

Seroprevalencia de *Ehrlichia* spp, *Anaplasma* spp, *Borrelia burgdorferi* y *Dirofilaria immitis* en caninos de la ciudad de Guayaquil

Study of the seroprevalence of *Ehrlichia* spp, *Anaplasma* spp, *Borrelia burgdorferi* and *Dirofilaria immitis* in canines from the city of Guayaquil

Renán Mena Pérez^{1*}, David Tutachá Soria¹, Joe Melchiade Muñoz¹, Crithian Dávalos Delgado¹, Richar Rodríguez-Hidalgo^{1,2}

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue determinar la prevalencia de *Ehrlichia* spp, *Anaplasma* spp, *Dirofilaria immitis* y la presencia de *Borrelia burgdorferi* en caninos de la ciudad de Guayaquil. Se tomaron muestras de sangre a 220 canes y se analizaron mediante la técnica de ELISA (Snap 4Dx Plus, Idexx®). En 120 de estos canes se determinó la presencia de ectoparásitos y sus muestras sanguíneas fueron analizadas además mediante frotis para contrastar los resultados con los obtenidos por ELISA. Los resultados se analizaron mediante Chi cuadrado y el test exacto de Fisher para determinar la asociación de riesgo y la influencia de los factores de riesgo (edad, sexo y zona) basado en Odds Ratio. Se hizo la prueba de Kappa para determinar la concordancia entre las pruebas utilizadas. La prevalencia de *Ehrlichia* spp fue de 75.4% (166/220), *Anaplasma* spp de 22.8% (49/220), *D. immitis* de 2.3% (5/220) y nula para *B. burgdorferi*. Se encontró coinfección de *Ehrlichia* spp y *Anaplasma* spp (20.9%) y de *Ehrlichia* spp y *D. immitis* (2.3%). No se encontró asociación ($p > 0.05$) entre estos patógenos con respecto a la edad, sexo o la zona donde habitan los animales. El nivel de concordancia del índice Kappa entre la técnica de ELISA y el frotis sanguíneo fue aceptable (*Ehrlichia* spp = 0.79; *Anaplasma* spp = 0.91), pero una mayor sensibilidad en el método de ELISA.

Palabras clave: caninos, vectores, hemoparásitos, zoonosis

¹ Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Central del Ecuador, Quito, Ecuador

² Instituto de Investigación en Zoonosis – CIZ, Universidad Central del Ecuador, Quito, Ecuador

* Autor para correspondencia: Renán Mena Pérez; rpmena@uce.edu.ec

Recibido: 12 de febrero de 2022

Aceptado para publicación: 10 de junio de 2023

Publicado: 28 de junio de 2024

©Los autores. Este artículo es publicado por la Rev Inv Vet Perú de la Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Este es un artículo de acceso abierto, distribuido bajo los términos de la licencia Creative Commons Atribución 4.0 Internacional (CC BY 4.0) [<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.es>] que permite el uso, distribución y reproducción en cualquier medio, siempre que la obra original sea debidamente citada de su fuente original

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the prevalence of *Ehrlichia* spp, *Anaplasma* spp, *Dirofilaria immitis* and the presence of *Borrelia burgdorferi* in canines from the city of Guayaquil. Blood samples were taken from 220 dogs and analysed using the ELISA technique (Snap 4Dx Plus, Idexx®). In 120 of these dogs the presence of ectoparasites was determined and their blood samples were also analysed by smears to compare the results with those obtained by ELISA. The results were analysed using Chi-square and Fisher's exact test to determine the risk association and the influence of risk factors (age, sex, and area) based on the Odds Ratio. The Kappa test was performed to determine the agreement between the tests used. The prevalence of *Ehrlichia* spp was 75.4% (166/220), *Anaplasma* spp 22.8% (49/220), *D. immitis* 2.3% (5/220) and null for *B. burgdorferi*. Coinfection of *Ehrlichia* spp and *Anaplasma* spp (20.9%) and *Ehrlichia* spp and *D. immitis* (2.3%) was found. No association ($p > 0.05$) was found between these pathogens with respect to age, sex or the area where the animals live. The level of concordance of the Kappa index between the ELISA technique and the blood smear was acceptable (*Ehrlichia* spp = 0.79; *Anaplasma* spp = 0.91), but a higher sensitivity in the ELISA method.

