



Universidad Nacional del Nordeste
Facultad de Ciencias Veterinarias
Corrientes – Argentina

TRABAJO FINAL DE GRADUACIÓN
-MÓDULO DE INTENSIFICACIÓN PRÁCTICA-

OPCIÓN: CLÍNICA DE PEQUEÑOS ANIMALES

TEMA: “PREVALENCIA DE LEISHMANIOSIS Y COINFECCIONES EN PACIENTES DEL HOSPITAL ESCUELA DE FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS UNNE, DURANTE EL PERIODO DE FEBRERO A DICIEMBRE DE 2018”

TUTOR EXTERNO: Pérez Gianceselli, Mónica.

TUTOR INTERNO: Ludueño, Silvia Fabiana

RESIDENTE: Coletti, Ángel Agustín

e-mail: coletti24@gmail.com

2020

<u>ÍNDICE:</u>	Página
RESUMEN	2
INTRODUCCIÓN.....	3
Leishmaniosis: Antecedentes	3
Prevalencia de Leishmaniosis Visceral Canina y coinfecciones con Hemoparásitos: Antecedentes	5
Hemoparásitos	6
Piroplasmas.....	7
<i>Hepatozoon canis</i>	9
<i>Ehrlichia canis</i>	10
<i>Anaplasmas spp.</i>	11
Micoplasmas hemotróficos	13
<i>Tripanosoma cruzi</i>	15
Filarias	17
Justificación del Trabajo.....	20
Elección de la prueba.....	20
Objetivos.....	22
Objetivo General	22
Objetivos Particulares	22
MATERIALES Y METODOLOGÍA	23
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	25
CONCLUSIÓN	30
BIBLIOGRAFÍA	32

RESUMEN

Durante el periodo de febrero a diciembre de 2018 se estudiaron las prevalencias de leishmaniasis visceral canina (LVC), hemoparasitosis y coinfecciones en el Hospital Escuela Veterinario de Pequeños Animales FCV-UNNE. De los 1328 pacientes caninos ingresados por consultas varias durante el periodo, hubieron 186 con diagnóstico presuntivo a las enfermedades en estudio. Para confirmar el diagnóstico se tomaron muestras de sangre periférica y medula ósea para la confección de frotis teñidos con Giemsa y evaluados por microscopía óptica; además, se extrajo sangre entera para realizar serología (test inmunocromatográfico, rk39) en los presuntivos a LVC. También, se analizó mediante estadística descriptiva las variables sexo, edad y raza, en busca de posible predisposición. En el examen microscópico se obtuvieron 127 resultados positivos, hallándose formas compatibles de los siguientes microorganismos con una frecuencia del 24, 4 % (n=31) *Leishmania spp*, 43,3 % (n=55) *E. canis*, 40,2% (n=51) *Piroplasmas*, 11,8 % (n=15) *H. canis*, 8,7% (n=11) *A. platys*, 19,7% (n=25) *Mycoplasma spp.*. No se encontraron microfilarias (*D. immitis*) ni tripomastigotes (*T. cruzi*) en las muestras analizadas. Del mismo modo se pudo determinar que un 40, 5 % del total de pacientes positivos presentaron dos o más patógenos. El 100% de los infectados con LVC dieron reactivos a la prueba serológica. No se pudo evidenciar predisposición alguna, encontrándose mayor proporción de machos en general (53%), Con respecto a la edad de los pacientes, estuvo comprendida entre 4 meses y 16 años, con una edad promedio de $6 \pm 4,36$ años. En la variable raza el 57% fueron indefinidos, mientras en el 43% restante hubo participación de 13 razas diferentes, con mayor participación de Caniche, Labrador Retriever y Boxer. Asimismo, las prevalencias obtenidas en el presente trabajo fueron: **LVC 2,3%, Ehrlichiosis 4,1%, Piroplasmosis 3,8%, Mycoplasmosis 1,9%, Hepatozoonosis 1,1% y Anaplasmosis Trombocitopenica Ciclica Infecciosa 0,8%**. Se concluye que estas cifras son relativamente bajas si tomamos en cuenta la frecuencia de ectoparasitosis reportadas por otros autores, aunque pueden deberse a la técnica diagnóstica elegida.

INTRODUCCIÓN

Leishmaniosis: antecedentes

Las Leishmaniosis son un grupo de enfermedades parasitarias de distribución mundial causada por protozoos flagelados del género *Leishmania spp.* (Familia Tripanosomatidae, orden Kinetoplastidae) que afectan al ser humano y numerosos vertebrados silvestres y domésticos de regiones tropicales y subtropicales, transmitida por el vector flebótomo denominado “mosca de la arena” (*Phlebotomus spp.* en el viejo mundo y *Lutzomyia spp.* en el nuevo mundo) y más recientemente la garrapata ixodida *Rhipicephalus sanguineus* ha adquirido relevancia en base a los estudios de Coutinho y col., (2005). En el hombre se pueden dar 3 presentaciones clínicas: cutánea (*Leishmania mexicana*, *L. amazonensis*, *L. braziliensis*, etc.), mucocutánea (*L. braziliensis*) y visceral (*L. chagasi*). Estas especies son capaces de producir enfermedad en el perro, aunque la que mayor impacto tiene es *L. chagasi* (transmitida por *Lutzomyia longipalpis*), que produce la llamada leishmaniosis visceral canina (LVC) con afección visceral y cutánea; adoptando éste el rol de reservorio de la enfermedad para la población humana (Ministerio de Salud, 2010; Estévez y Nevot, 2010; Greene, 2008).

En América los casos de leishmaniosis han aumentado en las últimas décadas debido a que las oportunidades de encuentro entre el insecto vector y el humano son más frecuentes. Esto se debe a diversos fenómenos que actúan relacionados: Deforestación, cambio climático, migración humana y animal, urbanización rápida y descontrolada (Ministerio de Salud, 2010; Santini y Salomon, 2012).

En Argentina, se registraron casos de leishmaniosis tegumentarias (cutánea y mucocutánea) en el hombre desde 1916 en provincias del norte. Actualmente se considera área endémica a las provincias de Salta, Jujuy, Tucumán, Catamarca, Santiago del Estero, Chaco, Misiones, Corrientes, Formosa y recientemente Córdoba; con ciclos de transmisión silvestre y peridoméstico, donde el perro tiene un rol secundario respecto a la transmisión de la enfermedad al hombre. Se han encontrado insectos vectores en Santa Fe y Entre Ríos en ausencia de la enfermedad (Ministerio de Salud, 2010; Pizzi y col., 2015).

La leishmaniosis visceral (*L. chagasi*) llegó a Sudamérica con los perros españoles manteniéndose en áreas rurales del norte hasta 1980. La cantidad de casos ha aumentado en los últimos años. Se ha desplazado hacia el sur del continente, tornándose epidémica y urbana. Aunque hubo casos dispersos en la Argentina a lo largo del siglo pasado, el primer caso de leishmaniosis visceral autóctono ocurrió en la provincia de Misiones en 2006. Desde entonces se detectaron focos en Corrientes, Santiago del Estero y Salta. Además, se encontró el vector en Formosa, Chaco y Entre Ríos (Ministerio de Salud, 2010; Santini y Salomon, 2012).

En áreas endémicas, la mayor parte de la población canina infectada son casos subclínicos. Los signos clínicos son muy variables según la respuesta inmunológica del animal, su historia clínica y muchos otros factores desconocidos todavía. El diagnóstico de leishmaniasis canina se basa en la presencia de signos clínicos sugestivos (p. ej., pérdida de peso, dermatitis, pérdida de cabello, úlceras en la boca y la piel, linfadenomegalia, onicogripos y conjuntivitis), que junto a la información epidemiológica, establecen el presuntivo. El diagnóstico directo se realiza mediante la observación microscópica de los amastigotes en macrófagos (tinciones Con Giemsa o Diff-Quick) de frotis de aspirado de un nódulo linfático superficial o aspirado de médula ósea, arrojando ésta última menor número de falsos negativos; o bien tras el cultivo *in vitro* de muestras en los que se favorezca el desarrollo de los promastigotes. Las biopsias de piel son útiles cuando existen lesiones cutáneas, en especial en la leishmaniosis cutánea localizada, ya que en el inicio de la infección (primo-infección) todavía no se ha producido una seroconversión, ni existen variaciones la química sanguínea, ni leishmanias en la médula ósea (Greene, 2008; ESCCAP, 2012). Mediante técnicas inmunohistoquímicas (inmunoperoxidasa) se pueden detectar parásitos en los cortes histológicos con gran sensibilidad y especificidad aumentando hasta un 50% la certidumbre comparada con métodos de rutina (Burna y col., 2017). La técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) ha demostrado una alta sensibilidad, comparada con el cultivo *in vitro*, sin embargo, ésta depende de la calidad de las muestras clínicas. Los aspirados de nódulos linfáticos, especialmente procedentes de animales con linfadenomegalia, son la muestra más adecuada, así como el aspirado de médula ósea y sangre entera, en segundo y tercer lugar respectivamente (Greene, 2008; ESCCAP, 2012). La serología es la técnica diagnóstica de elección ya que es la menos invasiva y permite la detección de anticuerpos específicos en los perros a partir de las 8-

12 semanas post infección, si bien en las infecciones subclínicas este periodo de detección puede alargarse varios años. Se han utilizado distintos métodos para detectar anticuerpos anti-*Leishmania* como la inmunofluorescencia indirecta (IFI), el ensayo inmunoenzimático (ELISA), el Western Blot (WB) o pruebas de aglutinación directa (AD), con una sensibilidad y especificidad variable. Se han desarrollado varios sistemas de inmunocromatografía para estudios de campo, con una sensibilidad razonable en los casos de leishmaniosis clínica pero no para detectar una infección subclínica. Los resultados de estas pruebas serológicas deben interpretarse con cautela en perros vacunados (Dantas-Torres, 2008; Greene, 2008; ESCCAP, 2012; Burna y col., 2017). Burna y col., (2017) indicaron la importancia de aplicar varios procedimientos para llegar a un diagnóstico definitivo de leishmaniosis.

Prevalencia de leishmaniosis visceral canina y coinfecciones con hemoparásitos:

Antecedentes

La prevalencia es una cifra relativa que relaciona el número de animales enfermos (casos nuevos y viejos) con una población susceptible, un espacio y un tiempo determinado; medida de frecuencia de suma importancia en epidemiología descriptiva. En otras palabras, denota la probabilidad de que un animal esté enfermo dentro de una población, en un determinado periodo de tiempo. Es importante resaltar que en estudios epidemiológicos se mide la prevalencia aparente, que es la proporción de individuos positivos a la prueba elegida. Según las características de la prueba (sensibilidad y especificidad), la proporción de positivos resultante estará más o menos aproximada a la prevalencia real (Tarabla y Signorini, 2013). Definido esto y luego de una ardua revisión bibliográfica se ve que existen pocos estudios de prevalencia de LVC y hemoparasitosis, aunque hay bastante casuística y reportes de casos.

Maidana y col., (2011), a través del Servicio de Diagnóstico de Leishmaniosis del Hospital Escuela FCV-UNNE, reportaron la casuística de leishmaniosis en perros de varias localidades de la provincia de Corrientes, encontrándose en Virasoro 27,5%, Ituzaingó 37% y Corrientes Capital 10% de las muestras procesadas (Positivos a la observación microscópica de amastigotes en extendidos de medula ósea y test rápido inmunocromatográfico Kalazar Detect Canine rK 39); mientras que en Santo Tomé obtuvieron 36.6% de reactivos por inmunocromatografía, datos aportados por otras fuentes. En el mismo servicio se halló 28,06% de positivos durante el periodo 2014-

2016 (Maidana y col., 2019). La observación microscópica de extendidos de médula ósea coloreados con Giemsa de canes positivos a *Leishmania spp.* de la ciudad de Corrientes permitió identificar microorganismos como *Ehrlichia canis* y *Hepatozoon canis* (Burna y col., 2017). Un estudio llevado a cabo en la provincia de Salta, mediante microscopía, cultivo y serología, halló 27,4% de prevalencia de LVC (n=208), de los cuales solo el 72% era sintomático y el 16% tubo coinfección con *Trypanosoma cruzi* (Padilla y col., 2002). En San José, Misiones, corroboraron la existencia de leishmaniosis canina mediante las técnicas de punción ganglionar y extracción de sangre entera para serología obteniendo 20% y 48% respectivamente (n=124) durante el año 2016 (Burna y col., 2018). Acosta Soto (2013), encontró en Posadas, Misiones 22,3% de positivos (n=349) mediante estudios directos e indirectos en 2009; el 55% de los canes infectados eran asintomáticos. Cicuttin y col., (2014) informó para el Área Metropolitana de Buenos Aires durante el periodo 2012-2014 el hallazgo de 7 canes positivos por métodos serológicos y moleculares importados de áreas endémicas.

