

Detección de casos positivos a *Ehrlichia* spp., *Anaplasma platys* y *Leishmania* spp., en perros, identificados en la División Laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de Asunción

Detection of positive cases of *Ehrlichia* spp., *Anaplasma platys* y *Leishmania* spp., in dogs detected at the Biotechnology Laboratory Division of the Faculty of Veterinary Sciences, National University of Asuncion

Ingrid Paloma Florentín Ibarra^{1*}, Alba María Araujo Oviedo¹, Guillermo Giménez Bareiro¹, María de Lourdes Quiñónez Narváez¹, María Inés Rodríguez Acosta¹, Olga Lorena Núñez Yegros^{1*}

¹Universidad Nacional de Asunción. Facultad de Ciencias Veterinarias. San Lorenzo, Paraguay.



10.57201/ieuna2413321

Sección: Artículo original

*Autor correspondiente:
iflorentinibarra@gmail.com,
lnunez@vet.una.py

Editor de área:

Andrea Alejandra Arrúa Alvarenga
, Universidad Nacional de Asunción.

Editor invitado:

Guillermo Enciso , Centro de Desarrollo e Innovación Tecnológica (CEDIT)

Recibido:

19 de abril de 2023

Aceptado:

2 de junio de 2023

Recibido en versión modificada:

20 de junio de 2023

Este es un artículo publicado en acceso abierto bajo una Licencia Creative Commons "CC BY

4.0".

Declaración de conflicto: Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

e-ISSN 2709-0817

Como citar: Florentín Ibarra, I. P., Núñez Yegros, O. L., Araujo Oviedo, A. M., Giménez Bareiro, G., Quiñónez Narváez, M. L., Rodríguez Acosta, M. I. y Núñez Yegros, O. L. (2024). Detección de casos positivos a *Ehrlichia* spp., *Anaplasma platys* y *Leishmania* spp., en perros, identificados en la División Laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de Asunción. *Revista investigaciones y estudios – UNA*, 15(1), 38-47.

Resumen. La presente investigación tuvo como objetivo detectar casos positivos de 3 especies de hemopatógenos, a partir de los registros de 300 muestras de perros, sin distinción de raza, sexo y edad procedentes del área metropolitana de Asunción, empleando la técnica PCR convencional (cPCR), para la detección de *Ehrlichia* spp. y *Anaplasma platys* a partir de sangre entera y *Leishmania* spp. en sangre entera y aspirado medular; además de suero sanguíneo para la detección de anticuerpos para *Leishmania* spp. y *Ehrlichia* spp. utilizando test inmunocromatográfico, procesadas por la División Laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de Asunción durante el primer semestre del 2021. De las 300 muestras analizadas, 66 fueron positivas para al menos un hemopatógeno. La detección de casos positivos, según tipo de microorganismo identificado fue, para *Leishmania* spp. del 13 %, *Ehrlichia* spp. del 9 % y *Anaplasma platys* del 0 %. En cuanto al tipo de muestras analizadas, empleando cPCR o inmunocromatografía indistintamente, los casos positivos fueron mayoritariamente a través de sangre entera 15 %, seguida por suero sanguíneo 6 % y finalmente aspirado medular 3 %. Por último, fueron registradas 27 razas, de las cuales la mestiza presentó mayor número de positivos a hemoparásitos (40/66). Los hallazgos encontrados a partir del presente trabajo aportan datos relevantes para el conocimiento de la presencia de hemoparásitos en caninos del área metropolitana y su distribución.

Palabras clave: leishmania, ehrlichia, anaplasma, perro.

Abstract. The objective of this investigation was to detect positive cases of 3 species of hemopathogens, from the records of 300 dog samples, without distinction of breed, sex and age from the metropolitan area of Asunción, using the conventional PCR (cPCR) technique. for the detection of *Ehrlichia* spp. and *Anaplasma platys* from whole blood and *Leishmania* spp. in whole blood and spinal aspirate; in addition to blood serum for the detection of antibodies to *Leishmania* spp. and *Ehrlichia* spp. using immunochromatographic tests, processed by the Biotechnology Laboratory Division of the Faculty of Veterinary Sciences of the National University of Asunción during the first semester of 2021. Out of the 300 records analyzed, 66 were positive for at least one hemoparasite. The detection of positive cases, according to the type of microorganism identified, was for *Leishmania* spp. 13%, *Ehrlichia* spp. 9% and *Anaplasma platys* 0%. Regarding the type of samples analyzed, using cPCR or immunochromatography interchangeably, positive cases were mostly through whole blood 15%, followed by blood serum 6% and finally bone marrow aspirate 3%. Finally, 27 breeds were recorded, of which the mixed breed had the highest number of positive results for hemoparasites (40/66). The findings from this study provide relevant data for understanding the presence and distribution of hemoparasites in canines in the metropolitan area.