Key words: canines, vectors, haemoparasites, zoonoses

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades transmitidas por vectores son consideradas como enfermedades emergentes de alto impacto zoonótico entre animales y hacia el hombre (Ismail y McBride, 2017). Ante el creciente aumento de animales de compañía en los hogares y al contacto afectivo con el humano, se incrementa el riesgo de transmisión de enfermedades vectoriales (Schorderet-Weber *et al.*, 2017; Fragkou *et al.*, 2020).

Entre las principales enfermedades transmitidas por vectores y descritas en los caninos se incluyen a la ehrlichiosis (Groen *et al.*, 2002), anaplasmosis (Ismail y McBride, 2017), dirofilariosis (Laidoudi *et al.*, 2021) y la enfermedad de Lyme (Schoen, 2020), entre otras. Los principales vectores asociados a estas enfermedades son las garrapatas (*Rhipicephalus sanguineus*, Ixodes), pulgas (*Cryptosporidium canis* y *C. felis*) e insectos voladores (*Aedes*, *Culex*, *Anopheles*) que forman parte de los ciclos

evolutivos de estos agentes (Movilla *et al.*, 2016, Montenegro *et al.*, 2017; Maggi y Krämer, 2019). En diversos estudios se ha reportado la presencia de hemoparásitos de origen canino en humanos, caracterizando a estas enfermedades como zoonosis emergentes (Gestal *et al.*, 2015; Capelli *et al.*, 2018; Fragkou *et al.*, 2020; Laidoudi *et al.*, 2021).

En el Ecuador, especies de los géneros *Ehrlichia* y *Anaplasma* han sido frecuentemente diagnosticadas y reportadas en caninos (Cuadro 1). Asimismo, los reportes de *Dirofiliara* spp muestran una baja prevalencia y solo en ciertas zonas del país, mientras que no se ha reportado la presencia de *Borrellia* spp.

La presencia de hemoparásitos en los humanos y caninos demuestra la importancia sanitaria y de salud pública; sin embargo, el grado de afectación y la falta de reporte de casos podría subestimar su relevancia en el contexto humano-canino y su interacción afectiva y de contacto (McCown *et al.*, 2014; Jimenez *et al.*, 2020).

Cuadro 1. Reportes de prevalencia de *Ehrlichia* spp y *Anaplasma* spp diagnosticados por ELISA

Referencia	Lugar	<i>Ehrlichia</i> spp (%)	<i>Anaplasma</i> spp (%)
Ecuador			
Márquez (2011)	Milagro	48.0	32.0
Calvache (2014)	Santo Domingo	33.3	47.6
Segovia (2015)	Cumbayá	14.0	8.0
Adams <i>et al.</i> (2016)	Santa Cruz/Galápagos	37.8	13.51
Jimenez <i>et al.</i> (2020)	Santa Cruz/Galápagos	48.3	12.1
América			
McCown <i>et al.</i> (2014)	Colombia	62.0	33.0
Movilla <i>et al.</i> (2016)	México	51.0	16.4
Springer <i>et al.</i> (2018)	Nicaragua	62.9	28.6
Montenegro <i>et al.</i> (2017)	Costa Rica	38.2	6.4

En los perros, las enfermedades vectoriales pueden cursar de manera aguda con afección orgánica grave con cuadros hemorrágicos y/o insuficiencia cardiaca; sin embargo, la mayoría de los casos son de curso crónico subclínico con cuadros asociados a depresión, pérdida de peso, anemia, claudicaciones por dolor articular y, en estados muy avanzados, epistaxis, hematemesis o hematuria (Little, 2010, Chochlios *et al.*, 2019; Mylonakis *et al.*, 2019). Por el contrario, el humano no presenta síntomas clínicos o son inespecíficos, que podrían confundirse con otras enfermedades como una gripe común o enfermedades dermatológicas o alérgicas (Ismail y McBride, 2017). Los caninos y humanos «asintomáticos» podrían convertirse en reservorios de estos agentes infecciosos complicando la salud animal y la salud pública (Sato *et al.*, 2020). Esta tendencia, obliga a los veterinarios y a los tomadores de decisiones de proponer políticas públicas que disminuyan los problemas en los animales de compañía y los relacionados con la salud pública (Day, 2016).

