

Identificación molecular de microorganismos hemotrópicos transmitidos por vectores en caninos domésticos de diferentes centros veterinarios de Medellín, Colombia

C. Ríos–Usuga¹, A. Arias², D. Gómez³, D. Pérez⁴, C. Muñoz–Cadavid¹,
I. L. Jaramillo–Delgado⁵

Recibido: 01/09/2021. Aprobado: 26/12/2022

RESUMEN

Los patógenos transmitidos por vectores, comúnmente conocidos como hemoparásitos, son organismos hemotrópicos que varían desde nematodos, protozoos, virus y bacterias. El presente es un estudio retrospectivo de las bases de datos de 3.300 perros cuyo objetivo es evaluar la frecuencia mediante qPCR para 9 hemotrópicos en la ciudad de Medellín entre junio de 2021 y marzo de 2022 y la correlación de su presencia con las manifestaciones clínicas y hemoleucogramas de 20 perros positivos. Del total de perros testeados, el 60% fueron positivos para uno o más agentes. El número de animales infectados con uno, dos o tres agentes fue del 42,9% (1.416/3.300), 17,7% (583/3.300) y 1,3% (42/3.300), respectivamente. En orden de mayor a menor presencia de hemoparásitos, el número de perros positivos a un solo agente fue de: *Anaplasma* spp. (14,1%), *Mycoplasma* spp. (13,9%), *Ehrlichia* spp. (6,1%), *Hepatozoon* spp. (5,4%), *Babesia* spp. (1%), filarias (0,9%), y *Bartonella* spp. (0,6%). Las principales alteraciones clínico–patológicas en 9 de 20 perros positivos a algún hemoparásito y con signos clínicos inespecíficos (fiebre, anorexia, mialgia, letargo) fueron de anemia y/o trombocitopenia, con o sin un leucograma inflamatorio. No obstante, la ausencia de alteraciones clínico–patológicas en 11/20 animales positivos no descarta la presencia de infección, ya que los animales presentaban un hemograma normal. Estudios experimentales y de campo han mostrado que muchos perros positivos por serología y/o qPCR están clínicamente normales, y aunque no presentan una infección activa, sí pueden ser portadores asintomáticos de hemoparásitos. En este estudio se discuten los resultados y se comparan con otros realizados en Colombia para los principales hemoparásitos de perros.

Palabras clave: PCR, enfermedades transmitidas por vectores, frecuencia, canino.

¹ Grupo de Estudio de Infectología, Zoonosis y Medio Ambiente Laboratorio Testmol–GIZMOL, Testmol SAS, Diagnostic and Research Center, carrera 45 D n° 60-16, Medellín, Colombia.

² Centro Veterinario Instinto Animal, Carrera 65 n.° 97-57, Medellín, Colombia.

³ Centro Veterinario Bello, Carrera 49 n.° 54-15, Bello, Antioquia, Colombia.

⁴ Centro Veterinario Animall, Calle 65 n.° 56-84, Medellín, Antioquia, Colombia.

⁵ Departamento de Enfermedades Infecciosas, Grupo de Investigación en Salud, Centro de Diagnóstico e Investigación TESTMOL SAS, Carrera 45D 60-16, Medellín 050012, Antioquia, Colombia.

* Autor de correspondencia. Correo electrónico: testmol2019@gmail.com

Molecular identification of hemotropic microorganisms transmitted by vectors in domestic canines from different veterinary centers in Medellín, Colombia