La región nordeste de Argentina reúne las condiciones geográficas y climáticas adecuadas para el asentamiento y diseminación de la LVC (Maidana y col., 2019). Asimismo, comparte distribución con otros artrópodos vectores como pulgas y garrapatas. La LVC es una enfermedad sistémica crónica donde los signos clínicos son muy variables (Estévez y Nevot, 2010; Greene, 2008). Una de las consecuencias es la inmunosupresión que puede favorecer la aparición de infecciones concomitantes; por lo tanto, el cuadro clínico puede complicarse con patologías tales como la demodicosis, piodermias, enfermedad gastrointestinal y neumonía. Son comunes las coinfecciones con hemoparásitos cuando se presenta leishmaniosis en regiones donde aquellos organismos también son endémicos (Greene, 2008).

Hemoparásitos

Los hemoparásitos (bacterias, protozoos y helmintos) son agentes transmitidos por vectores artrópodos, como garrapatas, dípteros (mosquitos, flebotominos, y moscas), piojos y pulgas o por inoculación mecánica directa, pudiendo éstos agentes ser encontrados en los elementos figurados de la sangre o fuera de ellos. Pueden desarrollarse en gran variedad de especies animales salvajes y domésticas, siendo algunas zoonóticas y con una amplia distribución mundial (Alleman, 2017; ESCCAP, 2012).

Algunos autores estudiaron la presencia de vectores artrópodos de importancia en caninos domésticos de nuestro país. Debárbora y col., (2011) comunicaron un 63,04% de Ixodidosis en Corrientes desde abril de 2009 a marzo 2010; el 71% de las muestras fue obtenido del área urbana, con participación de tres especies de garrapatas: *Amblyomma tigrinum*, *A. ovale* y *R. sanguineus*. Oscherov y col., (2011) encontraron una prevalencia del 90% para garrapatas y 56% para pulgas en la misma provincia. González y col., (2004) informaron que en el 100% (n=116) de los perros estudiados en el área rural de Buenos Aires en 2002, encontraron: *Ctenocephalides canis*, *Linognathus setosus*, *Heterodoxus spiniger* y *R. sanguineus*; en donde observaron infestaciones simples (3,4%), dobles (39,6%) y triples inclusive (56,9%).

La alta prevalencia de ectoparásitos en perros hace sospechar la presentación de coinfección con hemoparásitos. Éstos, causan cuadros inespecíficos, que en su etapa clínica se manifiestan principalmente con fiebre, anemia, coagulopatías y paresias de origen locomotor o nervioso; mientras subclínicamente la trombocitopenia es el hallazgo más frecuente (Green, 2008; Gómez y Guida, 2010; Barr y Bowman, 2007).

En Argentina, diferentes autores reportan la presencia de hemoparásitos como: piroplasmas, *H. canis*, *E. canis*, *Anaplasmas spp.*, micoplasmas hemotróficos, *T. cruzi* y filarias.

Piroplasmas

Los piroplasmas son protozoos llamados así por su semejanza con las peras, del filo apicomplexa (Gómez y Guida, 2010). Las especies de interés pertenecen a la familia babesiidae, con participación del género *Babesia spp.* de distribución mundial, y *Rangelia vitalii* que hasta la fecha solo se ha descripto en Brasil, Uruguay y Argentina (Lemos y col., 2017). Con respecto a las especies del género *Babesia*, se clasifican por su tamaño en grandes cuando sus merozoítos superan las 2,5µ (*Babesia vogeli*, *B. canis* y *B. rossi*) y pequeñas (*B. gibsoni* y *B. annae*) cuando no lo hacen (Greene, 2008; ESCCAP, 2012). Afectan principalmente a los glóbulos rojos causando hemolisis intravascular (*R. vitalii*, un piroplasma grande, no solo afecta eritrocitos, se han encontrado sus merozoítos en endotelios, macrófagos y fibroblastos), y son transmitidas por la picadura de garrapatas ixodidas (*R. sanguineus* y *A. aureolatum* para *B. vogeli* y *Ra. vitalii*, respectivamente). Tanto *Babesia spp.* como *Ra. vitalii* son generalmente parásitos de huéspedes específicos, tanto respecto a la especie de

garrapata que lo transmite como en el mamífero hospedador, por ende las áreas endémicas de piroplasmosis canina se corresponden con las áreas de distribución de su vector transmisor (ESCCAP, 2012; Lemos y col., 2017).

La piroplasmosis puede ser subclínica o puede seguir un cuadro hiperagudo, agudo o crónico (Greene, 2008; ESCCAP, 2012; Lemos y col., 2017). Rangeliosis y babesiosis canina comparten la mayoría de signos clínicos, a excepción del sangrado cutáneo espontáneo de orejas u otras áreas de piel, muy frecuente en la primera; de ahí la denominación popular “nambi-uvú” que significa orejas sangrantes (Lemos y col., 2017). El diagnóstico de un cuadro agudo se puede confirmar con una sensibilidad muy alta mediante un frotis sanguíneo de sangre periférica capilar (tinción de Giemsa o Diff-Quick) en el que se observan los merozoítos, de tamaño grande (piriforme, individual o de a pares) o pequeño (circular, individual o en tétrada “cruz de malta”). El diagnóstico de las infecciones crónicas o de los perros portadores es un desafío en cuanto a los parámetros clínicos, debido a la baja, y a veces intermitente, parasitemia que presentan los animales (ESCCAP, 2012). *Ra. vitalii* es morfológicamente idéntica a otros piroplasmas como *B. vogeli* y la diferenciación entre estas especies solo es posible mediante detección molecular (Lemos y col., 2017). Se ha comprobado que la sensibilidad de la PCR es superior a la de los frotis sanguíneos sobre todo en aquellos perros con infección crónica, sin embargo no elimina completamente los falsos negativos. La identificación de la especie de piroplasma es importante para el diseño de la terapia y la valoración pronóstica. Pruebas serológicas (IFI) son útiles transcurridas dos semanas después de la primoinfección, y por tanto, las infecciones agudas pueden pasar desapercibidas si se confía en esta técnica diagnóstica. en áreas endémicas, la seropositividad no es sinónimo de enfermedad y puede darse en un número muy elevado de perros que han estado en contacto con el parásito pero que no están enfermos (ESCCAP, 2012).

Durante el periodo 2003-2014, en Buenos Aires, se encontró 0,25% de prevalencia por microscopía óptica para *B. vogeli*, mientras por PCR fue del 1,03% (n= 120567). En el mismo estudio el autor informa sobre 3 casos positivos a *B. gibsoni* provenientes de Salta (Eiras, 2018). Linares y col., (2014) reportaron la presencia de babesiosis canina en la provincia de Mendoza. *Ra. vitali* fue hallada por microscopía y PCR en Misiones en el 2011 (Eiras y col., 2014) y en Entre Ríos en 2013 (Sanchez y col., 2013).

Hepatozoon canis

Es un protozoo apicomplejo de la familia de los Hepatozoideos, transmitido por la ingestión de garrapatas infectadas (*R. sanguineus*), agente causal de la hepatozoonosis canina en regiones tropicales, subtropicales y templadas del mundo, con tropismo por tejidos hemolinfáticos (Greene, 2008).

La hepatozoonosis canina es una enfermedad parasitaria crónica que afecta muchos órganos y que, de acuerdo a sus lesiones o al estado de inmunosupresión, va a ser la gravedad que reviste. Muchas veces pasa desapercibida en los pacientes si no es buscada por el clínico, debido a que los signos que origina son bastantes inespecíficos y compartidos con una gran cantidad de enfermedades parasitarias e infecciosas. Se presenta principalmente con hipertermia persistente de 40°C, anorexia, decaimiento, letargia, mucosas anémicas, caquexia, convulsiones, dolor muscular y articular, principalmente de los miembros, dificultando la marcha; siendo más graves en cachorros menores de 1 año de edad y en perros gerontes. Cuando está asociada a estados de inmunosupresión o a otras enfermedades infecciosas, especialmente babesiosis, ehrlichiosis, toxoplasmosis, hemobartonelosis, criptococosis y enfermedades virales como distemper y parvovirus canina, los signos clínicos se hacen más evidentes pero son menos específicos pudiendo llegar a causar la muerte. También, se ha observado que no siempre que exista infección por *H. canis* va a estar acompañado de signos clínicos, es decir, puede ser asintomática, donde el parásito es hallado en leucocitos de caninos clínicamente sanos (Greene, 2008; Adagio y col., 2014).

El diagnóstico presuntivo se basa en los signos clínicos y la presencia de garrapatas en el paciente, ya sean actuales o con anterioridad. La certeza diagnóstica se logra al visualizar los esquizontes en distintos órganos o tejidos (biopsia de ganglios, bazo y médula ósea) y por la presencia de gamontes en neutrófilos y monocitos en extendidos sanguíneos. Como el porcentaje de parasitación es muy variable, se recomienda revisar de 500 a 5.000 glóbulos blancos en cada preparado. Se recomienda extraerla con tubo de microhematocrito de modo tal que se facilite la concentración de los glóbulos blancos (Buffy coat) para aumentar la sensibilidad. Se pueden colorear por distintas técnicas: May Grunwald, Giemsa, Diff- Quik. Los gamontes se observan en el centro del citoplasma de neutrófilos y monocitos, comprimiendo su núcleo hacia la membrana celular. Son de forma elipsoidal y miden alrededor de 11 x 4 micras. La determinación

de anticuerpos anti *H. canis* se realiza a través del test de ELISA o IFI. La reacción de PCR es la técnica más actual para el diagnóstico de esta enfermedad, la cual nos permite identificar y diferenciar si el agente causante es *H. canis* o *H. americanun* (agente presente en EE.UU caracterizado por ser de mayor gravedad)

H. canis fue descrito por primera vez en Buenos Aires en 1999 (Esarte y col., 1999), pero recién en 2007 se reportó la caracterización molecular (Eiras y col., 2007). En la misma provincia, durante el periodo 2003-2014 se encontró 2,3% de prevalencia por microscopía óptica (Scodellaro, 2015). Se comunicaron hallazgos en Chubut, Mendoza, Salta, Santa Cruz, San Luis, Santa Fe y La Pampa (Ruiz y col., 2013; Adagio y col., 2014; Scodellaro, 2015; Linares y col., 2014). Se encontró coinfección con *H. canis* en el 9% de pacientes positivos a babesiosis (Eiras, 2018)

Ehrlichia canis

Es una bacteria intracelular obligada gramnegativa (orden Rickettsiaceae, familia Anaplasmataceae) que infecta principalmente linfocitos y monocitos, agente causal de la ehrlichiosis monocitotrópica canina (EMC). Transmitida principalmente por la picadura de la “garrapata marrón del perro” (*R. sanguineus*) (Greene, 2008).

El curso de la EMC se caracteriza por 3 fases: **Fase aguda**, 1 a 3 semanas post inoculación, caracterizada por signos clínicos leves e inespecíficos con recuperación espontánea, pueden ser seronegativos; **Fase subclínica**, puede durar desde meses hasta años, los canes son seropositivos; y **Fase crónica**, es una recaída con signos clínicos, depende de diversos factores pudiendo ocurrir en el 10% a 20% de los perros infectados (Alleman, 2017; Greene, 2008; ESCCAP, 2012). *E. canis* se multiplica en células blancas mononucleares por fisión binaria formando las características “mórulas” en su interior. Las células infectadas se adhieren a los endotelios de diversos órganos (pulmones, riñones y meninges principalmente) provocando vasculitis e infección del tejido subendotelial; a esto se puede sumar el daño por inmunocomplejos en la etapa crónica (Greene, 2008; ESCCAP, 2012).

El diagnóstico presuntivo de la infección por *Ehrlichia* se basa en la combinación de una anamnesis muy completa para evaluar la exposición a la infestación por garrapatas, la valoración de los signos clínicos, parámetros hematológicos y bioquímicos. Se confirma el diagnóstico cuando en un frotis sanguíneo puede observarse la mórula en el

interior de los linfocitos o monocitos. Como aproximadamente solo el 4% de estas células están infectadas en la fase aguda, se puede incrementar la sensibilidad realizando extensiones de la capa leucocitaria del capilar microhematocrito (Buffy Coat). La sensibilidad diagnóstica a partir de la extensión leucocitaria y la citología de nódulo linfático es del 66% y 61%, respectivamente. La seroconversión tiene lugar entre una y cuatro semanas después de la exposición, por tanto los perros con infecciones agudas pueden ser seronegativos durante este periodo. Los anticuerpos pueden detectarse mediante IFI o ELISA. En las áreas endémicas, se recomienda hacer pruebas pareadas con intervalo de una o varias semanas y observar si hay un incremento del título de anticuerpos que confirmaría la infección en curso. Ya están disponibles en el mercado algunas pruebas de diagnóstico rápido para los profesionales de las clínicas. Respecto a las pruebas moleculares, un resultado positivo en la prueba de PCR confirma la infección, sin embargo, un resultado negativo no la excluye (Alleman, 2017; Greene, 2008; ESCCAP, 2012).