El diagnóstico de hemoparásitos se realiza a través de frotis sanguíneos y pruebas de ELISA. La primera es de baja sensibilidad (44%) y especificidad (70%) y depende

del grado de parasitemia que presenta el individuo (Castro, 2015). Las pruebas de ELISA tienen una mejor sensibilidad (89-92%) y especificidad (96-98%), aunque podrían adolecer de precisión debido al tipo de especie/cepa que circula en Ecuador (Segovia, 2015; Jimenez *et al.*, 2020). Dada la importancia del tema, el objetivo de este estudio fue establecer las prevalencias de las enfermedades vectoriales en caninos y su importancia con la salud animal y salud pública en áreas periurbanas de una zona tropical del Ecuador.

MATERIALES Y MÉTODOS

Animales en Estudio

Se tomaron muestras de sangre a 220 caninos de zonas periurbanas de la ciudad de Guayaquil. De estos, 53 en el norte, 47 en el centro y 120 en el sur de la ciudad. Además, se realizó la inspección de los animales en busca de vectores (garrapatas). El muestreo se realizó concomitantemente con las campañas de desparasitación organizadas en conjunto con los líderes locales de los diferentes sectores durante los meses de septiembre de 2016 a marzo de 2017. Además, se incluye-

ron animales que se encontraban en hogares temporales y en refugios públicos y privados.

Diagnóstico

Se colectó 4 ml de sangre a partir de la vena cefálica y se colocó 2 ml en tubos de tapa lila con EDTA para realizar el frotis sanguíneo y 2 ml en un tubo de tapa roja sin anticoagulante para la obtención de suero sanguíneo.

Tinción Giemsa

Un subgrupo de 120 muestras sanguíneas fue analizado y diagnosticado por frotis sanguíneo mediante tinción Giemsa (Castro, 2015). Mediante esta técnica los eritrocitos se visualizan de un color gris rosado y el citoplasma de los leucocitos de color azul claro y los núcleos de violeta a rojizo, en tanto que los hemoparásitos adquieren un color azul fuerte.

ELISA indirecto

Las 220 muestras fueron diagnosticadas serológicamente con el kit comercial SNAP® 4DX® Plus (ELISA) de IDEXX® que tiene una especificidad de 100% y sensibilidad entre 96 y 99% dependiendo de la enfermedad (Idexx Laboratories, 2016). El kit está diseñado para detectar antígenos de *Dirofilaria immitis* y anticuerpos específicos contra *Anaplasma phagocytophilum*, *A. platys*, *Ehrlichia canis* y *E. ewingii* y antígenos de *Borrelia burgdorferi*. El procedimiento de diagnóstico fue el recomendado por el fabricante del kit.

Análisis Estadístico

Los análisis estadísticos fueron realizados en Excel 2010 y en R Studio v. 1.4.1103 utilizando la prueba de Chi Cuadrado y el test exacto de Fisher. El riesgo y la influencia de los factores de riesgo (edad, sexo y raza) de determinó con el Odds Ratio. También se utilizó la prueba de Kappa para determinar la concordancia entre las pruebas utilizadas y

aplicadas en el subgrupo de muestras en el estudio.

Aspectos Éticos

Los animales del estudio no sufrieron daños. El muestreo se hizo luego de explicar el propósito del estudio a los tutores de los canes y la firma del consentimiento informado siguiendo las leyes de protección y bienestar animal. La toma de muestras en caninos es un proceso rutinario que fue realizado por técnicos que minimizan el riesgo de maltrato animal.

RESULTADOS

ELISA Indirecto

El 76.82% (169/220) de los caninos presentó al menos un hemoparásito. De ellos, la tasa de prevalencia de *Ehrlichia* spp fue de 75.4% (166/220), *Anaplasma* spp de 22.3% (49/220), y *Dirofilaria immitis* de 2.3% (5/220), mientras que no se encontró casos positivos de *Borrelia burgdorferi*. Del mismo modo, 46 caninos (20.9%) mostraron co-infección de *Ehrlichia* spp y *Anaplasma* spp y 5 canes (2.3%) presentó coinfección de *Ehrlichia* spp y *D. immitis*.

