3T aumentados; e 1 com T3T e T4T diminuídos. O grupo G2 no D2, somente 1 cão manteve os valores de T4T reduzidos.

DISCUSSÃO

O medicamento cloridrato de doxiciclina, na dose utilizada foi efetivo para negatar a infecção por *Ehrlichia canis* após os 28 dias de tratamento e os resultados encontrados foram considerados semelhantes aos descritos anteriormente [5]. A doxiciclina é a droga de escolha na rotina da clínica médica e atuou conforme esperado, por outro lado, como evidenciado neste estudo, o medicamento não atuou com eficácia integral no tratamento da anaplasmose canina. A droga além de não promover a erradicação do patógeno nos pacientes, não impediu que esses fossem infectados no decorrer do estudo. Os resultados sugerem que o referido tratamento pode não ser eficaz para o tratamento de *A. platys* ou aventar a possibilidade da existência de cepas resistentes ao fármaco. Em estudo realizado na Europa, foi observada falha na melhora clínica e laboratorial de cães com anaplasmose apesar da instituição do tratamento adequado [1].

Somente 1 cão do G2 negativou para os diferentes hemoparasitas testados neste estudo após o tratamento. Isso pode ter ocorrido pela ação do antibiótico ou, ainda, pela influência desse na migração dos parasitos da circulação periférica para os órgãos linfoides do hospedeiro, os quais não foram avaliados no presente estudo. A capacidade dos animais desenvolverem autocura, comprovada através da recuperação de cães infectados com *E. canis* sem tratamento médico, já foi reportada, podendo também ter sido uma possibilidade neste estudo [8]. Essa afirmação também poderia ser considerada para casos de cães infectados com *A. platys* e *B. vogeli*, entretanto, são necessários mais estudos para a confirmação desta correlação.

Tabela 1. Resultados dos hormônios tireoidianos e dos hemoparasitas presentes nos cães dos grupos mono infectados e co infectados antes e após o tratamento com cloridrato de doxiciclina.

		Mono infectados (Grupo 1)								
		Antes do tratamento - D1				Após o tratamento - D2				
Cão	Hemoparasita*	TSH (ng/mL)	T3T (ng/mL)	T4L (ng/mL)	T4T (µ/dL)	Hemoparasita	TSH (ng/mL)	T3T (ng/mL)	T4L (ng/mL)	T4T (ng/mL)
1	<i>E. canis</i>	0.35	2.94	0.53	0.79	Negativo	0.25	2.42	0.69	1.72
2	<i>E. canis</i>	0.4	0.34	0.59	0.66	Negativo	0.08	0.59	0.99	1.82
3	<i>E. canis</i>	0.09	1.44	1.03	2.31	Negativo	0.05	0.74	0.86	1.44
4	<i>E. canis</i>	0.2	0.35	0.69	1.04	<i>B. vogeli</i> ; <i>A. platys</i>	0.09	0.57	0.65	0.99
5	<i>E. canis</i>	0.4	0.4	0.5	0.5	<i>A. platys</i>	0.25	0.53	0.61	0.71
6	<i>E. canis</i>	0.09	0.15	0.65	0.63	<i>A. platys</i>	0.05	0.55	0.62	1.00
		Co infectados (Grupo 2)								
		Antes do tratamento - D1				Após o tratamento - D2				
Cão	Hemoparasita*	TSH (ng/mL)	T3T (ng/mL)	T4L (ng/mL)	T4T (µ/dL)	Hemoparasita	TSH (ng/mL)	T3T (ng/mL)	T4L (ng/mL)	T4T (ng/mL)
7	<i>E. canis</i> ; <i>B. vogeli</i> ; <i>A. platys</i>	0.22	1.22	0.63	1.09	Negativo	0.22	0.93	0.87	1.20
8	<i>E. canis</i> ; <i>B. vogeli</i>	0.09	0.68	0.87	0.81	<i>B. vogeli</i> ; <i>A. platys</i>	0.05	0.74	1.01	2.21
9	<i>E. canis</i> ; <i>B. vogeli</i>	0.22	2.28	0.74	1.54	<i>B. vogeli</i>	0.04	0.62	1.03	2.92
10	<i>E. canis</i> ; <i>B. vogeli</i>	0.40	0.27	0.61	0.32	<i>B. vogeli</i>	0.08	0.67	1.12	0.98
11	<i>E. canis</i> ; <i>A. platys</i>	0.06	1.21	1.11	2.98	<i>B. vogeli</i> ; <i>A. platys</i>	0.08	0.54	1.03	1.96
12	<i>E. canis</i> ; <i>A. platys</i>	0.22	0.52	0.68	0.81	<i>A. platys</i>	0.05	0.63	0.82	1.38
Valores de referência**		0.04-0.40	0.45-1.10	0.50-1.60	1.2-4.0		0.04-0.40	0.45-1.10	0.50-1.60	1.2-4.0

**Ehrlichia canis*, *Babesia vogeli* e *Anaplasma platys*; **Fonte: Laboratório de Análises Clínicas Hermes Pardini - Divisão Veterinária, Belo Horizonte, MG, Brazil.