Pese a que *R. sanguineus* de linaje templado, hallada en zona centro de Argentina, Chile y Uruguay, no demostró tener capacidad vectorial para *E. canis* bajo condiciones experimentales (Moraes y col., 2015); Eiras y col., (2013) detectaron 6 canes positivos (6,9%) por PCR de 86 muestras estudiadas en la provincia de Buenos Aires en 2012, mientras Cicuttin y col., (2016) informaron 13,4% de infección para el periodo 2012-2014. También se reportaron hallazgos por pruebas moleculares en perros de Santa Fe y San Luis (Tarragona y col., 2019; Aubert y col., 2016) y en *R. sanguineus* de linaje tropical recolectadas en perros de Formosa (Cicuttin y col., 2015). Se documentó coinfección con *H. canis* y *B. vogeli* (Eiras y col., 2013).

Anaplasmas spp.

El género está compuesto por bacterias intracelulares obligadas gramnegativas (orden Rickettsiaceae, familia Anaplasmataceae) transmitidas por la picadura de garrapatas ixodidas. *Anaplasma platys* infecta a trombocitos, agente causal de la trombocitopenia cíclica infecciosa (TCI); y *A. phagocytophilum* afecta a neutrófilos y eosinófilos, causando la enfermedad llamada anaplasmosis granulocitotrópica canina (AGC). Ambos agentes evolucionan dentro de las células blanco hacia colonias típicas (mórulas) que pueden observarse en el microscopio óptico (Greene, 2008). Las mórulas de *A. phagocytophilum*, son indistinguibles de *E. canis* cuando son vistas en

neutrófilos, además el primero provoca mayores parasitemias que el segundo (ESCCAP, 2012).

La transmisión natural de *A. platys* aún no está completamente definida, *R. sanguineus* podría estar implicada. La TCI puede ser subclínica o clínicamente débil. El cuadro clínico se caracteriza por fiebre, anorexia, algunas veces petequias o epistaxis; signos que aparecen a la primera o segunda semana de la infección. Los periodos trombocitopénicos se dan en ciclos de dos semanas, correspondiéndose con picos de elevada bacteremia al comienzo; en los ciclos posteriores, solo el 1% de las plaquetas están afectadas mientras que en los episodios trombocitopénicos permanecen al mismo nivel. Con el tiempo, la gravedad de la trombocitopenia disminuye (Alleman, 2017; Greene, 2008; ESCCAP, 2012).

Se ha descrito la transmisión transtadial de *A. phagocytophilum* en garrapatas del genero *Ixodes spp.* La AGC se caracteriza por signos clínicos inespecíficos (al igual que otras hemoparasitosis) como: letargia, anorexia y fiebre; cojera (poliartritis), mucosas pálidas, tensión abdominal, diarrea, vómitos, hemorragias petequiales, taquipnea, esplenomegalia, linfadenomegalia; en algunas ocasiones tos, uveítis, edema en las extremidades, polidipsia, signos neurológicos, etc. (Alleman, 2017; Greene, 2008; ESCCAP, 2012). Por esto es necesaria la identificación del agente causal para aplicar el tratamiento específico y establecer el pronóstico probable.

El diagnóstico de la infección por *Anaplasma spp.* se basa en la exposición a la infestación por garrapatas presente o el antecedente de la misma, los signos clínicos y las pruebas de laboratorio. La serología (IFI o ELISA) detecta anticuerpos luego de la seroconversión (entre 1 y 4 semanas post exposición). En áreas endémicas, ante la obtención de resultados negativos, se necesitan dos o tres análisis serológicos para confirmar el cuadro agudo. Un resultado positivo en un sólo análisis serológico junto con los signos clínicos no es evidencia suficiente para diagnosticar una anaplasmosis. La PCR es muy efectiva para detectar las infecciones agudas (infección antes de la seroconversión), pero puede dar falsos negativos en perros infectados subclínicamente. El diagnóstico definitivo se confirma cuando en un frotis sanguíneo puede observarse la mórula en el interior de los neutrófilos (en algunas ocasiones en el interior de los eosinófilos) (*A. phagocytophilum*) o de las plaquetas (*A. platys*). La técnica de Buffy

Coat incrementa la sensibilidad diagnóstica (Alleman, 2017; Greene, 2008; ESCCAP, 2012).

Se identificó por pruebas moleculares *A. platys* y *A. phagocytophilum* en garrapatas *R. sanguineus* recolectadas de perros en la provincia de Corrientes (Oscherov y col., 2011). Eiras y col., (2013) hallaron por PCR 20,9% de prevalencia para *A. platys* en perros de la provincia de Buenos Aires; en el mismo estudio se halló coinfección con *E. canis*, *B. vogeli* y *H. canis*. Otros autores realizaron estudios moleculares para detección de *A. platys* en muestras de sangre canina y garrapatas, reportando 37% y 13% de positivos respectivamente para la misma provincia (Cicuttin y col., 2014). De 70 muestras de perros de Santa Fe y Córdoba se obtuvieron 15,7% de positivos a *A. platys* por PCR, a pesar de que el microorganismo estuvo ausente en los extendidos sanguíneos; todos los infectados por *A. platys* tenían infección coexistente con *Mycoplasma spp.* (Mascarelli y col., 2016). Aun no se caracterizó *A. phagocytophilum* en perros de Argentina.

Micoplasmas hemotróficos

Los micoplasmas hemotróficos se clasifican dentro del género *Mycoplasma spp.* (clase Mollicutes, familia Mycoplasmataceae), también llamados “hemoplasmas”, son bacterias pleomórficas que han perdido su pared celular, parásitos epiteliales obligados de eritrocitos de animales y el hombre. Miden menos de 1µ de diámetro, son pleomórficos y pueden observarse como cocos, bastones o anillos sobre la superficie de glóbulos rojos; solos o en cadena que se colorean mediante tinción Giemsa. En perros y gatos se demostró transmisión por picadura de garrapatas (transovarica y transtadial), pulgas, iatrogénica e ingestión oral de sangre infectada; la vía transplacentaria y lactogénica pueden ser posibles (Greene, 2008; Gómez y Guida, 2010).

Mycoplasma haemocanis (antes *Haemobartonella canis*), principal agente de la micoplasmosis canina, se adhieren a la superficie del eritrocito, y tienen el potencial de causar graves alteraciones en la forma de la célula, dando lugar a anemias por destrucción de glóbulos rojos a través del sistema retículo endotelial del bazo. La enfermedad clínica en los perros se puede dar de dos formas. La forma aguda con palidez de mucosas debido a la anemia pronunciada, anorexia, letargo, pérdida de peso, inapetencia y fiebre, que se manifiesta en individuos esplenectomizados, inmunodeprimidos o con infección coexistente. La forma crónica o latente, se da en

perros no esplenectomizados en los que los signos clínicos de la enfermedad no son evidentes, los microorganismos se encuentran sólo periódicamente, y en baja carga en la sangre. También, fue descripta la especie *M. haematoparvum*, que posiblemente se comporte en forma similar a *M. haemocanis*, aunque podrían existir diferencias de patogenicidad entre los micoplasmas que afectan a la misma especie animal (Greene, 2008; Ortiz, 2016).

El diagnóstico de la infección por *Mycoplasma spp.* en los perros es actualmente problemático, ya que la enfermedad puede ser clínicamente inaparente y a la ciclicidad de la parasitemia; especialmente en ausencia de la esplenectomía, inmunosupresión, o enfermedad coexistente. El microorganismo puede ser visualizado mediante el uso de tinciones tales como Giemsa, Wright y azul de metileno. Hoy en día, se conoce que la bacteria puede estar ausente en la sangre circulante, incluso cuando el perro tiene la infección. El diagnóstico microscópico puede verse obstaculizado por la presencia de punteado basófilo, o cuerpos de Howell-Jolly (pequeño residuo nuclear que generalmente aparece en animales esplenectomizados). Se han desarrollado ensayos basados en PCR para identificar a *M. haemocanis*; se asume que esta prueba es lo suficientemente sensible como para identificar animales con infecciones subclínicas (Greene, 2008; Ortiz, 2016).

Se presentó un caso compatible con *M. haemocanis* en Buenos Aires, con antecedente de esplenectomía, diagnosticado por signología y formas compatibles en frotis de sangre periférica, a principios del 2015 (Ortiz, 2016). Mascarelli y col., (2016) analizaron 70 extendidos sanguíneos de perros clínicamente sanos de Santa Fe y Córdoba, encontrando 81% (57/70) de estructuras morfológicamente compatibles con micoplasmas hemotrópicos. Mientras que por PCR hallaron una prevalencia general para hemoplasmas de 77,1%, encontrándose las siguientes especies: *M. haemocanis*, *M. haematoparvum* y *M. suis*; con una prevalencia del 48,6%, 31,4% y 2,9%, respectivamente. Del total de infectados por *M. haemocanis*, se halló co-infección con *A. platys* (8,6%) y *B. vogeli* (3%). Un estudio en la Patagonia Argentina (Santa Cruz) durante el periodo 2010-2015, sobre 49 zorros grises y sus pulgas (*Pulex irritans*), encontró ADN de hemoplasmas en un 18% de los primeros y 29% de las segundas, incluyendo *M. haemocanis* (Millan y col., 2019).

Trypanosoma cruzi

T. cruzi es un protozoo flagelado (filo Sarcomastigophora, familia Tripanosomatidae) agente de la tripanosomiasis americana, también conocida como enfermedad de Chagas-Mazza. Es una zoonosis que afecta a los seres humanos y gran variedad de animales domésticos y salvajes de América, la cual tiene como vector a insectos hematófagos vulgarmente conocidos como “vinchucas” (*Triatoma infestans* principalmente en Argentina). Los perros actúan como reservorios intra y peridomiciliarios (Greene, 2008; Gómez y Guida, 2010).

Además de la vía clásica a partir de vectores parasitados, la transmisión oral en las especies animales representa un mecanismo mucho más efectivo, cuando el perro come el insecto o presas infectadas. También, son posibles la acción de lamer superficies contaminadas con deyecciones de *Tri. infestans*, la vía intrauterina, galactógena y transfusiones sin el debido control (Rosas y col., 2016; Greene, 2008; Gómez y Guida, 2010). *T. cruzi* se adhiere a las células del hospedador mamífero, impide la formación del fagolisosoma generando la lisis de la vacuola, y consecuentemente la liberación del parásito para replicarse en el citoplasma, preferentemente de células musculares y nerviosas (Peña Sánchez, 2019). La enfermedad de Chagas evoluciona en tres etapas: aguda, indeterminada y crónica. Si bien en los animales silvestres la afección transcurre en forma clínicamente inaparente, en el perro es a veces sintomática. En la etapa aguda que dura 2 a 4 semanas, se evidencian letargo, mucosas pálidas, linfadenopatía generalizada, tiempo de llenado capilar prolongado, hepatoesplenomegalia. Es en esta etapa cuando puede aparecer la muerte súbita, debido a la masiva destrucción de miocardio por la colonización de amastigotes. En la etapa indeterminada (o latente), *T. cruzi* se encuentra parasitando los órganos afectados, ya que la respuesta inmune específica resolvió la parasitemia. En la etapa crónica se observa signos de insuficiencia cardíaca biventricular (pulso débil, ascitis, derrame pleural, distensión venosa, etc.). De manera experimental también se documentó megalovisceras (megaesofago, megacolon) y alteraciones del sistema nervioso central (Rosas y col., 2016, Greene, 2008; Gómez y Guida, 2010).

Para el diagnóstico en los estadios iniciales (día 5 a 42 post-infección) es posible emplear métodos de examinación parasitológica en busca de tripomastigotes como: examen directo, gota gruesa, frotis sanguíneo, técnicas de concentración de Strout y la

técnica del tubo capilar de Woo. Procedimientos como el hemocultivo y el xenodiagnóstico poseen mayor sensibilidad que los anteriores por el uso de mayores volúmenes de sangre y el efecto de la multiplicación del parásito, teniendo utilidad incluso en la etapa crónica. Es posible hallar parásitos, o lesiones compatibles con tripanosomiasis, en muestras de biopsia (miocardio, musculo esquelético, linfonódulos, estómago, intestino delgado) teñidos con hematoxilina-eosina. También existen métodos serológicos como IFI, ELISA e inmunocromatografía, útiles a partir del día 21 post infección. Los métodos moleculares como el PCR poseen sensibilidad variable, cercana al 91%, y alta especificidad (Peña Sánchez, 2019; Gómez y Guida, 2010). Enríquez y col., (2013) reportaron que PCR es ligeramente más sensible que el xenodiagnóstico en perros seropositivos (91% vs 86%).