En el Cuadro 2 se presenta el número y porcentaje de animales infectados por los patógenos en estudio de acuerdo con la zona de la ciudad donde habitan. Se puede observar que la presencia de *Ehrlichia* spp es común en toda la ciudad ($p > 0.05$). Un comportamiento similar se observa para *Anaplasma* spp. En el caso de las co-infecciones, si bien no hay diferencia significativa de acuerdo con la zona ($p > 0.05$), se evidencia una mayor presencia en los canes de las zonas centro y sur con relación a los animales de la zona norte. Por otro lado, si bien el número de canes positivos a *D. immitis* fue bajo, en todos los casos se presentó co-infección con *Ehrlichia* spp, especialmente en las zonas norte (7.6%) y en la zona centro (2.1%) ($p < 0.05$).

Cuadro 2. Canes infectados con hemoparásitos según las zonas periurbanas de la ciudad de Guayaquil, Ecuador determinado mediante la prueba de ELISA indirecta

Zona	Norte		Centro		Sur		Total		p value 95% IC
	n= 53		n= 47		n= 120		n= 220		
	n	%	n	%	n	%	n	%	
Un agente									
<i>Erhlichia</i> spp	26	49.1	24	51.1	65	54.2	115	52.3	0.81
<i>Anaplasma</i> spp	2	3.8	0	0	1	0.8	3	1.4	1
Co-infección									
E + A	6	11.3	12	25.5	28	23.3	46	20.9	0.149
E + D	4	7.6	1	2.1	0	0	5	2.3	0.01*
Total de infectados	38	22.5	37	21.9	94	55.6	169	76.8	

E + A: *Erhlichia* spp + *Anaplasma* spp; E + D: *Erhlichia* spp+ *D. immitis*

No hubo asociación significativa entre la edad y la infección por *Erhlichia* spp ($p>0.05$); sin embargo, se observa una ligera mayor tasa de infección en los perros adultos (55.1%) con relación a los animales geriátricos y cachorros (Cuadro 3). No se observaron casos de *Anaplasma* spp como agente único en perros geriátricos, mientras que la co-infección de E+A fue mayor en estos animales (28.6%) con relación a los adultos (23.1%) y a los cachorros (9.3%) (Cuadro 3).

Los machos presentaron una mayor tasa de infección por *Erhlichia* spp que las hembras (58.4 vs 45.8%, respectivamente), aunque sin diferencias significativas ($p>0.05$) (Cuadro 4). Los casos de *Anaplasma* spp fueron escasos y solo se observaron en machos. Asimismo, la co-infección E+A fue mayor, aunque no estadísticamente significativa entre sexos. La misma tendencia se observó en la co-infección de *Erhlichia* spp+ *D. immitis* con un Odds Ratio de 4.32.

Cuadro 3. Canes infectados con hemoparásitos según el grupo etario en la ciudad de Guayaquil, Ecuador determinado mediante la prueba de ELISA indirecta

Grupos etarios	Cachorros		Adultos		Geriátricos		Total		p value 95% IC
	n= 43		n= 156		n= 21		n= 220		
	n	%	n	%	n	%	n	%	
Un agente									
<i>Erhlichia</i> spp	18	41.9	86	55.1	11	52.4	115	52.3	0.3
<i>Anaplasma</i> spp	1	2.3	2	1.3	0	0	3	1.4	1
Co-infección									
E + A	4	9.3	36	23.1	6	28.6	46	20.9	0.08
E + D	0	0	2	1.3	3	14.3	5	2.3	1
Total de infectados	23	53.4	126	80.8	20	95.2	169	76.8	

E + A: *Erhlichia* spp + *Anaplasma* spp; E + D: *Erhlichia* spp+ *D. immitis*

Cuadro 4. Canes infectados con hemoparásitos según el sexo en la ciudad de Guayaquil, Ecuador determinado mediante la prueba de ELISA indirecta

Sexo	Macho		Hembra		Total		p value 95% IC	OR
	n= 107		n= 113		n= 220			
	n	%	n	%	n	%		
Un agente								
<i>Erhlichia</i> spp	49	45.8	66	58.4	115	52.3	0.08	0.6
<i>Anaplasma</i> spp	3	2.8	0	0	3	1.4	--	--
Co-infección								
<i>E + A</i>	28	26.2	18	15.9	46	20.9	0.06	1.86
<i>E + D</i>	4	3.7	1	0.9	5	2.3	0.2	4.32
Total de infectados	84	78.5	85	75.2	169	76.8		