Os resultados demonstram que a doxiciclina não foi efetiva na eliminação da babesiose canina e corroboram pesquisa anterior [21], que demonstrou que o efeito bacteriostático não foi efetivo no controle deste hemoparasita. Entretanto, nossos achados divergem de outra pesquisa [13], que concluiu que o fármaco foi efetivo em negatizar cães com babesiose mono ou co infectados com *E. canis*.

Todos os cães permaneceram vivos durante o período de acompanhamento e foi observada uma evidente melhora clínica independente da manutenção da infecção por outros hemoparasitas ou dos episódios de reinfeção durante o tratamento.

A melhora do quadro clínico pode ser atribuída à atividade imunoestimulante da doxiciclina, comprovada pelo aumento de linfócitos B CD21+ em cães com ou sem erliquiose tratados com esse quimioterápico [20,23]. Outra hipótese seria atribuir esta melhora

à negatização da presença da *E. canis* nos animais tratados, pois este patógeno é considerado como um hemoparasita que pode culminar em alterações fisiológicas graves e levar ao óbito [3].

No decorrer do estudo pode-se observar uma alta taxa de reinfeção, que pode ter ocorrido, devido a não utilização de fármacos carrapaticidas nestes cães, mantendo-se presente os vetores destes agentes, ou devido à falha na detecção pelos testes utilizados no D1, ou ainda ou pelo período de incubação no qual os hemoparasitas se encontravam.

Um dos cães do G1 manteve-se com valores elevados de T3T, no D2, entretanto com valores menores que os observados no D1 acredita-se que os valores hormonais retornariam aos de referência caso o acompanhamento ocorresse por um maior período.

A redução dos valores de T3T e/ou T4T associada à ausência de sinais clínicos compatíveis com

hipotireoidismo [17], assim como a não utilização de fármacos que sabidamente diminuem os valores dos hormônios tireoidianos [10] retratam a presença da SED nos animais com hemoparasitose.

Apesar da SED já ter sido relatada em cães infectados por *B. rossi* [16], *B. canis* [25] e *E. canis*, em associação ou não com *B. gibsoni* [7], este estudo demonstra pela primeira vez a presença de SED em cães com *E. canis* coinfectados com *A. platys* e/ou *B. vogeli*. Foi possível ainda demonstrar a presença de alterações hormonais nos pacientes caninos infectados com hemoparasitas.

Sabe-se que a gravidade das hemoparasitoses é considerada como um fator importante na redução das concentrações de hormônios da tireoide e que a SED pode ocorrer em cães com doença grave não tireoidiana, além disso, a extensão da redução das concentrações séricas de T3T pode estar correlacionada com a mortalidade [4]. O não retorno à normalidade dos valores hormonais de 5 animais de ambos os grupos (n=12) pode estar relacionado ao alto grau de reinfecção dos mesmos durante o estudo.

A demonstração da SED é de fato, como outros autores já aventaram [11], mais comum em cães do que se reconhecia anteriormente. A diminuição dos hormônios da tireoide em cães hemoparasitados pode representar uma adaptação por parte do animal com a finalidade de reduzir o metabolismo celular durante o período da doença [7]. Em humanos, a SED pode levar à diminuição dos níveis hormonais da tireoide em pacientes doentes, na ausência de disfunção primária hipotálamo-hipófise-tireoide, com valores reduzidos de T3T e normais de TSH [24], de forma similar ao que ocorreu com os cães hemoparasitados.

Desta forma os resultados encontrados neste estudo nos permitem afirmar que grande parte dos animais avaliados tinham valores dos hormônios tireoidianos diminuídos, o que caracteriza a apresentação da SED em cães hemoparasitados.

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos através das análises dos hormônios tireoidianos de cães hemoparasitados nos permitem concluir que os mesmos, podem apresentar valores fora do padrão de referência durante a infecção.