Estudios serológicos en perros de áreas rurales de la provincia de Córdoba en la década del 80 arrojan 74% de reactividad a *T. cruzi* con 68% de parasitémosis por xenodiagnóstico (Ruiz y col., 1985). Mientras en la provincia del Chaco se cuantificaban prevalencias que iban del 17% al 37% por métodos indirectos (de Gorodner y col., 1985) y casos positivos en Santiago del Estero en la misma década (Gurtler y col., 1988). Con el paso del tiempo la seroprevalencia global en la población canina se mostró en descenso en lugares como Santiago del Estero (65% en 1992, 38,5% en 1994, y 15,2% en 1996), debido a la toma de medidas de control y prevención (Castañera, 1999). Aunque, recientemente, se halló 60% de prevalencia canina por serología y xenodiagnóstico para la provincia antes nombrada (Gurtler y col., 2006). En Córdoba y Salta, se buscó la presencia de *T. cruzi*, hallándose seropositividad del 11 y 28%, respectivamente (Graiff y col., 2009; Binda y col., 2016). En Chaco se presentó un caso clínico confirmado por microscopia de extendido sanguíneo, hemoaglutinación indirecta y PCR (Rosas y col., 2016).

Estudios efectuados en diferentes áreas rurales de la provincia de Corrientes, desde principios de los 80, demuestran que tanto la infestación doméstica por *Tr. infestans* como la seroprevalencia humana al *T. cruzi*, presentan valores diversos en los Departamentos San Luis del Palmar, San Miguel, Ituzaingó, Empedrado, Concepción, San Roque, General Paz, Berón de Astrada y Mburucuyá (Bar y col., 1997; Bar, 2008; Bar y col., 2010a; Bar y col., 2010b); no se estudió la presencia del parásito en la población canina.

Filarias

Las filarias son nematodos parásitos, comúnmente conocidos como gusanos redondos; algunos transmitidos por mosquitos son de gran importancia médica y/o veterinaria (Vezzani y col., 2006). Los ejemplos mejor conocidos son los filáridos de los géneros *Wuchereria*, *Brugia* y *Dirofilaria*. En Argentina, entre los nematodos transmitidos por mosquitos (*Culex pipiens* y *Aedes aegypti*, principalmente), solo se han registrado especies del género *Dirofilaria* (Orden Spirurida, Familia Onchocercidae) (Vezzani y col., 2006; Vezzani y Eiras, 2016). Otra filaria, *Acanthocheilonema reconditum* ha sido documentada en perros de nuestro país. Es transmitida por pulgas y garrapatas, se aloja en el subcutáneo de los animales hospedadores. La mayoría de los perros infectados por éste nematodo son asintomáticos (Vezzani y col., 2006; ESCCAP, 2012).

Dirofilaria immitis, agente causal de la “Enfermedad por gusano cardíaco”, ingresa al mamífero hospedador como larva a través de la picadura de mosquitos infestados. Las larvas (microfilarias) inoculadas migran por los tejidos por 2 o 3 meses, luego pasan al corazón y los pulmones, donde alcanzan la madurez sexual y se aparean. Tras el apareamiento la hembra adulta libera microfilarias al torrente sanguíneo del huesped (6 o 7 meses post infección). Los gusanos adultos localizados en la arteria pulmonar y ventrículo derecho, producen daño endotelial y proliferación de la mioíntima. El cuadro clínico es complejo y potencialmente fatal, de curso crónico y de evolución progresiva, aunque también puede cursar de forma aguda en animales altamente parasitados. Inicialmente, la infestación no presenta sintomatología y esta empieza a mostrarse en cuadros avanzados de la enfermedad. La tos no productiva y crónica, que se acentúa después del ejercicio, es el síntoma más habitual en perros afectados, junto con disnea o taquipnea, intolerancia al ejercicio, pérdida de peso y síncope. Otros signos clínicos pueden ser: hemoptisis, epistaxis, letargia, apatía, hiporexia, ascitis y derrame pleural. La presentación y gravedad (Clases I, II, III o IV) va a depender del número y tamaño de las filarias presentes, y la respuesta del animal hospedador. La enfermedad avanzada se caracteriza por síndrome caval y en ocasiones, aparecen complicaciones como tromboembolismo y shock (Barr y Bowman, 2007; ESCCAP, 2012; Gómez y col., 2017).

En áreas endémicas, la dirofilariosis canina debe tenerse en cuenta en el diagnóstico diferencial de pacientes con signos cardiopulmonares. El diagnóstico se basa en la

detección serológica de antígenos circulante del parásito adulto (ELISA e inmunocromatografía), siendo de alta especificidad. La sensibilidad también es muy elevada y puede verse afectada por la cantidad de parásitos, la edad del parásito, el tamaño del perro o la calidad del test. La detección de microfilarias circulantes se basa en la observación directa en sangre, gota gruesa, frotis sanguíneo, o mediante diferentes métodos de concentración (técnicas de concentración de Strout y la técnica del tubo capilar de Woo). La identificación de las microfilarias se considera prueba de una infección específica, aunque hasta un 30% de los perros no presentan microfilarias circulantes a pesar de albergar parásitos adultos. Por tanto, resultados negativos en esta prueba no descartan una infección. Debe tenerse en cuenta que la intensidad de la microfilaremia no se correlaciona con la carga parasitaria de vermes. La diferenciación morfológica (técnica de Knott o filtración) de las microfilarias es, a menudo, dificultado el solapamiento de las longitudes de la mayoría de las especies. Sin embargo, se puede realizar una diferenciación de las microfilarias mediante la tinción de fosfatasas ácidas o mediante técnicas moleculares (PCR). Los métodos complementarios (radiografía de torax, ecocardiografía, electrocardiograma, análisis clínicos), no solo permiten sospechar de la patología, sino también establecer la gravedad de la infestación, el tratamiento más adecuado y pronóstico probable (Barr y Bowman, 2007; ESCCAP, 2012; Gómez y col., 2017).

El primer registro formal de *D. immitis* en el país data de 1931 en el norte de Santa Fe. A partir de 1983, varios estudios estimaron prevalencia de *D. immitis* en perros de Santa Fe, Corrientes, Buenos Aires, Formosa, Chaco, Misiones y Entre Ríos (0,72 al 36%). Al igual que lo observado en otros países, los rangos de prevalencias difieren mucho entre provincias e incluso entre localidades de la misma provincia, siendo 8 % la estimación más plausible a nivel nacional, y 74 % el mayor valor observado para un ambiente rural en Formosa (Vezzani y col., 2006).

Durante la última década, nuevos estudios han aportado información que permite ampliar la distribución geográfica del parásito. El primero corresponde a Salta, donde se encontraron ocho perros positivos a *D. immitis* (7,7%, n=104). El segundo estudio reporta un 2 % de prevalencia en Córdoba. También, fue detectado un 58 % (n = 107) de prevalencia por serología en perros domésticos de ambientes rurales de la provincia de Santiago del Estero. Mediante técnicas morfológicas y moleculares, se confirmó la presencia de *D. immitis* en las provincias de San Juan y Mendoza; siendo en esta última

0,3% la prevalencia canina (n=850) (Vezzani y Eiras, 2016). Eiras (2018) reportó para Buenos Aires durante el periodo 2003-2014, el hallazgo de co-infección por *D. immitis*, mediante la técnica de Woo, en el 1,3% de los caninos positivos a babesiosis en muestras de frotis sanguíneos.

Existen pocos datos sobre *Ac. reconditum* en nuestro país, fue identificada por primera vez en 1947 a través de métodos morfológicos en Buenos Aires, luego solo hay reportes de casos aislados en la misma provincia y el informe sobre 2,4% de prevalencia en provincia de Formosa a finales del siglo XX (Vezzani y col., 2006; ESCCAP, 2012).

Justificación del trabajo

Estas infecciones están despertando atención especial en los últimos años en la Medicina Veterinaria, debido a diferentes causas, entre las que podemos mencionar: la aparición o detección de nuevos agentes patógenos transmitidos por vectores artrópodos que hasta ahora no se les daba mucha importancia; al hecho de que agentes infecciosos descritos en otras zonas ahora son descubiertos en lugares muy diversos y distantes producto de la globalización; al incremento en el número de casos en los que se diagnostican múltiples coinfecciones en el mismo perro y al uso de nuevas técnicas de diagnóstico de alta sensibilidad que permiten identificar agentes infecciosos que hasta ahora, con los métodos tradicionales, no era posible. La leishmaniosis y hemoparasitosis caninas provocan graves padecimientos físicos a los perros, además del impacto psicológico y económico que sufren los propietarios junto al deterioro del animal, que en ocasiones llega a la muerte. También, debido al hecho de que la mayoría de estas enfermedades son zoonosis y al estrecho vínculo humano/animal existente.

Según un artículo publicado en DIARIO NORTE (2013), titulado “Ciudades superpobladas de animales callejeros”, el cual estima que en el área urbana de Corrientes Capital y Resistencia, Chaco; hay 6 perros por cada 10 personas. Mientras, según el Censo Poblacional de 2010 la ciudad correntina cuenta con 346334 habitantes (INDEC, 2010). De acuerdo con estos datos se podría especular una población canina expuesta de aproximadamente 207.800 individuos, solo en la capital correntina.

Por estas razones se realizó este trabajo para determinar la prevalencia de LVC y hemoparásitos en caninos del Hospital Escuela Veterinario de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la UNNE; y así conocer en qué porcentaje los canes que asisten a esta institución están siendo afectados por estas enfermedades y como Médicos Veterinarios estar preparados para realizar pruebas diagnósticas y sus lineamientos terapéuticos específicos. Además, poder establecer medidas de prevención y control epidemiológico en las demás mascotas para evitar la propagación de dichas enfermedades y minimizar a su vez un posible contagio al ser humano.

Elección de la Prueba

En el caso de estudios poblacionales donde el interés este dado en la estimación de una prevalencia y no en una toma de decisión a nivel individual, los falsos positivos y los

falsos negativos no tienen una consecuencia directa sobre los individuos que componen la población pero si en la sobre o subestimación del parámetro poblacional. Aunque una moderada falta de sensibilidad no es de gran importancia, si lo es la falta de especificidad (eleva la proporción de falsos positivos), porque puede llevar a una sobrestimación de la prevalencia real. Esta prevalencia inflada quizá sobredimensione la magnitud del problema, especialmente en los casos en que se toman medidas sanitarias de alto costo. De cualquier manera, la selección del método diagnóstico a utilizarse para estudios poblacionales no solo debe basarse en la sensibilidad y especificidad de la prueba sino también en su simpleza y su costo directo. También es interesante tener en cuenta costos indirectos de la elección de una prueba u otra, que dependerá del costo de dejar un animal infectado en la población (falso negativo) comparado con el costo de tratar animales falsos positivos (Tarabla y Signorini, 2013).

La microscopía óptica de extendidos sanguíneos de sangre periférica y médula ósea es un método directo de sensibilidad variable, siendo baja para detectar infección crónica o subclínica (escasa o nula parasitemia) y un poco más elevada en cuadros agudos (dependiendo de la hemoparasitosis buscada, su utilidad varía desde apreciable en casos de piroplasmosis o micoplasmosis, a casi nula en tripanosomiasis o hepatozoonosis). Su especificidad es relativamente alta (Greene, 2008; Gómez y Guida, 2010; Barr y Bowman, 2007; ESCCAP, 2012; Gómez y col., 2017; Alleman, 2017).

Además, es una técnica de bajo costo que no requiere de gran inversión en insumos e infraestructura en comparación a otros procedimientos de mayor sensibilidad y especificidad (por ejemplo: métodos moleculares), por lo que es útil como complemento del diagnóstico en la clínica diaria.

La prueba Kalazar Detect™ Canine para la leishmaniasis visceral (VL) es una inmunocromatografía rápida en tira de ensayo para la detección cualitativa de anticuerpos (método indirecto), mediante el uso de antígeno recombinante rk39 específico para miembros del complejo *L. donovani* (*L. chagasi infantum*) en suero canino ayudando en el diagnóstico presuntivo de LVC (Inbios Internacional, 2009).

Para estudios epidemiológicos es preciso tener un profundo conocimiento de las virtudes y limitaciones de la prueba a utilizar a la hora del diseño del relevamiento como de la interpretación de los resultados (Tarabla y Signorini, 2013).

OBJETIVOS

Objetivo General:

- ❖ Evaluar la prevalencia de Leishmaniosis Visceral Canina y coinfecciones por hemoparásitos en pacientes caninos atendidos en el Hospital Escuela de la FCV-UNNE durante el periodo de febrero a diciembre de 2018.

Objetivos Particulares:

- ❖ Identificar formas compatibles con hemoparásitos a través de microscopía óptica de punciones con aguja fina (PAAF) de médula ósea y de sangre periférica.
- ❖ Evaluar la prevalencia de las hemoparasitosis solas y asociadas.
- ❖ Analizar posibles factores predisponentes.