E + A: *Erhlichia* spp + *Anaplasma* spp; E + D: *Erhlichia* spp+ *D. immitis*

Cuadro 5. Resultados obtenidos de las pruebas diagnósticas mediante frotis sanguíneo y ELISA indirecto para *Erhlichia* spp y *Anaplasma* spp

Patógeno	ELISA			Frotis sanguíneo			Índice Kappa
	Pos	Neg	Prevalencia (%)	Pos	Neg	Prevalencia (%)	
	<i>Erhlichia</i> spp	93	27	77.50	83	37	69.17
<i>Anaplasma</i> spp	29	91	24.17	25	95	20.83	0.91

Frotis y Prueba Kappa con el ELISA

La comparación entre los resultados del diagnóstico mediante frotis sanguíneo y la prueba de ELISA se presenta en el Cuadro 5. Si bien las prevalencias determinadas mediante frotis sanguíneo fueron ligeramente inferiores a las obtenidas mediante ELISA Indirecta, el índice Kappa mostró un nivel de concordancia aceptable de 0.79 para ehrlichiosis y de 0.91 para anaplasmosis. Por otro lado, en este subgrupo no se detectó *D. immitis* ni *Borrellia burdorgferi*. Asimismo, al revisar los resultados del frotis junto a los de ELISA de este subgrupo se observó que 23.33% (28/120) mostró co-infección entre

ehrlichiosis y anaplasmosis determinada mediante ELISA y el 19.2% (23/120) por frotis sanguíneo.

DISCUSIÓN

La prevalencia de anticuerpos contra *Erhlichia* spp (75.4%) fue superior a la observada en reportes de Ecuador y de América Latina, donde el valor más alto reportado por Springer *et al.* (2019) en Nicaragua que fue 62.9%. Por otro lado, la prevalencia encontrada para *Anaplasma* spp fue de 20.9%, estando dentro del rango de los valores reportados (Cuadro 1).

En el Ecuador regional e insular se han determinado elevadas prevalencias de Ehrlichiosis. Los resultados observados en las localidades de Milagro (Márquez, 2011) y Santo Domingo (Calvache, 2014) ponen en evidencia las altas tasa de infección de los perros que habitan en estas zonas, los cuales se encuentran infestados por garrapatas que se encargan de diseminar la enfermedad, agente vector de esta enfermedad (Sato *et al.*, 2020). Esto sería una clara indicación de que la presencia de estos vectores se encuentra ampliamente distribuida en la ciudad de Guayaquil. Las prevalencias encontradas para *Ehrlichia* spp y *Anaplasma* spp, según los reportes de la región insular Galápagos son inferiores a las encontradas en este estudio, pudiendo deberse al mayor control de la población canina y menor presencia de perros callejeros (Levy *et al.*, 2008; Jimenez *et al.*, 2020). Por otro lado, Cumbayá es una parroquia rural del Distrito Metropolitanos de Quito, ubicada a 2200 m de altitud, donde Segovia (2015) reporta prevalencias menores para *Ehrlichia* spp y *Anaplasma* spp con relación a las encontradas en este estudio en Guayaquil, posiblemente debido a la menor presencia de vectores.

Índices Kappa para las pruebas de ELISA y frotis con los patógenos en estudio han sido reportadas con valores de 0.5 (Soto *et al.*, 2002; Caraguay, 2015; Tateishi *et al.*, 2015) y de 0.5 a 0.79 (Hoyos *et al.*, 2007; Del Valle *et al.*, 2011; Silva *et al.*, 2014); valores inferiores a los encontrados en el presente estudio. Según Angulo y Rodríguez (2005) y Pineda (2012), anticuerpos contra *Ehrlichia* spp y *Anaplasma* spp pueden ser detectados por ELISA hasta 9 meses de superada la infección, lo que significa que se puede muestrear perros que resultarían positivos al ELISA, pero negativos al frotis sanguíneo.

La presencia de pacientes con co-infecciones de *Ehrlichia* spp y *Anaplasma* spp (E+A) es inferior a lo reportado por McCown

et al. (2014) en Cartagena y Barranquilla, donde el nivel de co-infección (E+A) fue de 49 y 40%, respectivamente, pero superior al 5.86% encontrado en México por Movilla *et al.* (2016). Las lesiones causadas por estas co-infecciones hacen que el pronóstico de los pacientes sea reservado a malo por las altas tasas de morbilidad y mortalidad asociadas (Little 2010; Sato *et al.*, 2020). Si bien estas co-infecciones se presentan en canes de todas las edades, ocurren en con mayor frecuencia en canes de mayor edad, probablemente el mayor tiempo expuesto a estas enfermedades (Severo *et al.*, 2012; Pesquera *et al.*, 2015).