Animais infectados por *Ehrlichia canis* isoladamente ou em associação com *Babesia vogeli* e/ou *Anaplasma platys* podem apresentar a síndrome do eutireoideo doente. Novos estudos devem ser estimulados, para que se avalie a correlação entre a diminuição dos hormônios tireoidianos e o prognóstico da doença em cães com hemoparasitas.

MANUFACTURERS

¹EMS S.A. Hortolândia, SP, Brazil.

²Promega Corporation. Madison, WI, USA.

³Biotium Inc. Fremont, CA, USA.

⁴Qiagen Biotecnologia Brasil Ltda. São Paulo, SP, Brazil.

⁵Life Technologies. Carlsbad, CA, USA.

⁶National Center for Biotechnology Information. Bethesda, MD, USA.

⁷Siemens Healthcare Diagnostics. Deerfield, IL, USA.

Ethical approval. This study was approved by the Animal Experimentation Ethics Committee (CEUA) of the Federal University of Espírito Santo (UFES), ES, Brazil, under protocol number 047/2015.

Declaration of interest. The authors report no conflicts of interest. The authors alone are responsible for the content of the paper.

REFERENCES

- Bouzouraa T., René-Martellet M., Chêne J., Attipa C., Lebert I., Chalvet-Monfray K., Cadoré J.L., Halos L. & Chabanne L. 2016.** Clinical and laboratory features of canine *Anaplasma platys* infection in 32 naturally infected dogs in the Mediterranean basin. *Ticks and Tick-Borne Diseases*. 7(6): 1256-1264. DOI: 10.1016/j.ttbdis.2016.07.004
- Da Silveira J.A.G., Rabelo É.M.L. & Ribeiro M.F.B. 2011.** Detection of Theileria and Babesia in brown brocket deer (*Mazama gouazoubira*) and marsh deer (*Blastocerus dichotomus*) in the State of Minas Gerais, Brazil. *Veterinary Parasitology*. 177(1-2): 61-66. DOI: 10.1016/j.vetpar.2010.10.044
- Dantas-Torres F., Silva Y.Y., Miranda D.E.O., Sales K.G.S., Figueredo L.A. & Otranto D. 2018.** *Ehrlichia* spp. infection in rural dogs from remote indigenous villages in north-eastern Brazil. *Parasites and Vectors*. 11(1): 139. DOI: 10.1186/s13071-018-2738-3
- Elliott D.A., King L.G. & Zerbe C.A. 1995.** Thyroid Hormone Concentrations In Critically Ill Canine Intensive Care Patients. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*. 5(1): 17-23. DOI: 10.1111/j.1476-4431.1995.tb00023.x
- Gaunt S.D., Beall M.J., Stillman B.A., Lorentzen L., Diniz P.P.V.P., Chandrashekar R. & Breitschwerdt E.B. 2010.** Experimental infection and co-infection of dogs with *Anaplasma platys* and *Ehrlichia canis*: Hematologic, serologic and molecular findings. *Parasites and Vectors*. 3(1): 33. DOI: 10.1186/1756-3305-3-33