MATERIALES Y METODOLOGÍA

Lugar de Estudio: este trabajo se llevó a cabo en el Hospital Escuela de Facultad de Ciencias Veterinarias UNNE, Corrientes, Argentina, en el marco de una beca de Pregrado otorgada por el Consejo Interuniversitario Nacional (Res. N° 389/18). El periodo de duración del trabajo fue durante el periodo de febrero a diciembre del 2018.

El Hospital, presta servicios profesionales en las áreas de grandes y pequeños animales, a través de los servicios de Consultorio Clínico, Cirugía, Internación y Diagnóstico Complementario. Desempeña actividades de enseñanza de la clínica veterinaria y constituye una base de apoyo para las disciplinas profesionalizantes contenidas en la currícula de la carrera de Ciencias Veterinarias. Atiende de lunes a viernes de 8:00 a 16:00 horas. Está situado en calle Juan Bautista Cabral 2131, Corrientes Capital. La ciudad se caracteriza por presentar un clima subtropical cálido, sin estación seca. La temperatura anual promedio es de 21 °C, con registros absolutos máximos y mínimos de 43 °C en enero y -3 °C en julio. La lluvia anual es de 1400 mm con acumulados máximos en abril y noviembre, y mínimos en diciembre y julio. El promedio anual de la humedad relativa es del 76 % (Municipalidad de Corrientes, 2018). Estas condiciones, permiten la existencia de numerosos artrópodos (garrapatas, pulgas, dípteros, etc.), muchos de los cuales se comportan como vectores de agentes causales de enfermedades infecciosas y parasitarias, del hombre y de los animales.

Unidades de análisis: 1.328 pacientes caninos fueron ingresados al Hospital por consultas varias durante el periodo de trabajo. Un 14 % (n=186) presentó síntomas compatibles con LVC y/o hemoparasitosis.

Toma de muestras: Luego del registro de datos en las fichas clínicas, con el consentimiento de los propietarios y de acuerdo con lo propuesto en el presente trabajo, a todos los perros con diagnóstico presuntivo de LVC y/o hemoparasitosis se les realizó extendidos sanguíneos de medula ósea y sangre periférica. Además, a los presuntivos a LVC, se realizó punción de la vena cefálica antibraquial para extracción de 2 a 3ml sangre sin anticoagulante para serología. Todas las muestras eran tomadas el mismo día de la asistencia del animal a la consulta para obtener la mayor cantidad de datos posibles, evitar posibles inconvenientes operativos (no regreso del paciente por problemas de traslado o fallecimiento, resultados inconclusos, etc.) y obtener el diagnóstico en el menor tiempo posible (48 a 120hs)

Previo a la toma de muestras de medula ósea, los canes fueron volteados y sujetos de manera física por 1 o 2 ayudantes según necesidad. También, se usaron bozales improvisados y tipo canasta. En pacientes indóciles, con 15 minutos de antelación, se realizó analgesia con Tramadol 1-3mg/kg subcutáneo solo, o acompañado con Xilacina 0,5-1mg/kg para sedación; lográndose buena analgesia y sujeción para realizar la punción ósea. Las muestras de medula ósea roja se obtuvieron por Punción Aspiración con Aguja Fina (PAAF) del tercio ventral de las costillas 10°, 11° o 12° en la mayoría de los casos (recomendación de Maidana y col., 2010); en algunas ocasiones se accedió

a cresta iliaca o esternón. Luego de la antisepsia, se usaron agujas 25/8 para la punción ósea y jeringa de 10ml para aspirar la muestra. Con lo obtenido se realizaron 2 frotis.

Los extendidos de sangre periférica se obtuvieron de la cara interna del pabellón auricular, lugar donde se realizó una incisopunción (1 mm aproximadamente) para obtener 2 gotas de sangre y realizar 2 frotis.

Tinción de extendidos sanguíneos y Análisis citológico:

Los 4 frotis finos obtenidos fueron secados, fijados con alcohol de 96°, secados, teñidos con Giemsa a una dilución del 10% en volumen (10% v/v) 20 minutos, enjuagados con agua corriente de la canilla y finalmente secados. El secado fue por evaporación a temperatura ambiente. Luego, se procedió al análisis por microscopia óptica; primero a 5X para hacer foco y luego a 1000X con aceite de inmersión para buscar formas compatibles con *Leishmania spp* y hemoparásitos.

Análisis Serológico (inmunocromatografía rk39):

La misma fue ensayada siguiendo las instrucciones del fabricante (Kalazar Detect™ Canine, InBios International). Cada muestra de suero fue colocada sobre la “tira” de la prueba e incubada con la solución tampón. La lectura se hizo luego de 10 minutos. Se consideraron como resultados positivos aquéllos que mostraron el patrón de bandas definido por la prueba (Inbios Internacional, 2009).

Tratamiento: los PC con diagnóstico confirmado fueron tratados (tratamiento específico y de sostén) y controlados, bajo el criterio de los Médicos Veterinarios que se desempeñan en el Hospital.

Análisis de datos: se confeccionaron planillas ad hoc, conteniendo el ingreso de los pacientes y los resultados de la citología, mediante los cuales se calculó los porcentajes de prevalencias. Entre los pacientes positivos a hemoparásitos se analizaron posibles factores de riesgo o predisponentes de las hemoparasitosis, tales como edad, sexo, raza y presencia de ectoparásitos mediante estadística descriptiva con programa InfoStat libre, versión 2016 (Di Rienzo y col., 2016).

Se consideró animal de raza definida a caninos que mostraron rasgos característicos de la raza en cuestión como a sus cruza, mientras los que no mostraron inclinación fenotípica por raza alguna se denominaron indefinidos.

Para calcular la prevalencia clínica de las enfermedades en estudio se usaron los datos de los resultados obtenidos en las muestras en comparación con la población en estudio (1328 caninos ingresados al Hospital Escuela Veterinario, FCV UNNE, durante el periodo de febrero a diciembre de 2018), mediante la siguiente formula:

$$\text{TASA DE PREVALENCIA} = \frac{\text{N}^\circ \text{ de enfermos}}{\text{Población en estudio}} \times 100 =$$

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El resultado del análisis de los 1328 pacientes atendidos, reveló 186 PC con diagnóstico presuntivo de hemaparasitosis y/o LVC; de los cuales se pudo diagnosticar 127 positivos. El 97% (n=123) fueron procedentes de Corrientes Capital, 1,5% (n=2) de Empedrado (Ctes.) y el 1,5% restante de Resistencia (Chaco). Se identificaron 43% de animales de raza, con gran participación de Caniche (Poodle), Labrador Retriever y Boxer; y un 57% eran indefinidos. El 47 % eran de sexo hembra, mientras 53% fueron machos. Las muestras analizadas provenían de perros entre 4 meses y 16 años, con una edad promedio de 6,16 años ($\pm 4,36$). Mediante la anamnesis y el diagnóstico clínico se constató que el 33% presentaba ectoparásitos (pulgas y garrapatas) o estuvo expuesto a ellos en el último mes.

En los 127 animales positivos (Gráfico N° 1) las formas microscópicas compatibles de los siguientes microorganismos con una frecuencia del 24, 4 % (n=31) *Leishmania spp.* (Figura N°1), 43,3 % (n=55) *E. canis*, 40,2% (n=51) *Piroplasmas*, 11,8 % (n=15) *H. canis*, 8,7% (n=11) *A. platys*, 19,7% (n=25) *Mycoplasmas spp.* No se encontraron microfilarias (*D. immitis*) ni tripomastigotes (*T. cruzi*) en las muestras analizadas. Del mismo modo se pudo determinar que un 40, 5 % del total de pacientes positivos presentaron dos o más patógenos.

Respecto al método serológico, el 100% de los positivos a leishmaniosis por el método microscópico dieron reactivos a la tira inmunocromatográfica rk39, indicando que corresponden a infección por *L. chagasi*.

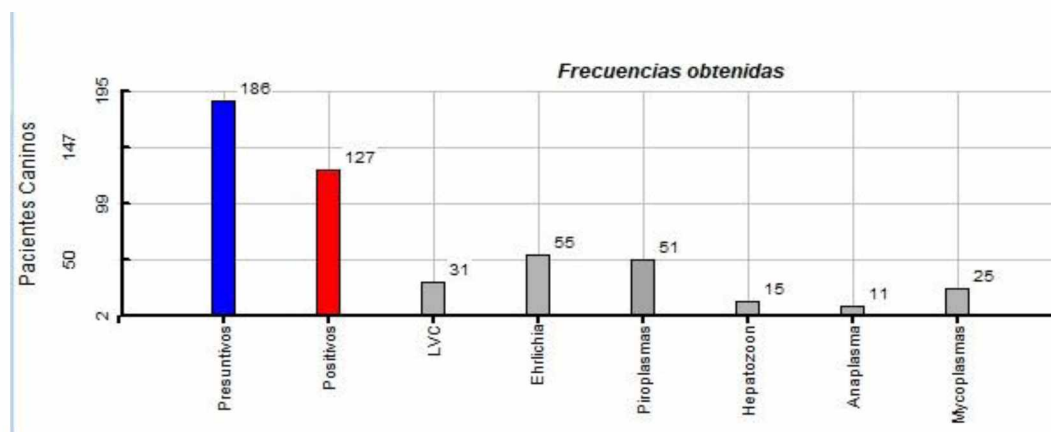


Gráfico N° 1. Población de estudio y frecuencias de las formas microscópicas halladas.

Según lo reportado por Tarabla y Signorini (2013), no se debe confundir prevalencia o tasa de incidencia con la proporción de enfermos de una afección en particular que ingresa a una clínica o centro de diagnóstico. Estas cifras relativas, donde el denominador es el total de pacientes o muestras ingresadas se denominan tasas proporcionales y no necesariamente reflejan la prevalencia o incidencia de la afección en la población. En este sentido la prevalencia obtenida en el presente trabajo fue: LVC 2,3%, Ehrlichiosis Granulocitotrópica 4,1%, Piroplasmosis 3,8%, Mycoplasmosis 1,9%, Hepatozoonosis 1,1% y Anaplasmosis Trombocitopénica Cíclica Infecciosa

0,8%; obtenidas del Hospital Escuela Veterinario FCV-UNNE durante el periodo de febrero a diciembre de 2018. Estas cifras son relativamente bajas si tomamos en cuenta la frecuencia de ectoparásitos reportadas (63% al 90% ixodidosis y 56% pulicosis) (Debárbora y col., 2011; Oscherov y col., 2011); aunque en el presente trabajo solo se halló en el 33% de los positivos. Esto puede deberse al hábito alimentario de estos artrópodos; las pulgas suben al mamífero solo para alimentarse, luego vuelven al ambiente, mientras las garrapatas se adhieren por más tiempo pero terminan descendiendo para mudar.

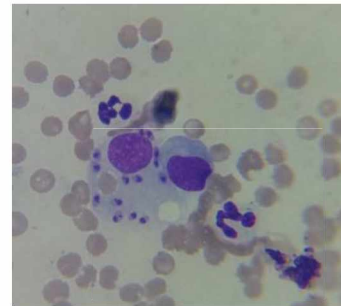


Figura N° 1:
amastigotes de
Leishmania spp.
Imagen del autor.

La baja tasa de prevalencia podría explicarse por el método complementario usado (microscopía óptica de frotis de medula ósea y sangre periférica teñido con Giemsa), el cual es un método directo de baja sensibilidad para detectar infección crónica o subclínica (escasa parasitemia), pero de especificidad relativamente alta, pudiendo arrojar datos que subestimen la prevalencia real (Greene, 2008; Gómez y Guida, 2010; ESCCAP, 2012). Esto se puede evidenciar en estudios de Eiras (2018), quien estimó la prevalencia de piroplasmosis canina para la provincia de Buenos Aires durante el periodo 2003-2014 a través de microscopía y PCR, obteniendo 0,25% y 1,03% respectivamente (4 veces mayor por estudios moleculares). A su vez, Tarabla y Signorini, (2013) describen que variaciones moderadas de la sensibilidad no afectan mayormente a las estimaciones de prevalencia. Solo si se utilizan pruebas con baja sensibilidad y en casos de prevalencias reales muy altas puede existir un efecto de subestimación de la misma. Al contrario, las estimaciones de prevalencia pueden verse muy influenciadas por variaciones de especificidad de la prueba. Por lo tanto los resultados obtenidos no deben estar muy lejos de la prevalencia real y deben interpretarse en base a las ventajas/limitaciones de la prueba con cada hemoparasitosis por separado.

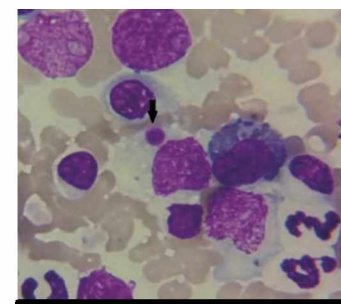


Figura N° 2: morula de
E. canis. Imagen del
autor.

En el presente estudio se encontró un 24,4% de LVC en concordancia con Maidana y col., (2019); quienes han reportado una casuística del 28,6% para el mismo lugar de trabajo durante el periodo 2014-2016; reflejando poca variación de la proporción de diagnósticos positivos en transcurso de 2 años.