La determinación de antígenos de *D. immitis* del presente estudio (2%) fue similar a lo reportado en Barranquilla por McCown *et al.* (2014) donde se encontró una prevalencia de 2.3% (5/220), a diferencia del 11.6% observados en el trabajo de metaanálisis de Anvari *et al.* (2020). La mayor presencia de *Dirofilaria* en co-infección con *Ehrlichia* spp en los canes del sector norte podría asociarse a la concentración de mosquitos de los géneros *Aedes*, *Anopheles*, *Culex* y *Taeniorhynchus*, vectores de la *Dirofilaria* (Capelli *et al.*, 2018). Asimismo, la mayor predisposición de la *Dirofilaria* en perros machos (OR= 4.32), podría explicarse por el hábito callejero de estos, especialmente durante la etapa reproductiva.

Si bien la presencia de garrapatas de género ixodes se encuentra ampliamente distribuida en varias zonas tropicales del Ecuador (Pesquera *et al.*, 2015), aún no se ha reportado casos de borreliosis (enfermedad de Lyme) en perros, no siendo este estudio la excepción. Sin embargo, la ausencia de reportes no significa que los hematozoarios no afecten a este grupo poblacional, aunque la falta de signos y síntomas asociados a estas enfermedades y a la falta de diagnóstico específico respaldaría su ausencia.

CONCLUSIONES

- Se determinó una alta seroprevalencia de *Ehrlichia* spp (75.5%, 166/220) y de *Anaplasma* spp (22.3%, 49/220)
- La seroprevalencia de *Dirofilaria immitis* fue de 2.27% (5/220), y nula para *Borrellia burgdorferi*.
- Se encontró co-infección de *Ehrlichia* spp y *Anaplasma* spp (20.9%) y de *Ehrlichia* spp y *D. immitis* (2.3%).

LITERATURA CITADA

1. **Adams DJ, Rosenberg D, Heng Yirui. 2016.** Prevalence of vector-borne diseases in a sample of client-owned dogs on Santa Cruz in the Galápagos Islands: a pilot study. *Vet Parasitol Reg Stud Reports* 6: 28-30. doi: 10.1016/j.vprsr.2016.11.007
2. **Angulo J, Rodríguez L. 2005.** Diagnóstico situacional de cuatro hemoparásitos en canes menores de un año, en cinco barrios del distrito VI-2 de Managua. Tesis de Médico Veterinario. Managua, Nicaragua: Univ. Nacional Agraria. 117 p.
3. **Anvari D, Narouei E, Daryani A, Sarvi S, Moosazadeh M, Ziaei Hezarjaribi H, et al. 2020.** The global status of *Dirofilaria immitis* in dogs: a systematic review and meta-analysis based on published articles. *Res Vet Sci* 131: 104-116. doi: 10.1016/j.rvsc.2020.04.002
4. **Calvache H. 2011.** Identificación de hemoparásitos mediante «snap diagnóstico 4dx plus» (Idexx®) en caninos comprendidos entre dos meses a doce años de edad, en clínicas veterinarias urbanas de la ciudad de Santo Domingo de los Tsáchilas. Tesis de Médico Veterinario Zootecnista. Ecuador: Univ. de las Américas. 177 p.
5. **Capelli G, Genchi C, Baneth G, Bourdeau P, Brianti E, Cardoso L, Danesi P, et al. 2018.** Recent advances on *Dirofilaria repens* in dogs and humans in Europe. *Parasite Vector* 11: 663. doi: 10.1186/s13071-018-3205-x
6. **Caraguay J. 2015.** Diagnóstico de ehrlichiosis en perros procedentes de los barrios rurales del cantón Catamayo, a través del SNAP 4 DX. Tesis de Médico Veterinario Zootecnista. Ecuador: Univ. Nacional de Loja. 74 p.
7. **Castro D. 2015.** Comparación de frotis sanguíneo y serología como métodos de diagnóstico en Ehrlichiosis canina. Tesis de Médico Veterinario. Bogotá, Colombia: Univ. de La Salle. 33 p.
8. **Chochlios TA, Angelidou E, Kritsepi-Konstantinou M, Koutinas CK, Mylonakis ME. 2019.** Seroprevalence and risk factors associated with *Ehrlichia canis* in a hospital canine population. *Vet Clin Path* 48: 305-309. doi: 10.1111/vcp.12736
9. **Day MJ. 2016.** Pet-related infections. *N Am Fam Physician* 94: 794-802.
10. **Del Valle G, Gómez E, El Hen F, Guzmán R, Blondell D, Tulio M. 2011.** Diagnosis of *Dirofilaria immitis* in the municipality of Sucre, Sucre state, Venezuela. *Bol Mal Salud Amb* 51: 51-58.
11. **Fragkou PC, Belhadi D, Moschopoulos CD. 2020.** Emerging infectious diseases. *Nurs Clin N Am* 54: 297-311. doi: 10.1016/j.cnur.2019.02.006
12. **Cartelle Gestal M, Holban AM, Escalante S, Cevallos M. 2015.** Epidemiology of tropical neglected diseases in Ecuador in the last 20 years. *PLoS One* 10: e0138311. doi: 10.1371/journal.pone.0138311
13. **Groen J, Koraka P, Nur YA, Avsic-Zupanc T, Goessens WH, Ott A, Osterhaus AD. 2022.** Serologic evidence of ehrlichiosis among humans and wild animals in The Netherlands. *Eur J Clin Microbiol* 21: 46-49. doi: 10.1007/s10096-001-0659-z