Keywords: leishmania, ehrlichia, anaplasma, dog.

Introducción

Actualmente, la tenencia de animales de compañía se ha incrementado considerablemente, debido a que ofrecen múltiples beneficios para los integrantes de una familia, tales como reducir la sensación de soledad. Además, genera obligaciones con las que se aprende a tener responsabilidad, proveen diversión, entretenimiento y representan una compañía incondicional. Los animales domésticos como perros y gatos representan el origen de enfermedades zoonóticas más cercanas en zonas urbanas (Peña et al., 2017). Debido a la convivencia y relación que existen entre dichos animales con el ser humano, los microorganismos en sangre generan implicaciones leves a mortales en la salud humana, principalmente a personas con sistemas inmunológicos inmaduros (Kolo et al., 2016).

Mascotas con enfermedades hematológicas se presentan constantemente en las clínicas veterinarias debido al deterioro en la salud de los animales (Yongjin et al., 2018). Comúnmente, las alteraciones son producidas por microorganismos transmitidos por vectores (biológicos y mecánicos), especialmente en zonas tropicales y subtropicales, siendo muchos de estos microorganismos capaces de afectar a los animales domésticos y al ser humano (Salim et al., 2019).

A pesar de los enormes esfuerzos del hombre por eliminar a los parásitos de sus mascotas, estos continúan siendo un grave problema de salud en países desarrollados (Matos et al., 2015) y este impacto es mucho más notorio en países en vías de desarrollo (Encalada-Mena et al., 2011).

En términos biológicos un "vector" es todo organismo vivo con la capacidad de transportar (movilizar) y transmitir de forma activa y constante cualquier microorganismo desde un hospedero vertebrado e infectado hacia otro susceptible. Este proceso, que se define como "transmisión biológica" (Tercero Gutierrez y Olalla Herbosa, 2008) puede ocurrir desde personas hacia animales o desde animales hacia personas (OMS, 2017). Los distintos agentes patógenos (parásitos, virus o bacterias), transmitidos por vectores, necesitan multiplicarse o generar sus formas infectivas fuera o dentro de las células de los hospederos para completar su ciclo de vida. De esta manera, los patógenos son transmitidos hacia otro hospedero susceptible por alguno de los mecanismos mencionados posteriormente (Tercero Gutierrez y Olalla Herbosa, 2008).

El estrecho contacto entre humanos y animales domésticos, pone de relieve la importancia en el seguimiento que se haga de la salud animal, tanto por el valor afectivo respecto de las mascotas y su estado de salud, como por la posibilidad de constituirse en reservorios de entidades zoonóticas o ser hospederos de vectores con la capacidad de transmitir estas enfermedades, las cuales pueden ser diagnosticadas mediante extendidos sanguíneos y/o confirmadas mediante pruebas serológicas más específicas y sensibles o mediante técnicas moleculares como PCR (Costa Oliveira, 2010; Cordero del Campillo y Rojo Vázquez, 2000).

Los resultados de estudios basados en este tema, además de generar conciencia sobre la presencia de los hemoparásitos y microorganismo en los animales, evitará problemas subsecuentes que puedan afectar la salud general del animal, ya que los hábitos culturales y la forma que las personas actúan frente a las enfermedades muchas veces, no es la correcta favoreciendo de este modo la transmisión de agentes patógenos, así como su permanencia en las zonas de riesgo (Oscherov et al., 2008).

Teniendo en cuenta la importancia de la investigación, el propósito de esta investigación fue estimar los casos positivos de *Ehrlichia* spp., *Anaplasma platys* y *Leishmania* spp., en perros, tomando en cuenta sexo, raza, edad y tipo de muestras diagnosticados en el laboratorio de biotecnología de la FCV - UNA (primer semestre del año 2021).