ABSTRACT

Vector-borne pathogens commonly known as “haemoparasites” are hemotropic organisms that range from nematodes, protozoa, viruses, and bacteria. This is a retrospective study of the databases of 3,300 dogs that aims to evaluate the frequency by qPCR for 9 hemotropics in the city of Medellín between June 2021 and March 2022, and the correlation of the presence of these agents with the Clinical manifestations and hemoleukograms of 20 positive dogs. Of the total dogs tested, 60% were positive to one or more agents. The number of animals infected with one, two, or three agents was 42.9% (1416/3,300), 17.7% (583/3,300), and 1.3% (42/3,300), respectively. In order from highest to lowest presence of haemoparasites, the number of dogs positive for a single agent was: *Anaplasma* spp. (14.1%), *Mycoplasma* spp. (13.9%), *Ehrlichia* spp. (6.1%), *Hepatozoon* spp. (5.4%), *Babesia* spp. (1%), filariae (0.9%), and *Bartonella* spp. (0.6%). The main clinicopathological alterations in 9 of 20 dogs positive for some haemoparasite and with nonspecific clinical signs (fever, anorexia, myalgia, lethargy) were anemia and/or thrombocytopenia, with or without an inflammatory leukogram. However, the absence of clinicopathological alterations in 11/20 positive animals does not rule out the presence of infection since the animals had a normal blood count. Experimental and field studies have shown that many dogs positive by serology and/or qPCR are clinically normal, and although they do not present an active infection, they may be asymptomatic carriers of haemoparasites. In this study the results are discussed and compared with others carried out in Colombia for the main haemoparasites of dogs.

Keywords: PCR, vector borne diseases, frequency, canine.

INTRODUCCIÓN

Los microorganismos hemotrópicos, comúnmente denominados hemoparásitos, son agentes infecciosos que varían desde nematodos (filarias), protozoos (*Hepatozoon canis*, *Babesia* spp., *Leishmania* spp.) y bacterias (*Ehrlichia* spp., *Rickettsia* spp., *Anaplasma* spp., *Borrelia* spp., *Mycoplasma* spp., *Bartonella* spp.). Son transmitidos principalmente por vectores artrópodos, durante la alimentación del vector infectado a una gran variedad de huéspedes mamíferos y con un gran potencial zoonótico. Existen además otras vías de transmisión como es el caso de *Hepatozoon* spp., el cual ingresa

por la ingesta de garrapatas infectadas, asimismo puede transmitirse por el uso de agujas contaminadas, transfusiones y se han descrito casos de transmisión vertical (Mierzejewska *et al.* 2014).

Después de la transmisión, se diseminan en la sangre por el sistema mononuclear fagocítico, dentro del eritrocito o por el torrente sanguíneo en forma de larva, como es el caso de las filarias, y son capaces de migrar a cualquier órgano, lo cual genera una respuesta inmunitaria caracterizada por la producción de anticuerpos (Bazzocchi *et al.* 2003). Estos agentes pueden generar una variedad de signos clínicos que dependen

del estado o fase de la enfermedad, ya sea aguda, subclínica y en algunos casos crónica (Harrus *et al.* 1998). Por esto, los signos clínicos varían desde asintomático hasta potencialmente mortal, lo que depende de manera parcial de la susceptibilidad del huésped, enfermedades concurrentes, inmunosupresión o individuos esplenectomizados (Messick 2004).

El diagnóstico puede ser complejo según la carga del agente y la fase clínica de la enfermedad, y a menudo se presentan coinfecciones (Rojas *et al.* 2014; Andrade *et al.* 2014). Entre las ayudas diagnósticas, el extendido de sangre periférica es un método rápido y de bajo costo, pero con una baja sensibilidad, debido a una baja carga del agente y que solo se observa en fases agudas (Derakhshandeh *et al.* 2017), el extendido tiene un nivel de detección en paciente inmunocompetente del 17% (Hamilton *et al.* 2004). También se cuenta con pruebas serológicas que se basan en la búsqueda de anticuerpos (Ac) utilizando métodos como ELISA e IFI (Franco-Zetina *et al.* 2019), donde la presencia de Ac indica exposición al patógeno y puede no ser detectable en estadios tempranos y agudos de la infección (Maggi *et al.* 2014). Existen pruebas comerciales que permiten la detección de anticuerpos IgG con una sensibilidad y especificidad variable de hasta 97,8% y 92,3%, respectivamente (Franco-Zetina *et al.* 2019). Además, se ha documentado una reacción cruzada con las diferentes especies de *Ehrlichia* spp. y con *Anaplasma* spp. (Harrus y Waner *et al.* 2011). Por su parte, la PCR cuenta con una sensibilidad del 95% y especificidad del 100% (Franco-Zetina *et al.* 2019). Finalmente, en un estudio donde se comparó una prueba de inmunocromatografía comercial (serología) con la PCR en el diagnóstico de VBD, se evidenció un 85% de concordancia en los