El 45 % de los PC positivos a LVC (n=31) presentaron infección coexistente con otros hemoparásitos (19,4% *E. canis*, 19,4% **Piroplasmas**, 16,1 % *H. canis*, 9,7% *A. platys* y 3,2% *Mycoplasma spp.*).

Del total de animales positivos a **Ehrlichiosis** (Figura N°2), el 63% presentó coinfección; encontrándose en orden decreciente los siguientes agentes patógenos:

Piroplasmas (47,3%), *Leishmania spp.* (10,9%), *A. platys* (7,3%), *Mycoplasma spp.* (5,5%) y *H. canis* (3,6%).

Dentro de los PC positivos a **Piroplasmosis** (Figura N° 3) hubo un 72% de coinfecciones; representadas en el siguiente orden de importancia: *E. canis* (51%), *Mycoplasma spp.* (13,7%), *Leishmania spp.* (11,8%), *A. platys* (5,9%) y *H. canis* (5,9%).

Hepatozoonosis (Figura N°4) fue diagnosticada en 15 PC, de los cuales el 53,3% presentaron coinfecciones (*Leishmania spp.* 33,3%, **Piroplasmas** 20% y *E. canis* 13,3%).

De 11 PC positivos a **Anaplasmosis** (Figura N°5), se detectó 81,8% de infecciones coexistentes. Los agentes etiológicos hallados participaron en las siguientes proporciones: *E. canis* 36,4%, y **Piroplasmas** 27,3%, mientras *Mycoplasma spp.* solo 18,2%.

En 25 animales se vio la presencia de **Mycoplasmas hemotrópicos** (Figura N° 3) acompañados de coinfección en el 40% de los casos. **Piroplasmas** fueron los

hemoparásito más frecuentes, seguido de *E. canis*, *A. platys* y *Leishmania spp.*; con 28%, 12%, 8% y 4% de participación, respectivamente.

Respecto al análisis de los factores predisponentes de cada una de las enfermedades hemoparasitarias se observó:

Para **LVC**, la bibliografía (ESCCAP, 2012; Barr y Bowman, 2007; Greene, 2008) no encuentra predisposición por sexo o edad. Existen datos sobre la resistencia de varias razas de perros, como el Podenco Ibizenco, de igual forma que una susceptibilidad mayor al desarrollo de la enfermedad de otras razas como el Pastor Alemán, Rottweilers, Cockers y Boxers (ESCCAP, 2012). Gómez y Guida, (2010) habla de la posibilidad de mayor riesgo en perros de razas grandes, de pelo corto que viven en el exterior. Se considera una infección endémica en perros Foxhound de America del Norte (Barr y Bowman, 2007; Greene, 2008). El estudio reveló que de los 31 pacientes positivos a LVC, 35% eran hembras y 65% machos; dando una relación hembras/machos de 1:1,8. Respecto a la edad, osciló entre 1 y 12 años, con un promedio de 6, 4 años ($\pm 3,4$). El 36% era de raza definida, con mayor participación de Labrador

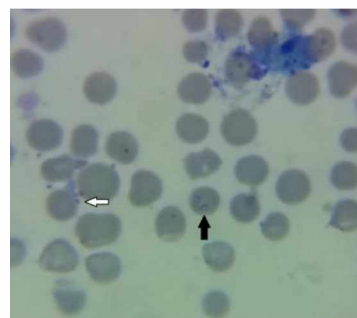


Figura N° 3: (flecha negra) merozoitos de piroplasmas y (flecha blanca) micoplasmas hemotropicos. Imagen del autor.

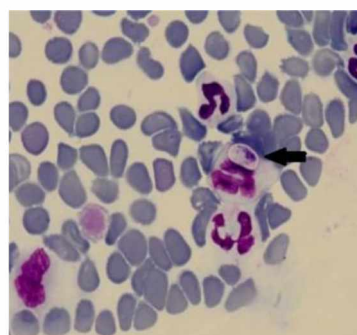


Figura N° 4: gamonte de *H. canis*. Imagen del autor.

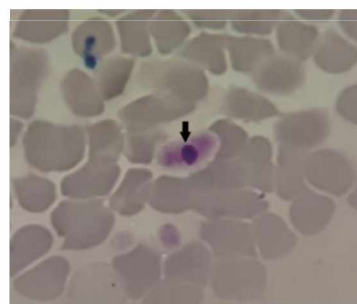


Figura N° 5: mórula de *A. platys* en plaqueta. Imagen del autor

Retriever, Caniche y Pitbull; se presentó un caso de raza Boxer, de acuerdo con la bibliografía citada.

Gómez y Guida, (2010) comunica que no se halló riesgo asociado al sexo o la edad vinculado al padecimiento de **Ehrlichiosis Monocitotrófica Canina**. Barr y Bowman, (2007) informa que los infectados por *E. canis* varían entre los 2 meses a 14 años de edad, con un promedio de 5,22 años. La enfermedad podría presentar cuadros más graves en las siguientes razas y sus cruza: Doberman Pinscher, Pastor Alemán y Cocker Spaniels (Barr y Bowman, 2007; Greene, 2008; Gómez y Guida, 2010). El presente trabajo detectó 51% de hembras y 49% de machos entre los positivos (n=55) a la enfermedad, con una relación hembras/machos de 1:0,96. La edad fluctuó entre los 8 meses y 15 años, con un promedio de 6,5 años ($\pm 4,8$). El 58% fue de raza indefinida, los restantes de raza definida (n=23); pertenecientes a Caniche, Labrador Retriever, Boxer, Dachshund, Pitbull, Golden Retriever y Border Collie, en discrepancia con los autores antes mencionados.

Dentro de los agentes causantes de **Piroplasmosis**, *B. vogeli* produce cuadros clínicos de leves a moderados; observándose formas graves en cachorros (ESCCAP, 2012). Gómez y Guida, (2010) advierte sobre mayores porcentajes de seroprevalencia en adultos. Otro autor, observó una menor frecuencia de aparición de esta afección en cachorros menores de 2 meses, tal vez debido a la protección de los anticuerpos maternos; sin embargo, existe notificación de un caso clínico de un cachorro de raza Greyhound de 36hs de vida (Greene, 2008). Además de la raza Greyhound, se sospecha una mayor susceptibilidad en las razas Staffordshire y Pitbull (Greene, 2008). Respecto a *R. vitalli* y *B. gibsoni* los autores consultados no destacan posibles factores predisponente (Greene, 2008; ESCCAP, 2012; Lemos y col., 2017). En el análisis se halló para esta afección una ocurrencia en un 45% de hembras y 55% de machos, con una relación hembra/macho de 1:1,2. Las edades oscilaron entre 4 meses y 16 años, con un promedio de 6 años ($\pm 4,3$); solo hubo un cachorro de 4 meses (n=51), el resto fueron mayores de 1 año. El 53% fueron indefinidos con respecto a la raza. En el grupo raza hubo mayor proporción de Caniches, Boxer y Labrador Retriever; hubo un caso de raza Pitbull, en convenio con el autor antes nombrado.

Algunos autores (Gómez y Guida, 2010; ESCCAP, 2012), no encuentran predisposición de raza, sexo y edad en los PC infectados por *H. canis*. Greene, (2008) informa mayores frecuencias en perros de áreas rurales durante el verano, con una edad promedio de 4,2 años y una relación hembra/macho de 1:0,8. El estudio reveló que de los 15 PC positivos a hepatozoonosis, 33% eran hembras y 67% machos; obteniendo una relación hembras/macho de 1:2, discrepando con el autor citado. La edad fluctuó entre 1 y 13 años, con un promedio de 6 años ($\pm 3,9$). El 47% era de raza definida, con mayor frecuencia de Caniche.

Los autores consultados (Greene, 2008; Gómez y Guida, 2010; ESCCAP, 2012) no reportan factores de riesgo asociados respecto a las características estudiadas (raza, sexo y edad), para *A. platys*. El presente trabajo detectó 36% de hembras y 64% de machos

entre los positivos (n=11), con una relación hembra/macho de 1:1,7. La edad varió entre 10 meses y 12 años, con un promedio de 4,9 años (± 4). Se encontraron 3 casos de razas entre los 11 positivos, estos correspondieron a Caniche, Labrador Retriever y Dachshund.

La **micoplasmosis hemotrópica canina** es una infección mayormente subclínica, volviéndose clínicamente evidente en inmunodeprimidos, esplenectomizados y/o con infecciones coexistentes (Greene, 2008; Barr y Bowman, 2007). Barr y Bowman, (2007) advierte que es más frecuente en adultos. El análisis informó para esta afección las siguientes proporciones: 56% hembras y 44% machos; con una relación hembra/macho de 1:0,7. Las edades oscilaron entre 1 y 14 años, con un promedio de 5,6 años ($\pm 4,1$). El 52% fueron indefinidos con respecto a la raza. En el grupo raza hubo mayor proporción de Caniche y Pitbull.

La bibliografía aún no describe a *A. phagocytophilum*, en perros de Argentina, aunque ha sido detectado a través de estudios moleculares en ejemplares de *R. sanguineus* extraídos de perros de Santa Ana, Corrientes (Oscherov y col., 2011). Éste Anaplasma tiene tropismo por neutrófilos, al igual que *E. canis*, pero provoca mayores parasitemias (Greene, 2008; ESCCAP, 2012); por lo cual, existe la posibilidad de sesgos diagnósticos entre ambas infecciones.

CONCLUSIÓN

A partir de este trabajo se obtuvieron las tasas de prevalencias de Leishmaniosis Visceral Canina (2,3 %) y otras hemoparasitosis de los pacientes caninos que asistieron al Servicio de Consultorios externos del Hospital Escuela Veterinario FCV-UNNE, durante el año 2018; las cuales resultaron ser más bajas de lo esperado, aunque se comprobó un alto grado de coinfección (45,2%) por hemoparásitos en los pacientes afectados por Leishmaniosis.

Se reconoció e identificó a los hemoparásitos en extendidos sanguíneos obtenidos por PAAF de médula ósea y de sangre periférica. Es una técnica relativamente poco onerosa y útil para confirmar la presencia de agentes hemoparasitarios en cuadros agudos de la mayoría de estas infecciones, aunque su baja sensibilidad en pacientes crónicos y subclínicos hace necesario el uso combinado de otras técnicas que detecten este espectro de caninos infectados como métodos serológicos y moleculares, que sin embargo, son más costosas.

Se aconseja hacer un rápido análisis de costo/beneficio y disponibilidad a la hora de elegir el/los métodos complementarios más adecuados al diagnóstico de cada infección individualmente, y el valor que ellos aporten en cada caso clínico y/ o estudios poblacionales.

De los cinco hemoparásitos encontrados en este estudio, los que más se presentaron fueron *E. canis* (4,1%), *Piroplasmas* (3,8%) y *Mycoplasmas spp.* (1,9%). Si bien son cifras bajas, es importante considerarlas en el diagnóstico diferencial de cuadros inespecíficos, característico de estos patógenos. También es importante destacar que dentro de los datos individuales de cada hemoparasitosis se calculó la aparición de coinfecciones entre un 40 y 81%. No se encontraron tripanosomas ni filarias, pero debido a las limitaciones de la prueba no descartamos su presencia.

La bibliografía cita en casos de coinfección cuadros clínicos más graves y de peor pronóstico. Se recomienda la búsqueda de agentes coexistentes en los pacientes positivos a hemoparasitosis y/o LVC, ya que aparecieron en prácticamente 1 de cada 2 caninos positivos. La coinfección tiene gran impacto en la elección del tratamiento más adecuado y la evolución del animal.

Se encontraron 13 razas de caninos que tenían las enfermedades en estudio, siendo los de raza no definida los de mayor frecuencia (57 %). Se observó levemente mayor proporción de machos (53%) que hembras y amplio rango de edades. Debido al tamaño de la muestra no podemos decir que estas características puedan evidenciar predisposición en la población analizada. Se sugiere realizar estudios de cada factor de riesgo por separado, así como sus padecimientos más frecuentes, y comparar entre factores de riesgo para la búsqueda de posible predisposición en un determinado ambiente.

Se incita a la búsqueda y caracterización molecular de *A. phagocytophilum* para su diferenciación respecto a *E. canis* o el uso combinado de métodos serológicos específicos para confirmar la Ehrlichiosis en la clínica diaria. En el caso de las Piroplasmosis, el uso de PCR brindará un diagnóstico exacto de la especie implicada, acarreando beneficios tanto en casos clínicos como estudios epidemiológicos.

La LVC y hemoparasitosis son enfermedades de importancia en la clínica diaria del mencionado hospital de la Capital Correntina; tanto para los canes como para los humanos que se relacionan con ellos. Se aconseja la realización de más estudios en la región que aporten conocimiento a la epidemiología de estos agentes y sus infecciones.