Materiales y métodos

El trabajo fue realizado en la División de Laboratorio de Biotecnología del Departamento de Clínicas Veterinarias de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de Asunción, San Lorenzo, Paraguay, se recibieron y analizaron muestras de sangre entera, suero sanguíneo y aspirado medular provenientes tanto del Hospital Veterinario "Prof. Dr. José Vicente Núñez", así como de clínicas veterinarias externas a la institución.

Diseño y criterios del trabajo:

La investigación corresponde a un estudio de tipo descriptivo y retrospectivo.

Fueron seleccionados 300 registros de resultados de animales de la especie canina, sin distinción de raza, sexo y edad procedentes del área metropolitana de Asunción, los cuales fueron procesados durante el primer semestre del año 2021 empleando la técnica cPCR o reacción en cadena de la polimerasa convencional para la detección de los hemoparásitos *Ehrlichia* spp. y *Anaplasma platys* a partir de sangre entera y *Leishmania* spp. en sangre entera y aspirado medular; además, fueron analizadas muestras de suero sanguíneo para la detección de anticuerpos para *Leishmania* spp. y *Ehrlichia* spp. utilizando el test inmunocromatográfico. El tipo de muestra enviada, el microorganismo a ser identificado y la técnica empleada, varió según el criterio del médico veterinario solicitante.

Para la detección de los hemoparásitos por cPCR, el material genético fue extraído a partir de sangre entera o aspirado medular empleando el kit de extracción comercial basado en columnas de sílica Thermo Scientific™ GeneJET Viral DNA/RNA Purification Kit, siguiendo el protocolo indicado por el fabricante.

Las muestras de ADN obtenidas fueron sometidas a un protocolo convencional para la identificación de una región conservada del gen 18S para *Ehrlichia* spp., gen p44 de *Anaplasma platys* y *k*-ADN para la amplificación de *Leishmania* spp., descritas por (Murphy et al., 1998), (Breitschwerdt et al., 2014) y (Michalsky et al. 2002), respectivamente.

Todos los productos fueron sometidos a electroforesis en gel de agarosa (SeaKem®LE Agarose, Lonza) al 2 %, teñido con bromuro de etidio. Por último, los geles fueron observados en un transluminador (JY-025 UV Transluminator) con luz ultravioleta.

Se recibieron muestras de suero sanguíneo con el propósito de analizarlas mediante inmunocromatografía para la identificación rápida de anticuerpos para *Leishmania* spp. o *Ehrlichia* spp. Fueron utilizados los kits comerciales Anigen Rapid *Leishmania* Ab Test Kit y *E. canis* Ab rapid test para la detección cualitativa de anticuerpos para *Leishmania* spp. y *Ehrlichia* spp. respectivamente.

Finalmente, los resultados fueron tabulados en una hoja de *cálculo* Excel y evaluados estadísticamente a través del software R. Las variables analizadas fueron raza, sexo, edad (meses), hemopatógeno identificado, muestra biológica y técnica laboratorial empleada para la determinación de los microorganismos.

Resultados

En la tabla 1, se exponen los resultados de casos positivos para *Anaplasma platys*, *Leishmania* spp. y *Ehrlichia* spp., empleando dos herramientas de diagnóstico: cPCR e inmunocromatografía. Es importante destacar que la elección de la técnica de diagnóstico empleada en cada caso particular dependió del médico veterinario solicitante. Esto significa que, algunos casos fueron analizados mediante cPCR mientras que otros por medio de inmunocromatografía.

La variación en las técnicas de diagnóstico empleadas, responde a que diferentes médicos veterinarios pueden tener preferencias o consideraciones específicas en función de la situación clínica de cada paciente o bien la disponibilidad de recursos del propietario en el momento del diagnóstico.

Tabla 1. Cantidad de resultados positivos a los principales hemopatógenos identificados en el Laboratorio de Biotecnología mediante cPCR o inmunocromatografía.

Técnica de Diagnóstico	<i>Leishmania</i> spp.	<i>Ehrlichia</i> spp.	<i>Anaplasma Platys</i>
cPCR	20	25	0
Inmunocromatografía	19	2	0
Total	39	27	0

De forma más específica, los casos positivos hallados empleando la técnica cPCR o inmunocromatografía según el sexo fueron: 35 hembras positivas de las 300 muestras analizadas (12 % del total), hallándose 0 positivas a *Anaplasma platys*, 17 muestras positivas a *Ehrlichia* spp. y 18 a *Leishmania* spp.; en lo que respecta a resultados negativos, 119 hembras fueron negativas (40 % del total). En machos, fueron identificadas 31 muestras positivas de las 300 analizadas (10 % del total), 0 positivas a *Anaplasma platys*, 10 muestras positivas a *Ehrlichia* spp. y 21 a *Leishmania* spp. sin

embargo, los resultados negativos en machos fueron 2 a *Anaplasma platys*, 17 a *Ehrlichia* spp. y 96 a *Leishmania* spp. (38 % del total).