resultados positivos, con una discordancia con *Ehrlichia canis* y *Anaplasma platys* (Wong *et al.* 2011). Otro limitante de la serología es la falta de pruebas para babesiosis, *Hepatozoon*, *Mycoplasma* y *Bartonella*, mientras que la detección molecular permite identificar una gran variedad de agentes y sus diferentes especies.

En Colombia, existen numerosos reportes de hemotrópicos en perros por todo el país, siendo la erliquiosis la más estudiada y diagnosticada (Otalora *et al.* 2022; Vargas-Hernández, *et al.* 2012). Un estudio de seroprevalencia en 354 perros usando SNAP 4DX PLUS en Barranquilla y Puerto Colombia encontró que la seropositividad era: *Ehrlichia* spp. (62%), *Anaplasma* spp. (22%), *Dirofilaria immitis* (11,3%) y *Borrelia burgdorferi* (0,56%) (Otalora *et al.* 2022). Adicionalmente, el 40% de perros presentaban coinfección por dos o más patógenos, y tan solo 8,2% (29/354) de perros presentaban signos clínicos. En perros de las ciudades de Bogotá, Bucaramanga y Villavicencio, se evidenció una seroprevalencia de *Ehrlichia* spp. y *Babesia* spp. del 82,4% (75/91) y 51,6% (47/91), respectivamente (Vargas-Hernández *et al.* 2012a). En los mismos perros, solo 40,6% (37/91) y 5,5% (5/91) resultaron positivos mediante qPCR para *Ehrlichia canis* y *Babesia vogeli*, respectivamente. Además, el 31,8% (29/91) de perros también fueron positivos para *Hepatozoon canis* (Vargas-Hernández *et al.* 2012b). En Medellín, se detectó *Ehrlichia* spp. por qPCR en 11 de 33 perros (33,3%) (Carrillo-Bonilla *et al.* 2012). En una revisión de todos los patógenos transmitidos por vectores en Latinoamérica, se describen la mayoría de los estudios de prevalencia en Colombia (Maggi y Kramer 2019). No obstante, aún faltan estudios sobre otros agentes hemotrópicos en perros y gatos del país.

El objetivo de este estudio fue evaluar la frecuencia de 9 agentes hemotrópicos en perros de la ciudad de Medellín mediante qPCR y correlacionar la presencia de estos agentes con alteraciones en el hemoleucograma y manifestaciones clínicas.

MÉTODOS Y MATERIALES

Base de datos de perros

El estudio se realizó con una base de datos de 3.300 muestras de perros remitidos al laboratorio Testmol de Medellín entre julio de 2021 y marzo de 2022. Del total de perros analizados por qPCR, la historia clínica y hemogramas fueron aportados en 29 perros remitidos de 3 clínicas veterinarias.

Base de datos de los hemogramas

Se trató de aportes de clínicas veterinarias que se tabularon en una base de datos de Excel para su análisis posterior en SPSS versión 22. Las muestras hematológicas de esas bases de datos se analizaron usando el equipo Abacus (Abacus Vet Junior, Diatron MI Ltd, Budapest, Hungary), calibrado para la especie canina, para determinar 15 parámetros hematológicos, incluyendo las tres poblaciones y el conteo diferencial directo. El equipo se calibró cada vez con los blancos y calibradores proporcionados por los fabricantes. Se registraron los siguientes analitos: recuento RBC, concentración HGB, PCV (o HCT), MCV, MCH, MCHC, RDW, conteo plaquetas (PLT), conteo de WBC y niveles de neutrófilos, linfocitos, monocitos, eosinófilos, basófilos, fibrinógeno y proteínas totales TP. Se realizaron conteos absolutos y relativos.