Es importante insistir en la prevención mediante el trabajo conjunto entre profesionales veterinarios y propietarios para reducir la diseminación de los vectores y enfermedades asociadas, por medio de: control adecuado de los vectores, fomento de la tenencia responsable, aplicación de vacunas disponibles, diagnóstico de infectados y el tratamiento de los mismos; así como también, testeos anuales para evaluar el impacto de las medidas adoptadas.

BIBLIOGRAFÍA

- Acosta Soto, L. (2013). Epidemiología de la leishmaniosis canina en la ciudad de Posadas Misiones, Argentina. Disponible en: <http://dspace.umh.es/handle/11000/1333>
- Adagio, L.; Miguel, M.; Meder, A.; Rio, F.; Giménez, M.; Hierro, J.; Vaquero, P.; Lattanzi, D.; Mengelle, P.; Petteta, L.; Mariani, E.; Pallezza, J.; Bertoldi, G.; Wheeler, J. (2014). Hepatozoonosis canina. Primeros 4 casos documentados en la Ciudad de General Pico-Provincia de La Pampa-Argentina. Revista Ciencias Veterinarias, 16(2), 9-22. Disponible en: <https://cerac.unlpam.edu.ar/index.php/veterinaria/article/view/1718>
- Alleman, R. 2017. Hemoparásitos y Vectores. El Cronista Veterinario Plus. Vetebooks.com. Disponible en: <http://www.vetebooks.com/books/524?locale=es>
- Aubert, S. R.; Rossanigo, C. E.; Crosa, P.; Serrano, D.; De Salvo, M. N.; Cicuttin, G. L (2016). Un caso de ehrlichiosis en un perro de la provincia de San Luis. XXI Reunión Científico-Técnica de la AAVLD. Facultad de Veterinaria, Universidad Católica Cuyo. Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Carlos_Rossanigo/publication/309398458_UN_CASO_DE_EHRLICHIOSIS_EN_UN_PERRO_DE_LA_PROVINCIA_DE_SAN_LUIS/links/580e5e1208ae7525273d2669/UN-CASO-DE-EHRLICHIOSIS-EN-UN-PERRO-DE-LA-PROVINCIA-DE-SAN-LUIS.pdf
- Bar, M. E. (2008). Epidemiología de la enfermedad de Chagas en la Provincia de Corrientes. Argentina. Colonización por Triatominae y seroprevalencia humana. Sociedad Iberoamericana de Información Científica. Disponible en: <http://exa.unne.edu.ar/biologia/artropodos/epidemiologia.htm>
- Bar, M. E.; Damborsky, M. P.; Oscherov, E. B.; Alvarez, B. M.; Mizdraji, G.; Avalos, G. (1997). Infestación domiciliar por triatominos y seroprevalencia humana en el Departamento Empedrado, Corrientes, Argentina. Cadernos de Saúde Pública, 13, 305-312. Disponible en: <https://www.scielo.org/article/csp/1997.v13n2/305-312/>
- Bar, M. E.; Oscherov, E. B.; Damborsky, M. P.; Borda, M. (2010a). Estudio transversal de la Enfermedad de Chagas en un área endémica de la Provincia de Corrientes, Argentina. Bol Mal Salud Amb, 50(2), 207-17. Disponible en:

https://www.researchgate.net/profile/Elena_Oscherov/publication/262504985_Estudio_transversal_de_la_Enfermedad_de_Chagas_en_un_area_endemica_de_la_Provincia_de_Corrientes_Argentina/links/5629082408ae518e347c710e/Estudio-transversal-de-la-Enfermedad-de-Chagas-en-un-area-endemica-de-la-Provincia-de-Corrientes-Argentina.pdf

- Bar, M. E.; Oscherov, E. B.; Damborsky, M. P.; Borda, M. (2010b). Epidemiología de la tripanosomiasis americana en el Norte de Corrientes. Medicina (Buenos Aires), 70(2). Disponible en: https://medicinabuenosaires.com/demo/revistas/vol70-10/2/v70_n2_p133_138.pdf
- Barr, S. C.; Bowman, D. D. (2007). La consulta veterinaria en 5 minutos: Enfermedades infecciosas y parasitología en caninos y felinos. Buenos Aires, Argentina: Editorial Inter-Médica.
- Binda, J. A.; Trova, G. B.; Alonso, M. J.; Pereyra, W. R.; Negrette, O. S. (2016). Presencia de infección por Trypanosoma cruzi y Toxoplasma gondii en perros domésticos de localidades rurales en el Noroeste Argentino. Revista de Patología Tropical/Journal of Tropical Pathology, 45(1), 66-76. Disponible en: <https://pdfs.semanticscholar.org/161f/c014c326c8431554c4a184af6773a68e1481.pdf>
- Burna, A. N.; Catuogno, M. S.; Negrette, M. S.; Montenegro, M. A. (2017). Estudio comparativo entre las técnicas convencionales e inmunohistoquímicas para el diagnóstico de leishmaniosis canina. Revista veterinaria, 28(2), 116-120. Disponible en: <https://revistas.unne.edu.ar/index.php/vet/article/view/2536>
- Burna, A.; Tuzinkievicz, T.; Boschetti, N.; Alvarenga, C.; Bárbaro, V.; Ascué, J.; Gasparin, M. (2018). Prevalencia de Leishmaniasis canina en la ciudad de San José (Misiones). Anuario de Investigación USAL, (4). Disponible en: <https://p3.usal.edu.ar/index.php/anuarioinvestigacion/article/view/4205>
- Castañera, M. B. (1999). Contribución de los perros a la transmisión de Trypanosoma cruzi en un área rural de Argentina: demografía, rol centinela y modelado matemático. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires. Disponible en: https://bibliotecadigital.exactas.uba.ar/collection/tesis/document/tesis_n3230_Castanera

- Cicuttin, G. L., Tarragona, E. L., De Salvo, M. N., Mangold, A. J., & Nava, S. (2015). Infection with *Ehrlichia canis* and *Anaplasma platys* (Rickettsiales: Anaplasmataceae) in two lineages of *Rhipicephalus sanguineus sensu lato* (Acari: Ixodidae) from Argentina. *Ticks and tick-borne diseases*, 6(6), 724-729. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1877959X15001132>
- Cicuttin, G. L.; De Salvo, M. N.; Dohmen, F. E. G. (2016). Molecular characterization of *Ehrlichia canis* infecting dogs, Buenos Aires. *Ticks and tick-borne diseases*, 7(5), 954-957. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1877959X16300760>
- Cicuttin, G. L.; De Salvo, M. N.; Stefanic, N. S.; Dohmen, F. E. (2014). Leishmaniasis visceral canina en el Área Metropolitana de Buenos Aires. III Congreso Panamericano de Zoonosis y VIII Congreso Argentino de Zoonosis. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/289129739_Leishmaniasis_viscerale_canina_en_el_Area_Metropolitana_de_Buenos_Aires
- Cicuttin, G. L.; Vidal, P.; Nazarena De Salvo, M.; Beltrán, F. J.; Gury Dohmen, F. E. (2014). Detección molecular de *Rickettsia massiliae* y *Anaplasma platys* en garrapatas *Rhipicephalus sanguineus* y caninos domésticos del municipio de Bahía Blanca (Argentina). *Revista chilena de infectología*, 31(5), 563-568. Disponible en: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/rci/v31n5/art08.pdf>
- Coutinho, M. T. Z.; Bueno, L. L.; Sterzik, A.; Fujiwara, R. T.; Botelho, J. R.; De Maria, M.; Linardi, P. M. (2005). Participation of *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) in the epidemiology of canine visceral leishmaniasis. *Veterinary parasitology*, 128(1-2), 149-155. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0304401704005461>
- Dantas-Torres, F. (2008). Canine vector-borne diseases in Brazil. *Parasites & Vectors*, 1(1), 25. Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Filipe_Dantas-Torres/publication/23160106_Canine_vector-borne_diseases_in_Brazil/links/02bfe50e70c055d3f6000000/Canine-vector-borne-diseases-in-Brazil.pdf
- de Gorodner, O. L.; Mendivil, G. T.; Risso, A.; Risso, J. J.; Petraglia, G.; De Francesco, C.; Bustamante, A. (1985). Enfermedad de Chagas natural en perros:

estudios serológicos anatomopatológicos y electrocardiográficos de la fase crónica indeterminada de la infección. Medicina (B. Aires), 535-8. Disponible en:

https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=VkVAk9kbUIEC&oi=fnd&pg=PA535&dq=Enfermedad+de+chagas+natural+en+perros&ots=7l3iWDIPH_&sig=67pcIh3uapLEzLObRlxEfS_bZko#v=onepage&q=Enfermedad%20de%20chagas%20natural%20en%20perros&f=false

- Debárbora, V.N.; Oscherov, E.B.; Guglielmone, A.A.; Nava, S. (2011). Garrapatas (Acari: Ixodidae) asociadas a perros en diferentes ambientes de la provincia de Corrientes, Argentina. In Vet, 13(1), 45-51. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=1791/179121179005>
- Di Rienzo J.A.; Casanoves F.; Balzarini M.G.; Gonzalez L.; Tablada M.; Robledo C.W. InfoStat versión (2016). Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. Disponible en: <http://www.infostat.com.ar>
- DIARIO NORTE (2013). Ciudades superpobladas de animales callejeros. Disponible en: https://www.diarionorte.com/article/83454/ciudades-superpobladas-de-animales-callejeros?fbclid=IwAR3hsrM0iHvXcp_LTBSMPkFO6_td4BTjiiEoGtv4fcvaKqkn8ds_MwnfTd4
- Eiras, D. F. (2018). Aspectos diagnósticos y epidemiológicos de la piroplasmosis canina en áreas urbanas del sur del Gran Buenos Aires. Tesis Doctoral. Universidad Nacional de La Plata. Disponible en: <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/67582>
- Eiras, D. F., Basabe, J., Scodellaro, C. F., Banach, D. B., Matos, M. L., Krimer, A., & Baneth, G. (2007). First molecular characterization of canine hepatozoonosis in Argentina: evaluation of asymptomatic Hepatozoon canis infection in dogs from Buenos Aires. Veterinary parasitology, 149(3-4), 275-279. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0304401707003627>
- Eiras, D. F.; Craviotto, M. B.; Baneth, G.; Moré, G. (2014). First report of Rangelia vitalii infection (canine rangelirosis) in Argentina. Parasitology international, 63(5), 729-734. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1383576914000774>

- Eiras, D. F.; Craviotto, M. B.; Vezzani, D.; Eyal, O.; Baneth, G. (2013). First description of natural *Ehrlichia canis* and *Anaplasma platys* infections in dogs from Argentina. *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases*, 36(2), 169-173. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0147957112001324>
- Enríquez, G. F.; Cardinal, M. V.; Orozco, M. M.; Schijman, A. G.; Gürtler, R. E. (2013). Detección de la infección por *Trypanosoma cruzi* en perros y gatos infectados de forma natural utilizando métodos serológicos, parasitológicos y moleculares. *Acta tropica*, 126 (3), 211-217. Disponible en: https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/46082890/Detection_of_Trypanosoma_cruzi_infection20160530-21265-1y99zpi.pdf?1464654816=&response-content-disposition=inline%3B+filename%3DDetection_of_Trypanosoma_cruzi_infection.pdf&Expires=1592850132&Signature=GY-6Tu2mHQIufCr8SdMXb6KXqvD5njU5-QU~nhv-SqmP7VUmFrHBMxMocPwkVkwJCvaNNxpDaN2diUh0K0Cdpp8Gye-BUKaDEG4OHXUyQ~qcWWtAZtG8gywXyn3KKQr5PeMuz6~RFulVe~6kdxCIVVcN1fD0Hmc1fqBmXBdpYTk84gtufNUZ19xlyWn789igQ76N9pIox-Bvu2EZbpBAtIAF~ycFHnbzKYCjV7bKCGiXtBTrxF0XAadiu331sjvL7K8ThyXb8YG4gd~Ed8KIG6rBN98Nz5g7YEiwcuTQp7mUdQH6u1o5GAAQPCQsXVKVDSK-XimrBi1sFLHMBhii6Q__&Key-Pair-Id=APKAJLOHF5GGSLRBV4ZA
- Esarte, M. S.; Dodino, M. L.; Duchene, A.; Iazbik, M. C.; Salaj, J. F. (1999). Hepatozoonosis canina en la zona oeste del Gran Buenos Aires. *Selecciones Veterinarias*, 7(3), 260-264. Disponible en: <http://www.sidalc.net/cgi-bin/wxis.exe/?IsisScript=UCC.xis&method=post&formato=2&cantidad=1&expression=mfn=004661>
- Estévez, J. O.; Nevot, M. C. (2010). Leishmaniasis. En N. Gomez; N. Guida. (Ed.). *Enfermedades infecciosas de los caninos y felinos* (pp. 297-305). Buenos Aires, Argentina: Editorial Inter-Médica.
- Geografía y Clima. Portal digital de Municipalidad de Corrientes. Actualizado en 2018. Disponible en: <http://ciudaddecorrientes.gov.ar/la-ciudad/geografia-y-clima>.
- Gómez, E. C.; Montoya Alonso, J. A.; Cordon, Y. F.; Cordon, S. F.; Diosdado, A.; Gómez, P. J.; García, R. M. (2017). Sintomatología, diagnóstico, tratamiento