Tabla 2. Casos positivos de los principales hemopatógenos identificados en el Laboratorio de Biotecnología durante el primer semestre del 2021, clasificados según el sexo de los animales positivos y negativos.

Microorganismo	RESULTADO				TOTAL
	POSITIVO		NEGATIVO		
	Hembra	Macho	Hembra	Macho	
<i>Anaplasma platys</i>	0	0	0	2	2
<i>Ehrlichia</i> spp.	17	10	16	17	60
<i>Leishmania</i> spp.	18	21	103	96	238
Total	35	31	119	115	300
FR	12 %	10 %	40 %	38 %	100 %

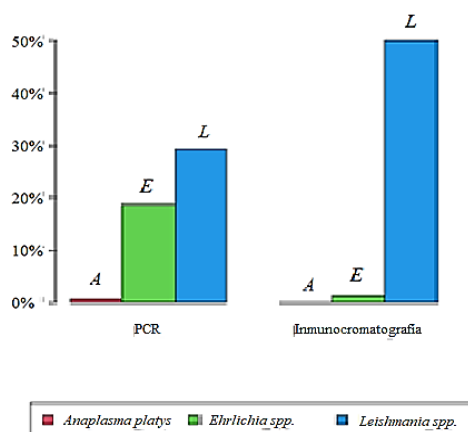


Figura 1. Detección de microorganismos mediante dos técnicas laborales, PCR e inmunocromatografía.

En relación al tipo de microorganismo, se registraron muestras positivas a *Leishmania* spp. del 13 %, *Ehrlichia* spp. del 9 % y *Anaplasma platys* del 0 %. Del total de las muestras analizadas, la solicitud de los clínicos veterinarios para la detección *Leishmania* spp., *Ehrlichia* spp. y *Anaplasma platys* mediante cPCR fue de 29,3 % 18,6 % y 0,66 %, más para la detección de estos microorganismos por inmunocromatografía fue del 50 %, 1,3 % y 0 % respectivamente (Figura 1).

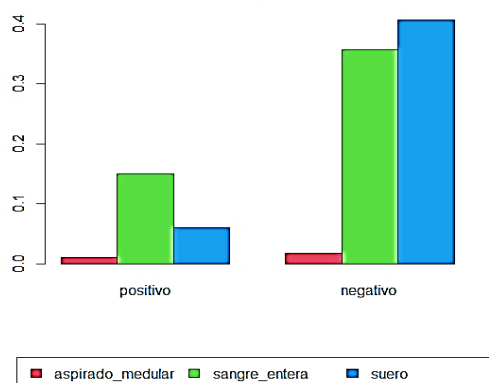


Figura 2. Resultados obtenidos según muestras biológicas analizadas por PCR o inmunocromatografía.

En cuanto a las muestras biológicas analizadas, empleando cPCR o inmunocromatografía indistintamente, los casos positivos registrados fueron mayoritariamente a través de sangre entera 15 %, seguida por suero sanguíneo 6 % y finalmente aspirado medular 3 %; en cambio, los resultados negativos correspondieron al 35,6 %, 40,6 % y 1,66 % para tales muestras, como se visualiza en la Figura 2.