El volumen de células empaquetadas (PCV) se midió usando el método estándar de microhematocrito (Van Assendelft *et*

al. 2001). El plasma restante de la centrifugación se depositó en un refractómetro (Atago Co. Ltd., Tokyo, Japan), con el cual se realizó el análisis de proteínas totales plasmáticas como indica el proceso estándar (Walker *et al.*, 1990).

En el hemograma, se interpretó anemia cuando el hematocrito estaba por debajo del valor mínimo del rango normal (<37%), la severidad se determinó así: leve (30-37%), moderada (20-29%), severa (13-19%), muy severa (<13%). El porcentaje de reticulocitos corregido con base en el hematocrito del paciente y el valor normal de 45% se empleó para determinar si la anemia era regenerativa (>1%) o no regenerativa (<1%). El leucograma inflamatorio se consideró si existía una o varias de las siguientes alteraciones: eosinofilia (>1000/ μ L), monocitosis (>1350/ μ L), leucocitosis (\geq 30.000/ μ L), presencia de neutrófilos tóxicos. Se consideró que había trombocitopenia cuando las plaquetas estaban disminuidas (<200.000/ μ L).

Comité de ética

El estudio renunció a la revisión y aprobación de un comité de ética, ya que solo hace uso de las bases de datos del laboratorio Testmol SAS y las historias clínicas de los pacientes, brindadas por los Médicos Veterinarios que realizaron la toma de muestras y cumpliendo con todos los protocolos de ética profesional en Colombia para la manipulación de animales en el ejercicio médico veterinario bajo la ley 576 del 2000 y la ley 84 de 1989.

Procedimiento de extracción de ADN utilizado en el laboratorio

Los resultados de las bases de datos se obtuvieron de la base de datos del laboratorio Testmol, los resultados de la extracción, por el método automatizado con el equipo

de extracción abierta Kingfisher™ Duo (Thermo Fisher Scientific Inc.) y el kit de purificación de ácido nucleico MagMAX™ CORE M Express-96 system (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA), de acuerdo con condiciones establecidas del fabricante para muestras de sangre con EDTA.

Resultados de base de datos de qPCR y las condiciones de ensayo utilizado en el laboratorio

Los resultados para qPCR obtenidos en la base de datos se obtuvieron de procesos con cebadores específicos (Macrogen, Corea) para cada agente evaluado, los cuales iban dirigidos a los genes bacterianos 16S y parasitarios 18S. Todos los controles positivos fueron proporcionados por el laboratorio Testmol–Centro de Investigación y Diagnóstico. Se usó agua de grado PCR como control negativo. Para control de extracción e interno se utilizaron cebadores específicos para genes de Citocromo B en mamíferos.

El ensayo de PCR en tiempo real fue realizado en un (Mie 4 Channels, Biomolecular Systems, Australia), con protocolos propios del laboratorio.

Análisis estadístico

Las evaluaciones estadísticas se realizaron mediante medidas de tendencia central y se utilizó la prueba exacta de Fisher y la prueba de chi-cuadrado para evaluar relación entre variables; $p \leq 0,05$ se consideró estadísticamente significativo. Los cálculos se realizaron utilizando estadísticas de ciencias sociales. (<http://www.socscistatistics.com/>).

Resultados

Del total de perros evaluados en las bases de datos, el 60,5% (1.999/3.300) fueron

positivos por qPCR a uno o más microorganismos hemotrópicos. El número de animales infectados con uno, dos o tres agentes fue del 42,9% (1.416/3.300), 17,7% (583/3.300), y 1,3% (42/3.300), respectivamente (tabla 1). En orden de mayor a menor presencia de hemoparásitos el número de perros positivos a un solo agente fue de: *Anaplasma* spp. (14,1%), *Mycoplasma* spp. (13,9%), *Ehrlichia* spp. (6,1%), *Hepatozoon* spp. (5,4%), *Babesia* spp. (1%), filarias (0,9%), y *Bartonella* spp. (0,6%). Las coinfecciones más frecuentes de mayor a menor presencia fueron: *Anaplasma* spp. y *Mycoplasma* spp. (6,8%), *Ehrlichia* spp. y *Mycoplasma* spp. (3,5%), *Anaplasma* spp. y *Hepatozoon* spp. (1,4%), y *Ehrlichia* spp. y *Hepatozoon* spp. (1,1%), *Anaplasma* spp. y *Babesia* spp. (0,9%).