14. **Hoyos L, Li O, Alvarado A, Suárez F, Díaz D. 2007.** Evaluación del examen hematológico en el diagnóstico de ehrlichiosis canina. *Rev Inv Vert Perú* 18: 129-135
15. **Idexx Laboratories. 2016.** IDEXX SNAP ® 4Dx ® Plus Test, [Internet]. Disponible en: <https://www.idexx.es/files/abaxis-anaplasma-accuracy-white-paper.pdf>
16. **Ismail N, McBride JW. 2017.** Tick-borne emerging infections: ehrlichiosis and anaplasmosis. *Clin Lab Med* 37: 317-340. doi: 10.1016/j.cll.2017.01.006
17. **Jimenez IA, Vega Mariño PA, Stapleton GS, Prieto JB, Bowman DD. 2020.** Canine vector-borne disease in domestic dogs on Isla Santa Cruz, Galápagos. *Vet Parasitol Reg Stud Reports* 19: 100373. doi: 10.1016/j.vprsr.2020.100373
18. **Laidoudi Y, Otranto D, Stolowy N, Amrane S, Santhakumari Manoj RR, Polette L, Watier-Grillot S, et al. 2021.** Human and animal dirofilariasis in southeast of France. *Microorganisms* 9: 1544. doi: 10.3390/microorganisms-9071544
19. **Levy JK, Crawford PC, Lappin MR, Dubovi EJ, Levy MG, Alleman R, Tucker SJ, Clifford EL. 2008.** Infectious diseases of dogs and cats on Isabela Island, Galapagos. *J Vet Intern Med* 22: 60-65. doi: 10.1111/j.1939-1676.2007.0034.x
20. **Little SE. 2010.** Ehrlichiosis and anaplasmosis in dogs and cats. *Vet Clin NAm-Small* 40: 1121-1140. doi: 10.1016/j.cvsm.2010.07.004
21. **Maggi RG, Krämer F. 2019.** A review on the occurrence of companion vector-borne diseases in pet animals in Latin America. *Parasite Vector* 12: 145. doi: 10.1186/s13071-019-3407-x
22. **Márquez I. 2011.** Diagnóstico de enfermedades hemáticas en caninos en la Ciudad de Milagro mediante el uso de kits Snap 4dx. Guayaquil, Ecuador: Tesis de Médico veterinario Zootecnista. Univ. de Guayaquil. 114 p.
23. **Mccown ME, Monterroso VH, Cardona W. 2014.** Surveillance for *Ehrlichia canis*, *Anaplasma phagocytophilum*, *Borrelia burgdorferi*, and *Dirofilaria immitis* in dogs from three cities in Colombia. *J Spec Oper Med* 14: 86-90. doi: 10.55460/YYT5-90FP
24. **Montenegro VM, Bonilla MC, Kaminsky D, Romero-Zúñiga JJ, Siebert S, Krämer F. 2017.** Serological detection of antibodies to *Anaplasma* spp, *Borrelia burgdorferi* sensu lato and *Ehrlichia canis* and of *Dirofilaria immitis* antigen in dogs from Costa Rica. *Vet Parasitol* 236: 97-107. doi: 10.1016/j.vetpar.2017.02.009
25. **Movilla R, García C, Siebert S, Roura X. 2019.** Countrywide serological evaluation of canine prevalence for *Anaplasma* spp, *Borrelia burgdorferi* (sensu lato), *Dirofilaria immitis* and *Ehrlichia canis* in Mexico. *Parasite Vector* 9: 421. doi: 10.1186/s13071-016-1686-z
26. **Mylonakis ME, Harrus S, Breitschwerdt EB. 2019.** An update on the treatment of canine monocytic ehrlichiosis (*Ehrlichia canis*). *Vet J* 246: 45-53. doi: 10.1016/j.tvjl.2019.01.015
27. **Pesquera C, Portillo A, Palomar AM, Oteo JA. 2015.** Investigation of tick-borne bacteria (*Rickettsia* spp, *Anaplasma* spp, *Ehrlichia* spp and *Borrelia* spp) in ticks collected from Andean tapirs, cattle and vegetation from a protected area in Ecuador. *Parasite Vector* 8:46. doi: 10.1186/s13071-015-0662-3
28. **Pineda C. 2012.** Garrapatas y pulgas: llegan con el calor y transmiten enfermedades. Eroski Consumer, el diario del consumidor. [Internet]. Disponible en: www.consumer.com.
29. **Sato M, Veir JK, Shropshire SB, Lappin MR. 2020.** *Ehrlichia canis* in dogs experimentally infected, treated, and then immune suppressed during the acute or subclinical phases. *J Vet Intern Med* 34: 1214-1221. doi: 10.1111/jvim.15750.