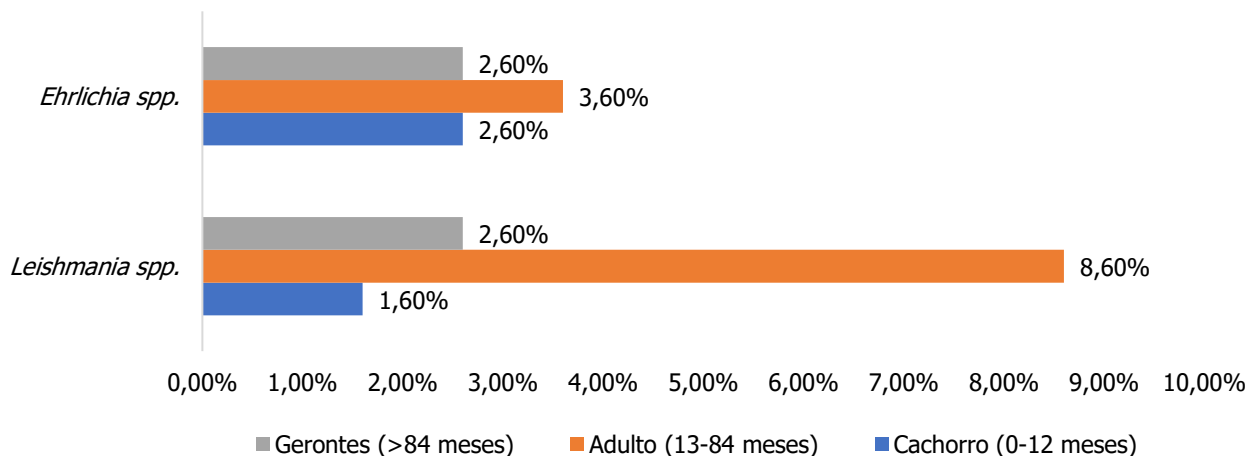


Figura 1. Casos positivos de los principales hemopatógenos identificados en el Laboratorio de Biotecnología durante el primer semestre del 2021, clasificados por grupo etario de los perros.

Según la Figura 3, los casos positivos a *Ehrlichia spp.* identificados por cPCR o inmunocromatografía teniendo en cuenta el rango etario, fue equivalente tanto en cachorros como en gerontes 2,6 % y para adultos del 3,6 %; en lo que respecta a *Leishmania spp.*, fue, para los gerontes 2,6 %, adultos del 8,6 %, y cachorros 1,6%. Los perros fueron clasificados de acuerdo al rango etario como adultos (13 a 84 meses), cachorros (0-12 meses) y gerontes (mayores de 84 meses), comprendiendo 56 %, 24 % y 20 % de los positivos respectivamente.

Tabla 3. Detección de hemopatógenos de acuerdo a razas caninas, analizadas en el Laboratorio de Biotecnología durante el primer semestre del 2021.

Raza	Microorganismo detectado			
	Leishmania spp.		Ehrlichia spp.	
	N=	%	N=	%
Beagle	1	0,3	0	0
Caniche	3	1	3	1
Chow chow	1	0,3	0	0
Fila brasileiro	1	0,3	0	0
Labrador retriever	3	1	1	0,3
Mestiza	28	9,3	15	5
Pastor alemán	1	0,3	0	0
Pinscher	0	0	1	0,3
Pit bull	0	0	4	1,3
Rottweiler	1	0,3	0	0
Shar pei	0	0	1	0,3
Teckel	0	0	1	0,3
Total	39	12,8	25	8,5

Fueron registradas 27 razas de perros, de las cuales 12 de ellas fueron positivas para al menos un microorganismo, donde los porcentajes se especifican en el Tabla 3.

Discusión

En los últimos años, los casos confirmados de hemopatógenos en perros han aumentado a nivel mundial; esto responde, en parte, por la falta de control de vectores, cambio climático, resistencia a los medicamentos, además del desarrollo de nuevos métodos de diagnóstico (Reithinger & Dujardin, 2006).

Se ha determinado que la presencia de aparición de hemopatógenos según sexo, fue mayor en hembras que en machos, esto discrepa con lo descrito por (Suh et al., 2017) el cual identificó mayor cantidad de casos positivos a enfermedades transmitidas por vectores en caninos machos; sin embargo, de acuerdo a (Luiz et al., 2019 y Dantas-Torres, 2008) no existe relación determinante entre el sexo del perro y la presentación de hemopatógenos, por tanto, es posible que la infección se presente de manera indiscriminada en ambos sexos.

Basados en la clasificación etaria elaborada por (Echeverri-De la Hoz, et al., 2022); la mayor cantidad de casos positivos identificados de hemopatógenos según rango etario ha sido en adultos, tanto para *Leishmania* spp. como *Ehrlichia* spp. Este hallazgo coincide con lo descrito por (Paternina Tuiran et al., 2015) los cuales describieron una mayor frecuencia de anticuerpos para *Leishmania* spp. en jóvenes y adultos (12 a 60 meses) y con (Cusicanqui y Zúñiga, 2020), donde registraron mayor presencia de anticuerpos para *Ehrlichia* spp. en perros adultos. Estos resultados podrían responder a que los dueños tienden a dejar fuera del hogar a sus canes una vez que éstos alcanzan la edad adulta, predisponiendo la exposición a vectores transmisores de hemopatógenos.