Los datos de los hemogramas de 20 perros infectados con uno o más hemoparásitos se muestran en la tabla 2. Trece animales tenían infecciones por un solo agente y 7 con coinfecciones por dos agentes. De 11 infecciones con *Mycoplasma* spp., 5 de ellas eran coinfecciones con otro agente, y el hemograma era normal en 9 animales. Dos perros coinfectados con *Anaplasma* spp. y *Mycoplasma* spp. tenían signos clínicos compatibles con hemotrópicos (anorexia, vómitos, decaimiento) y presentaron anemia moderada, uno regenerativo y el otro no regenerativo. El leucograma era inflamatorio en 1 de los 2 perros y normal en el otro. De dos animales infectados solo con *Anaplasma* spp. Uno presentó anemia moderada no regenerativa, trombocitopenia, con leucograma inflamatorio y el otro no presentaba alteraciones hematológicas. De 3 animales infectados con *Hepatozoon* spp. Uno presentó anemia leve con leucograma inflamatorio y el otro estaba normal. El otro estaba coinfectado con *Hepatozoon* spp. y *Babesia* spp. y su hemograma era normal

TABLA 1. Frecuencia de hemoparásitos y coinfecciones identificadas por qPCR en perros de la ciudad de Medellín (n= 3.300 perros muestreados)

	Anaplasma spp.	Rickettsia spp.	Wolbachia spp.	Ehrlichia spp.	Babesia spp.	Bartonella spp.	Dirofilaria spp.	Hepatozoon spp.	Mycoplasma spp.	Total
<i>Anaplasma</i> spp.	465 (14,1%)	0	0	1 (0,0%)	30 (0,9%)	3 (0,1%)	1 (0,0%)	46 (1,4%)	222 (6,8%)	768 (23,3%)
<i>Rickettsia</i> spp.	0	0	0	0	0	0	0	1 (0,0%)	0	1 (0,0%)
<i>Wolbachia</i> spp.	0	0	0	0	0	0	8 (0,2%)	0	0	8 (0,2%)
<i>Ehrlichia</i> spp.				229 (6,9%)	12 (0,4%)	1 (0,0%)	0	37 (1,1%)	116 (3,5%)	395 (12,0%)
<i>Babesia</i> spp.					36 (1%)	0	0	0	20 (0,6%)	56 (1,7%)
<i>Bartonella</i> spp.						20 (0,6%)	0	0	4 (0,1%)	24 (0,7%)
<i>Dirofilaria</i> spp.							30 (0,9%)	0	15 (0,5%)	45 (1,4%)
<i>Hepatozoon</i> spp.								177 (5,4%)	66 (2,0%)	243 (7,4%)
<i>Mycoplasma</i> spp.									459 (13,9%)	459 (14,0%)

Fuente: elaboración propia con soporte en las bases de datos de 3.300 muestras de perros remitidos al laboratorio Testmol de Medellín entre julio de 2021 y marzo de 2022.
 **Valores en negrilla corresponden a la frecuencia de cada agente infeccioso.