- y control de la dirofilariosis cardiopulmonar. Argos: Informativo Veterinario, (187), 56-59. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=7152802>
- Gómez, N; Guida, N. (2010). Enfermedades infecciosas de los caninos y felinos. Buenos Aires, Argentina: Editorial Inter-Médica.
 - González, A.; del C Castro, D.; González, S. (2004). Ectoparasitic species from *Canis familiaris* (Linné) in Buenos aires province, Argentina. Veterinary parasitology, 120(1-2), 123-129. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0304401703004758>
 - Graiff, D. S.; Zurbriggen, G. F.; Aleu, G.; Sequeira, G.; Faya, M.; Marini, V.; Basso, B. (2009). Seropositividad para *Trypanosoma cruzi* en caninos de la localidad de la Para (Córdoba, Argentina). InVET, 11(1), 11-14. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/1791/179116774001.pdf>
 - Greene, C. E. (2008). Enfermedades infecciosas del Perro y el Gato. Buenos Aires, Argentina: Editorial Inter-Médica.
 - Guía ESCCAP (Consejo Europeo para el control de las parasitosis para los animales de compañía) N° 5. Control de Enfermedades transmitidas por vectores en perros y gatos, Publicada en 2011. Revisada y actualizada en octubre de 2012 (ESCCAP España), Madrid. Disponible en: http://www.esccap.org/uploads/docs/a2wchx2h_2012_G5.pdf
 - Gürtler, R. E.; Cecere, M. C.J; Lauricella, M. A.; Cardinal, M. V.; Kitron, U.; Cohen, J. E. (2007). Domestic dogs and cats as sources of *Trypanosoma cruzi* infection in rural northwestern Argentina. Parasitology, 134(1), 69-82. Disponible en: <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.576.1352&rep=rep1&type=pdf>
 - Gurtler, R. E.; Wisnivesky Colli, C.; Solarz, N. D.; Lauricella, M.; Bujas, M. A. (1988). Dinámica de la transmisión de *Trypanosoma Cruzi* en una zona rural de la Argentina: II.= dos Relación entre la infección doméstica en niños y perros y la densidad de *Triatoma infestans* infectados. Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana (OSP); 104 (2), feb. 1988. Disponible en: <http://hist.library.paho.org/xmlui/handle/123456789/17879>
 - Inbios Internacional (2009). Kalazar Detect TM Canine Prueba Rapida (traducido al español). Disponible en:

<http://helminto.inta.gob.ar/Alumnos/Protocolo%20tira%20reactiva%20Leishmania.pdf>

- INDEC. Censo Nacional de Población, Hogares y Viviendas 2010. Republica Argentina. Disponible en: <https://www.indec.gob.ar/indec/web/Nivel4-CensoProvincia-3-999-18-021-2010>
- Lemos, T. D.; Toma, H. K.; Assad, R. Q.; Silva, A. V. D.; Corrêa, R. G. B.; Almosny, N. R. P. (2017). Clinical and hematological evaluation of *Rangelia vitalii*-naturally infected dogs in southeastern Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 26(3), 307-313. Disponible en: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1984-29612017000300307&script=sci_arttext
- Linares, C.; Mera, R.; Sidoti, L.; Cuervo, P. (2014). Emergencia de enfermedades transmitidas por garrapatas, Mendoza, Argentina. Hepatozoonosis y babesiosis canina. Primer Encuentro de Investigadores de la RADU-2011. Disponible en: <http://www.um.edu.ar/ojs-new/index.php/IRADU/article/view/242/263>
- Maidana, H. R.; Gianceselli, M. P.; Báez, A. D.; Cabrera, W. R.; Llano, E. G. (2019). Casuística de leishmaniosis visceral canina registrada en Corrientes (Argentina) durante el período 2014-2016. *Revista Veterinaria*, 30(1). Disponible en: <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20193361843>
- Maidana, H. R.; Llano, E. G.; Báez, A. D.; Cabrera, W. R.; López, J. E. (2011). Casuística de leishmaniosis visceral canina en ciudades de la Provincia de Corrientes (Argentina) donde se registraron casos humanos. *Revista Veterinaria*, 22(2), 144-146. Disponible en: <http://www.vet.unne.edu.ar/uploads/revistas/archivos/12935ab76d6fcaaa10f8a54aad756f8ced5198ff.pdf>
- Maidana, H. R.; Llano, E. G.; Báez, A. D.; Cabrera, W. R.; López, J. E. (2010). Comparación de tres sitios anatómicos de extracción de muestras de médula ósea para el diagnóstico de leishmaniosis canina. *Revista Veterinaria*, 21(2), 144-147. Disponible en: <https://revistas.unne.edu.ar/index.php/vet/article/view/1941>
- Mascarelli, P. E.; Tartara, G. P.; Pereyra, N. B.; Maggi, R. G. (2016). Detection of *Mycoplasma haemocanis*, *Mycoplasma haematoparvum*, *Mycoplasma suis* and other vector-borne pathogens in dogs from Córdoba and Santa Fé,

- Argentina. *Parasites & vectors*, 9(1), 642. Disponible en: <https://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13071-016-1920-8>
- Millán, J.; Travaini, A.; Cevidanes, A.; Sacristán, I.; Rodríguez, A. (2019). Evaluación de la circulación natural de patógenos caninos transmitidos por vectores en zorros, garrapatas y pulgas en áreas protegidas de la Patagonia argentina con una participación insignificante del perro. *Revista Internacional de Parasitología: Parásitos y Vida Silvestre*, 8 , 63-70. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2213224418301512>
 - Ministerio de Salud. Presidencia de la Nación (2010). Curso sobre Enfermedades Vectoriales para agentes comunitarios en Ambiente y Salud. Modulo IV: Leishmaniasis. Disponible en: <http://www.msal.gob.ar/images/stories/bes/graficos/0000000171cnt-07-2-3-3-H-modulo-leishmaniasis.pdf>
 - Moraes-Filho, J.; Krawczak, F. S.; Costa, F. B.; Soares, J. F.; Labruna, M. B. (2015). Comparative evaluation of the vector competence of four South American populations of the *Rhipicephalus sanguineus* group for the bacterium *Ehrlichia canis*, the agent of canine monocytic ehrlichiosis. *PLoS One*, 10(9). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4587558/>
 - Ortiz Jones, M. Y. (2016). Presentación de un caso compatible con micoplasmosis en un canino. Tesina de la Orientación Sanidad de Pequeños Animales, presentada como parte de los requisitos para optar al grado de Veterinario. Facultad de Ciencias Veterinarias, UNCPBA. Disponible en: <http://www.ridaa.unicen.edu.ar/xmlui/handle/123456789/535>
 - Oscherov, E. B.; Milano, A. M. F.; Lobo, B.; Anda, P.; Escudero, R. (2011). Detection of *Anaplasma platys* and other pathogens in ectoparasites from urban hosts in Northeast Argentina. *Rev Ibero-Latinoam Parasitol*, 70(1), 42-48. Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Francisca_Milano/publication/285485406_Detection_of_Anaplasma_platys_and_other_pathogens_in_ectoparasites_from_urban_hosts_in_Northeast_Argentine/links/5719168b08ae30c3f9f2be45/Detection-of-Anaplasma-platys-and-other-pathogens-in-ectoparasites-from-urban-hosts-in-Northeast-Argentina.pdf

- Padilla, A. M.; Marco, J. D.; Diosque, P.; Segura, M. A.; Mora, M. C.; Fernandez, M. M.; Basombrio, M. A. (2002). Canine infection and the possible role of dogs in the transmission of American tegumentary leishmaniasis in Salta, Argentina. *Veterinary parasitology*, 110(1-2), 1-10. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0304401702003308>
- Peña Sánchez, A. (2019). Enfermedad de chagas en perros: una revisión. Disponible en: <https://repository.udca.edu.co/handle/11158/2522>
- Pizzi, H. L.; Tomás, A. F.; Ferrero, M. R.; Fernández, G. L.; Furey, F.; Pizzi, R. D.; Dib, M. D. (2015). El inexorable avance de la Leishmaniasis: comunicación del primer caso autóctono de la Provincia de Córdoba. *Revista de Salud Pública*, 19(2), 15-23. Disponible en: <https://revistas.psi.unc.edu.ar/index.php/RSD/article/view/11936>
- Rosas, A. C.; Ojeda, G. P.; Barrios, A.; Otteo, M.; Maruñak, S. L. (2016). Tripanosomiasis americana en un canino del nordeste argentino. Reporte del caso clínico. *Revista veterinaria*, 27(1), 62-65. Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Alejandra_Barrio/publication/316527409_American_trypanosomiasis_in_a_dog_from_Argentinean_northeast_Report_of_the_clinical_case/links/5968df05a6fdcc18ea6f17e8/American-trypanosomiasis-in-a-dog-from-Argentinean-northeast-Report-of-the-clinical-case.pdf
- Ruiz, A. M.; Wisnivesky-Colli, C.; Gürtler, R.; Lazzari, J.; Bujas, M. A.; Segura, E. L. (1985). Infección por *Trypanosoma cruzi* en humanos, perros y cabras en áreas rurales de la provincia de Córdoba. *Medicina*, 45(5), 539-546. Disponible en: https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=VkVAk9kbUIEC&oi=fnd&pg=PA539&dq=infeccion+por+trypanosoma+cruzi+en+humanos,+perros+y+cabras+en+areas+rurales+de+la+provincia+de+Cordoba&ots=7l3iWDHTJS&sig=esyGrPyaJdOXv_v0LCc8JWh6-7c#v=onepage&q=infeccion%20por%20trypanosoma%20cruzi%20en%20humanos%20C%20perros%20y%20cabras%20en%20areas%20rurales%20de%20la%20provincia%20de%20Cordoba&f=false
- Ruiz, M. F.; Zimmermann, R. N.; Aguirre, F. O.; Bono, M. F.; Widenhorn, N. I. (2013). Hallazgo de *hepatozoon canis* en caninos (*canis familiaris*) en la ciudad de Esperanza, Santa Fe (Argentina). *FAVE Cienc Vet*, 12, 15-20.

- Sánchez, R. O.; Moré, G. A.; Eiras, D. F. (2013). Piroplasmosis canina por *Rangelia vitalii* (Protozoa, Piroplasmida) en la ciudad de Concordia, Entre Ríos. Ene, 10. Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Ricardo_Sanchez4/publication/272175200_PIROPLASMOSIS_CANINA_POR_Rangelia_vitalii_PROTOZOA_PIROPLASMIDA_EN_LA_CIUADAD_DE_CONCORDIA_ENTRE_RIOS/links/54ddf9150cf23bf204394e01.pdf
- Santini, M. S.; Salomon, O. D. (2012). Eco-epidemiología de las leishmaniosis Argentina. Rev. Arg. Parasitol, 1(1), 16-25. Disponible en: http://www.revargparasitologia.com.ar/pdf/RevArgParasitol_Vol1Nro1.pdf#page=16
- Scodellaro, C. F. (2015). Estudio retrospectivo de caracterización de la hepatozoonosis canina en Buenos Aires. Trabajo de Especialización en Diagnóstico de laboratorio veterinario. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata. Disponible en: <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/51142>
- Tarabla, H.; Signorini, M. (2013). Epidemiología Diagnóstica. Santa Fe, Argentina: Ediciones Universidad Nacional del Litoral
- Tarragona, E. L.; Flores, F. S.; Herrera, C. L.; Dalinger, M.; Aguirre, N.; Monje, L. D.; Nava, S. (2019). Primer reporte de un caso de ehrlichiosis monocítica canina en la provincia de Santa Fe, Argentina. FAVE Veterinaria. Universidad Nacional del Litoral. Disponible en: <https://repositorio.inta.gob.ar/handle/20.500.12123/6460>
- Vezzani, D.; Eiras, D. F. (2016). Actualización sobre dirofilariasis en Argentina y el contexto en América. ResearchGate GmbH 2016, 192-200. Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Dario_Vezzani/publication/321973026_Actualizacion_sobre_Dirofilariasis_en_Argentina_y_el_contexto_en_America/links/5a3ba9224585158a1bbd90b1/Actualizacion-sobre-Dirofilariasis-en-Argentina-y-el-contexto-en-America.pdf
- Vezzani, D.; Eiras, D. F.; Wisnivesky, C. (2006). Dirofilariasis in Argentina: historical review and first report of *Dirofilaria immitis* in a natural mosquito population. Veterinary parasitology, 136(3-4), 259-273. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0304401705005236>