La relación entre la raza mestiza y la presencia de hemopatógenos hallada en este estudio (9,3 % para *Leishmania* spp. y 5 % para *Ehrlichia* spp.) coincide con lo descrito por (González-Britez et al., 2021) y (Cartagena Yarce, 2014) quienes también identificaron elevada frecuencia de *Leishmania* spp. y *Ehrlichia* spp. respectivamente en la raza mestiza; asimismo, la raza con mayor cantidad de resultados negativos también fue la mestiza (104/300). Esto podría deberse a que, tanto en este estudio como en los dos mencionados con anterioridad, existían mayor cantidad de individuos mestizos analizados que de otras razas (162/300), es probable que esto se deba a que la adopción de perros mestizos es relativamente más accesible para la mayoría de las personas.

En cuanto a las muestras biológicas analizadas y los resultados obtenidos a partir de las mismas, la sangre entera ha dado mayor cantidad de resultados positivos (45/300), esto responde a que, la extracción y manejo de este fluido es relativamente más sencilla que aspirado medular y suero sanguíneo para su posterior análisis por cPCR, técnica que permite identificar tanto *Leishmania* spp., *Ehrlichia* spp. y *Anaplasma platys* a partir de dicha muestra; para la extracción de médula ósea, se precisa de experiencia y buen manejo del paciente por parte del operario, asimismo para suero sanguíneo, ya que se requiere conocimientos para la obtener una correcta separación entre los

componentes celulares de la sangre y suero para obtener resultados confiables. Según (Pedrosa Amado, 1999), la PCR es una herramienta de diagnóstico que se destaca por su gran sensibilidad y especificidad, ya que "solo las secuencias de ADN que se amplifican, son aquellas que se encuentran entre los dos fragmentos iniciadores que han hibridado", siendo poco probable que se presenten falsos positivos o reacciones cruzadas con otros microorganismos.

Los resultados de este estudio indican que, comparando la técnica de detección rápida de anticuerpos o inmunocromatografía con la cPCR, la primera de ellas ha exhibido mayor cantidad de positivos para *Leishmania* spp., es posible que esto se deba a que existió mayor demanda de ésta técnica por parte de los médicos veterinarios solicitantes, ya que es una prueba rápida, económica y sencilla en comparación a la cPCR, sin embargo, carece de elevados porcentajes de especificidad y sensibilidad debido a que detecta los anticuerpos producidos por el sistema inmunológico luego de la primoinfección y no la presencia del microorganismo en el suero sanguíneo. Según (Rodríguez y Irlene, 2009) los caninos, sean sintomáticos o no, desarrollan una respuesta específica a *Leishmania* spp., sin embargo, se ha demostrado que la producción de anticuerpos por el animal infectado presenta un patrón antigénico similar a uno sano, por lo que los resultados que se pueden obtener a través de esta técnica pueden considerarse ambiguos.

Conclusiones

De acuerdo a los resultados obtenidos, se determinó la presencia de tres hemopatógenos en perros, detectados en la División Laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Ciencias Veterinarias, UNA, siendo *Leishmania* spp. (13 %) la especie diagnosticada con más frecuencia, seguido de *Ehrlichia* spp. (9 %) entre los animales positivos y para *Anaplasma platys* (0 %); de igual manera es importante mencionar el uso de técnicas moleculares como la cPCR que ofrece mayor especificidad a la hora de dar resultados verdaderamente positivos y constituir una opción a las técnicas tradicionales de diagnóstico, confirmando la importancia de establecer programas de monitoreo y vigilancia epidemiológica en animales de compañía de manera a evaluar periódicamente las tendencias y establecer medidas para controlar la dinámica de comportamiento de los hemopatógenos, en beneficio de la calidad de vida de las mascotas y la salud pública. Respecto a las futuras investigaciones, se sugiere ampliar el número de individuos analizados, obtener aspectos clínicos relevantes y datos demográficos más específicos de los casos positivos, además de comparar la sensibilidad y especificidad de las técnicas empleadas.

Fuente de Financiamiento

Sin financiamiento externo.