TABLA 2. Perfil hemático de perros positivos a hemoparásitos en la ciudad de Medellín

Raza	Sexo	Edad (años)	Patógeno	GR (10 ⁹ /µL)	Hb (g/dL)	HTO (%)	Reticulocitos (10 ⁹ /µL)	Plaquetas (10 ³ /µL)	GB (10 ³ /µL)	Neut (µL)	Mono (µL)	Linf (µL)	Bandas (µL)	Eosin (µL)
Labrador	macho	2	<i>Mycoplasma</i> spp.	6,34	14,1	41,4	0,1	311	13,9	10147	0	3475	0	278
Pinscher	macho	12	<i>Mycoplasma</i> spp.	8,71	17,3	52,6	0,1	525	8,9	5340	0	2759	0	801
Golden Retriever	hembra	6	<i>Mycoplasma</i> spp.	7,14	19,2	52,8	0,1	176	11,8	10030	0	1770	0	0
Mestizo	macho	6	<i>Mycoplasma</i> spp.	7,44	19,4	55,4	0,2	294	11,1	6771	0	1554	0	2553
Mestizo	hembra	1	<i>Mycoplasma</i> spp.	5,18	12,3	37,8	0,1	267	8,31	6731	249	581,7	0	748
Husky	hembra	8	<i>Mycoplasma</i> spp.	5,17	11,7	35,5	0,8	342	10,3	8240	103	1339	0	680
Cocker Spaniel	hembra	6	<i>Mycoplasma</i> spp. + <i>Anaplasma</i> spp.	4,05	8,7	26,7	0,8	100	7,4	4300	200	2900	0	0
Shih Tzu	macho	13	<i>Mycoplasma</i> spp. + <i>Anaplasma</i> spp.	3,97	8,8	28	1,7	386	32,27	27429	1614	2904	0	0
Mestizo	macho	2	<i>Mycoplasma</i> spp. + <i>Ehrlichia</i> spp.	5,2	13,3	39,1	0,1	130	7,09	5672	70,9	1134	0	212,7
Bulldog Inglés	hembra	4	<i>Mycoplasma</i> spp. + <i>Ehrlichia</i> spp.	6,77	18,2	52,6	0,2	240	7,37	6191	0	1179	0	0
Mestizo	macho	-	<i>Mycoplasma</i> spp. + <i>Dirofilaria</i> spp.	5,1	12,5	36,9	0,2	223	7,42	4526	0	2894	0	0
Pitbull	hembra	10	<i>Anaplasma</i> spp.	4,08	10,1	27,8	0,6	140	17,47	10831	1048	5415	0	174
Border	hembra	2	<i>Anaplasma</i> spp.	6,37	16,6	50	0,1	370	7,3	4745	146	2117	0	292
Mestizo	hembra	1	<i>Bartonella</i> spp.	6,44	14,7	47,4	0,2	312	7,9	5767	0	2133	0	0
Yorkshire	hembra	0,4	<i>Babesia</i> spp.	2,14	4,7	14,6	0,8	105	20,4	17340	0	3060	0	0
Schnauzer	macho	2	<i>Babesia</i> spp. + <i>Hepatozoon</i> spp.	5,5	13,7	39,2	0,3	214	20,9	17765	0	2508	627	0
Siberiano	macho	5	<i>Ehrlichia</i> spp.	1,72	3,9	11,6	1,9	182	31,37	28546	0	2095	313	313
Cocker Spaniel	hembra	7	<i>Dirofilaria</i> spp.	2,58	6,3	22,6	1,6	185	58,7	45199	0	11740	1174	0
Schnauzer	macho	2	<i>Hepatozoon</i> spp.	5,5	13,7	39,2	0,3	214	20,9	NA	0	2508	0	0
Pastor Alemán	macho	1,7	<i>Hepatozoon</i> spp.	3,14	12,3	35	0,8	207	31,4	20724	0	10676	0	0

Fuente: elaboración propia con soporte en las bases de datos de 3.300 muestras de perros remitidos al laboratorio Testmol de Medellín entre julio de 2021 y marzo de 2022. *GR: glóbulos rojos. Hb: hemoglobina, GB: glóbulos blancos. HTO: Hematocrito. ** Valores en negrita están por fuera del rango normal en perros.

a pesar de tener signos clínicos de fiebre, anorexia y decaimiento. Infección por *Ehrlichia* spp. Se presentó en 3 animales, 2 de ellos coinfectados con *Mycoplasma* spp. El infectado solo con *Ehrlichia* spp. tenía anemia muy severa no regenerativa con leucograma de estrés. Los dos coinfectados tenían un hemograma normal, excepto en uno que tenía trombocitopenia leve de 130×10^3 plaquetas/ μL . Un animal infectado con *Babesia* spp. tenía una anemia severa no regenerativa, trombocitopenia y leucograma de estrés. Por último, un perro positivo a filarias tenía una anemia moderada no regenerativa, trombocitopenia y leucograma inflamatorio con leucocitosis marcada (54.000 glóbulos blancos/ μL) y desviación a la izquierda.