- 6 Hari Kumar K.V.S., Pawah A. & Manrai M. 2016. Occult endocrine dysfunction in patients with cirrhosis of liver. *Journal of Family Medicine and Primary Care*. 5(3): 576. DOI: 10.4103/2249-4863.197293
- 7 Harrus S., Waner T., Aizenberg I., Foley J.E., Poland A.M. & Bark H. 1998. Amplification of ehrlichial DNA from dogs 34 months after infection with *Ehrlichia canis*. *Journal of Clinical Microbiology*. 36(1): 73-76. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9431923>
- 8 Hennemann G. & Krenning E.P. 2007. The kinetics of thyroid hormone transporters and their role in non-thyroidal illness and starvation. *Best Practice and Research in Clinical Endocrinology and Metabolism*. 21(2): 323-338. DOI: 10.1016/j.beem.2007.03.007
- 9 Kumar A., Varshney J.P. & Varshney V.P. 2006. Endocrine dysfunction in chronic severe ehrlichiosis with or without babesiosis in dogs. *Veterinary Research Communications*. 30(8): 911-916. DOI: 10.1007/s11259-006-3403-4
- 10 Mooney C.T. 2011. Canine hypothyroidism: A review of aetiology and diagnosis Canine hypothyroidism: A review of aetiology and diagnosis. *New Zealand Veterinary Journal*. 59(3): 105-114. DOI: 10.1080/00480169.2011.563729
- 11 Mooney C.T., Shiel R.E. & Dixon R.M. 2008. Thyroid hormone abnormalities and outcome in dogs with non-thyroidal illness. *Journal of Small Animal Practice*. 49(1): 11-16. DOI: 10.1111/j.1748-5827.2007.00418.x
- 12 Neer T.M., Breitschwerdt E.B. Greene R.T. & Lappin M.R. 2002. Consensus statement on ehrlichial disease of small animals from the infectious disease study group of the ACVIM. *American College of Veterinary Internal Medicine. Journal of Veterinary Internal Medicine*. 16(3): 309-315. DOI: 10.1111/j.1939-1676.2002.tb02374.x
- 13 Niwetpathomwat A. 2006. A retrospective study of the therapeutic efficacy of doxycycline on concurrent canine ehrlichiosis and babesiosis in a veterinary hospital population. *Comparative Clinical Pathology*. 15(4): 215-219. DOI: 10.1007/s00580-006-0654-y
- 14 Passos L.M.F., Geiger S.M., Ribeiro M.F.B., Pfister K. & Zahler-Rinder M. 2005. First molecular detection of *Babesia vogeli* in dogs from Brazil. *Veterinary Parasitology*. 127(1): 81-85. DOI: 10.1016/j.vetpar.2004.07.028
- 15 Plikat K., Langgartner J., Buettner R., Bollheimer L.C., Woenckhaus U., Schölmerich J. & Wrede C.E. 2007. Frequency and outcome of patients with nonthyroidal illness syndrome in a medical intensive care unit. *Metabolism: Clinical and Experimental*. 56(2): 239-244. DOI: 10.1016/j.metabol.2006.09.020
- 16 Schoeman J.P., Rees P. & Herrtage M.E. 2007. Endocrine predictors of mortality in canine babesiosis caused by *Babesia canis rossi*. *Veterinary Parasitology*. 148(2): 75-82. DOI: 10.1016/j.vetpar.2007.06.010
- 17 Scott-Moncrieff J.C. 2007. Clinical Signs and Concurrent Diseases of Hypothyroidism in Dogs and Cats. *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice*. 37(4): 709-722. DOI: 10.1016/j.cvsm.2007.03.003
- 18 Soares R., Ramos C.A., Pedroso T., Babo-Terra V., Cleveland H. & Araújo F. 2017. Molecular survey of *Anaplasma platys* and *Ehrlichia canis* in dogs from Campo grande, Mato Grosso do Sul, Brazil. *Anais Da Academia Brasileira de Ciências*. 89(1): 301-306. DOI: 10.1590/0001-3765201720150556
- 19 Tamura K., Stecher G., Peterson D., Filipinski A. & Kumar S. 2013. MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*. 30(12): 2725-2729. DOI: 10.1093/molbev/mst197
- 20 Tosta C.E. 1983. Modificação da resposta imune por agentes quimioterápicos. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 16(1): 3-5.
- 21 Vercammen F., De Deken R. & Maes L. 1996. Prophylactic treatment of experimental canine babesiosis (*Babesia canis*) with doxycycline. *Veterinary Parasitology*. 66(3-4): 251-255. DOI: 10.1016/s0304-4017(96)01016-3
- 22 Vieira R.F.C., Biondo A.W., Guimarães A.M.S., Santos A.P., Santos R.P., Dutra L.H., Diniz P.P.V.P., De Moraes H.A., Messick J.B., Labruna M.B. & Vidotto O. 2011. Ehrlichiosis in Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*. 20(1): 1-12. DOI: 10.1590/s1984-29612011000100002
- 23 Villaescusa A., García-Sancho M., Rodríguez-Franco F., Tesouro M. & Sainz T. 2015. Effects of doxycycline on haematology, blood chemistry and peripheral blood lymphocyte subsets of healthy dogs and dogs naturally infected with *Ehrlichia canis*. *Veterinary Journal*. 204(3): 263-268. DOI: 10.1016/j.tvjl.2015.03.031
- 24 Wajner S.M. & Maia A.L. 2012. New Insights toward the Acute Non-Thyroidal Illness Syndrome. *Frontiers in Endocrinology*. 12(3): 1-7. DOI: 10.3389/fendo.2012.00008
- 25 Zygnier W., Gójska-Zygnier O., Baska P. & Długosz E. 2015. Low T3 syndrome in canine babesiosis associated with increased serum IL-6 concentration and azotaemia. *Veterinary Parasitology*. 211(1-2): 23-27. DOI: 10.1016/j.vetpar.2015.04.023