Contribución de autores

Concepción del estudio: I.P.F.I., O.L.N.Y. **Diseño del experimento:** I.P.F.I., O.L.N.Y. **Ejecución del experimento:** I.P.F.I., G.G.B., O.L.N.Y. **Verificación del experimento:** A.M.A.O., G.G.B. **Análisis/interpretación de datos:** I.P.F.I., O.L.N.Y. **Análisis estadísticos:** M.I.R.A. **Preparación del manuscrito:** I.P.F.I., A.M.A.O., M.L.Q.N., O.L.N.Y. **Edición y revisión del manuscrito:** A.M.A.O., G.G.B., M.L.Q.N. **Aprobación de la versión final del manuscrito:** I.P.F.I., A.M.A.O., G.G.B., M.L.Q.N., M.I.R.A., O.L.N.Y.

Referencias Bibliográficas

- Breitschwerdt, E., Hegarty, B., Qurollo, B., Saito, T., Maggi, R., Blanton, L. y Bouyer, D. (2014). Intravascular persistence of *Anaplasma platys*, *Ehrlichia chaffeensis*, and *Ehrlichia ewingii* DNA in the blood of a dog and two family members. *Parasites & vectors*. 1(7), 298. doi: 10.1186/1756-3305-7-298.
- Cartagena Yarce, L. R. (2014). Seroprevalencia de *Ehrlichia canis* en perros con sospecha de infección por patógenos transmitidos por garrapatas en Medellín, 2012-2014. *Revista de Medicina Veterinaria*, 29, 51-62.
- Cordero del Campillo, M. y Rojo Vázquez, F. A. (2000). *Parasitología Veterinaria*. España. McGraw-Hill Interamericana.
- Costa Oliveira, M. d. (2010). *Diagnóstico molecular de hemoparásitos y frecuencia de Ac Anti-toxoplasma gondii y Anti- Neospora caninum, en gatos peridomiciliados en la ciudad de San Luis, Maranhao. Universidad Estatal Paulista "Julio de Mesquita Filho*. (Tesis presentado para el título de Medico Veterinario). Universidad Estatal Paulista "Julio de Mesquita Filho". Facultad de Ciencias Agrarias y Veterinarias.
- Cusicanqui, J. y Zúñiga, R. (2020). Frecuencia serológica de *Ehrlichia canis* en caninos sospechosos de ehrlichiosis en los distritos de Lima Norte, Perú. *Revista de investigaciones Veterinarias del Perú*. 31(3): e18164 doi:10.15381/rivep.v31i3.18164.
- Dantas-Torres, F. (2008). Canine vector-borne diseases in Brazil. *Parasites*, 1 (25). doi:10.1186/1756-3305-1-25.
- Echeverri-De la Hoz, D. M., Herrera Demares, P. d., Vilorio Ortega Ortega, J. M., Frago Castilla, P. J., Carrillo Olivero, L. O., Rodríguez Puerta, S. M. y Rodríguez Puerta, X. P. (2022). Distribución de microorganismos a nivel sanguíneo en perros y gatos domésticos, Valledupar, Colombia. *Revista De investigaciones Veterinarias del Perú*, 33(1), e19892. <http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v33i1.19892>.
- Encalada-Mena, L. A., Duarte-Ubaldo, E. L., Vargaz-Magaña, J. J., Garcia-Ramirez, M. J., y Medina-Hernandez, R. E. (2011). *prevalencia de parásitos gastroentericos de canidos en la ciudad de Escárcega, Campeche, México. Universidad y Ciencia*, 27(2):209-217.
- González-Britez, N., Boy, L., Benítez, S., Ferreira, M., Ortiz, A., Estigarribia, G. y Ruoti, M. (2021). Características clínico-epidemiológicas de leishmaniasis visceral canina en un área endémica de Paraguay. *Revista de Salud Pública*, 23(5). doi:10.15446/rsap.v23n5.97799
- Kolo, A. O., Sibeko-Matjilla, K. P., Maina, A. N., Richards, A. L., Knobel, D. L. y Matjila, P. (2016). Molecular detection of zoonic Rickettsiae and *Anaplasma* spp. in domestic dogs and their ectoparasites in bushbuckridge. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 16(4), 245-252 doi: 10.1089/vbz.2015.1849
- Luiz, A., Menezes, G. M., Torquato, A. d., Santos, A. L. & Delfino, A. I. (2019). Levantamento de hemoparasitoses em cães e gatos no Hospital Veterinário Dr. Vicente Borelli. *Pubvet*, 13(01). <https://doi.org/10.31533/pubvet.v13n01a260.1-5>.
- Matos, M., Alho, A. M., Owen, S. P., Nunes, T. y Madeira de Carvalho, L. (2015). Parasite control practices and public perception of parasitic diseases: a survey of dog and cat owners. *Preventive veterinary medicine*, 122(1-2), 174–180. doi: 10.1016/j.prevetmed.2015.09.006.
- Michalsky, E., Fortes-Dias, C. L., Pimenta, P. F., Secundino, N. F. y Dias, E. S. (2002). Assessment of PCR in the detection of *Leishmania* spp. in experimentally infected individual phlebotomine