30. **Schoen RT. 2020.** Lyme disease: diagnosis and treatment. *Curr Opin Rheumatol* 32: 247-254. doi: 10.1097/BOR.-0000000000000698
31. **Schorderet-Weber S, Noack S, Selzer PM, Kaminsky R. 2017.** Blocking transmission of vector-borne diseases. *Int J Parasitol Drugs Drug Resist* 7: 90-109. doi: 10.1016/j.ijpddr.2017.01.004
32. **Segovia W. 2015.** Principales medidas de morbilidad de hemoparásitos en perros mediante el kit 4Dx IDEXX de 2011 a 2015 en el Hospital Docente Veterinario de la Universidad San Francisco de Quito. Tesis de Médico Veterinario Zootecnista. Guayaquil, Ecuador: Univ. Católica De Santiago de Guayaquil. 59 p.
33. **Severo MS, Stephens KD, Kotsyfakis M, Pedra JH. 2012.** *Anaplasma phagocytophilum*: deceptively simple or simply deceptive? *Future Microbiol* 7: 719-731. doi: 10.2217/fmb.12.45
34. **Silva, D., Starke, B., Alves, M., Paixão, M., Tenorio, M., & López, M. 2014.** Comparative evaluation of several methods for Canine. *Rev Bras Parasitol Vet* 23: 179-186. doi: 10.1590/S1984-29612014033
35. **Soto J, Kruze J, Leiva S. 2002.** Comparison of three different methods for the diagnosis of bovine paratuberculosis in infected dairy herds. *Arch Med Vet* 34: 253-263. doi: 10.4067/S0301-732X2002000200012
36. **Springer A, Montenegro VM, Schicht S, Pantchev N, Strube C, et al. 2018.** Seroprevalence and current infections of canine vector-borne diseases in Nicaragua. *Parasit Vectors* 11: 585. doi: 10.1186/s.13071-018-3173-1
37. **Tateishi V, Lí O, Hoyos L, Rivera H, Manchego A, Barrios L, More J. 2015.** Identificación hematológica y molecular de *Anaplasma platys* en caninos domésticos de Lima Metropolitana con signos clínicos compatibles con anaplasmosis. *Rev Inv Vet Perú* 26: 111-118. doi: 10.15381/rivep.v26i1.10920