- sandflies (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae). *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*, 44(5), 255–259. <https://doi.org/10.1590/S0036-46652002000500004>.
- Murphy, G. L., Ewing, S. A., Whitworth, L. C., Fox, J. C. y Kocan, A. A. (1998). A molecular and serologic survey of *Ehrlichia canis*, *E. chaffeensis*, and *E. ewingii* in dogs and ticks from Oklahoma. *Veterinary parasitology*, 79(4), 325–339. doi: 10.1016/s0304-4017(98)00179-4.
- OMS. (2017). *Enfermedades transmitidas por vectores*. Organización Mundial de la Salud. <http://www.who.int/es/news-room/factsheets/detail/vector-borne-diseases>.
- Oscherov, E. B., Milano, A. F. y Bar, A. R. (2008). Percepciones y comportamiento de la población de un área endémica de Argentina en relación a la transmisión de *Tunga penetrans* (Siphonaptera: Tungidae). *Boletín de Malariología y Salud Ambiental*, 48(1), 53-6. <https://www.researchgate.net/publication/262739689>.
- Paternina Tuiran, L., Diaz-Olmos, Y., Paternina-Gomez, M., Carrillo-Bonilla, L., Velez, I. y Bejarano, E. (2015). Detección de Anticuerpos Anti-Leishmania (Trypanosomatidae) en poblaciones Caninas del Departamento de Sucre, Colombia. *Acta Biológica Colombiana*, 21(1), 183-188. doi:10.15446/abc.v21n1.48845.
- Pedrosa Amado, A. (1999). *Reacción en cadena de la Polimerasa. Revisión bibliográfica. Revista Archivo Médico de Camagüey*, 3(2). http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-02551999000200011.
- Peña G., I., Vidal F., F., del Toro R., A., Hernández, A. y Zapata R, M. M. (2017). Zoonosis parasitarias causadas por perros y gatos, aspecto a considerar en Salud Pública de Cuba. REDVET. *Revista Electrónica de Veterinaria*, 18(10), 1-11.
- Rodriguez, V. y Irlene, E. (2009). Respuesta inmune a la infección por *Leishmania infantum* en caninos. *Revista electronica de Veterinaria*, 10(1), 1-8.
- Reithinger, R. y Dujardin, J. (2006). Molecular Diagnosis of Leishmaniasis: Current Status and Future Applications. *Journal of clinical microbiology*, 45(1), 21–25. doi: 10.1128/JCM.02029-06.
- Salim, B., Alanazi, A. D., Omori, R., Alyousif, M. S., Alanazi, I. O., Katakura, K. y Nakao, R. (2019). Potential role of dogs as sentinels and reservoirs for piroplasms infecting equine and cattle in Riyadh City, Saudi Arabia. *Acta tropica*, 193, 78–83. doi: 10.1016/j.actatropica.2019.02.029.
- Suh, G., Ahn, J., Ahn, J., Kim, H., Leutnegger, C. y Shin, S. (2017). Serological and molecular prevalence of canine vector-borne diseases (CVBDs) in Korea. *Parasites & Vectors*, 10(146).
- Tercero Gutierrez, M. J. y Olalla Herbosa, R. (2008). Enfermedades tropicales transmitidas por vectores. Medidas preventivas y profilaxis. *OFFARM*, 27(6), 78-87.
- Yongjin, Q., Kaneko, C., Kajihara, M., Ngonda, S., Simulundu, E., Muleya, W. & Nakao, R. (2018). Tick-borne haemoparasites and anaplasmatidae in domestic dogs in Zambia. *Ticks and tick-borne diseases*, 9(4), 988–995. doi: 10.1016/j.ttbdis.2018.03.025.