Al realizar las pruebas de Fisher y Chi-cuadrado no se evidenció relación estadísticamente significativa entre las variables analizadas.

DISCUSIÓN

Al determinar la frecuencia de perros positivos a uno o más de los 9 agentes hemotrópicos evaluados en la ciudad de Medellín mediante qPCR, y teniendo presente que no existe hasta la fecha ningún estudio que haya valorado tantos microorganismos hemotrópicos simultáneamente en Colombia, identificamos que el 60.5% de los perros testados eran positivos a uno o más agentes. No obstante, puesto que los animales testados no fueron escogidos aleatoriamente de la población en Medellín, los resultados no pueden considerarse como una prevalencia. Sin embargo, corroboran los hallazgos en otras partes del país donde la prevalencia es alta tanto en animales sintomáticos como sanos (Carrillo–Bonilla, *et al.* 2012; Otalora *et al.* 2022; Rojas–Triviño *et al.*

2013; Molano *et al.* 2008; Thomas *et al.* 2020; Vargas–Hernández *et al.* 2012a; Vargas–Hernández *et al.* 2012b). Los agentes más identificados fueron: *Anaplasma* spp. (14,1%), *Mycoplasma* spp. (13,9%) y *Ehrlichia* spp. (6,9%). En estudios previos en Colombia, la seroprevalencia se estimó en 22% (78/354) en Barranquilla y Puerto Colombia (Otalora *et al.* 2022); en 40% (89/223), 51% (51/100) y 12% (21/175) para *A. phagocytophilum* en Barranquilla, Cartagena y Medellín, respectivamente (McCown *et al.* 2014a); y 53% (116/218) para *A. platys* en Barranquilla (McCown *et al.* 2014b). En el último estudio, tan solo 16% (35/218) de los perros eran positivos por qPCR (McCown *et al.* 2014b), lo cual sugiere que los animales seropositivos habían eliminado la infección, o bien que no existía presencia del organismo circulando para ser detectados por qPCR. En otro reporte en Barranquilla tan solo el 10,2% (8/78) de los perros seropositivos a *Anaplasma* spp., y el 9,5% (21/219) positivos a *Ehrlichia* spp. mostraban signos clínicos compatibles con agentes hemotrópicos (anorexia, letargo, trastornos digestivos, anemia) (Otalora *et al.* 2022). En este estudio, 3 de 4 perros infectados con *Anaplasma* spp. (2 coinfectados con *Mycoplasma* spp.) presentaban anemia moderada, de los cuales 2 presentaban un leucograma inflamatorio. Los 3 perros con anemia presentaban signos de anorexia, vómitos y decaimiento.

Mycoplasma spp. se detectó en el 13,9% de perros. A diferencia de las infecciones con otros agentes más frecuentes (*Babesia* spp., *Ehrlichia* spp. y *Anaplasma* spp.), que a menudo se reportan asociadas a signos clínicos y anemia (Galvan *et al.* 2018; Castro *et al.* 2004), las infecciones por hemoplasmas suelen ser subclínicas y pueden no generar alteraciones hematológicas en perros infectados (Cannon *et al.* 2017;

Constantino *et al.* 2017), a menos que se encuentre inmunodeprimido, en coinfección o esplenectomizado. En este estudio, 9 de 10 perros tenían un hemograma normal y solo un animal tenía anemia moderada asociada a un leucograma inflamatorio. A pesar de la falta de estudios en Colombia, en Suramérica se ha demostrado que los *Mycoplasmas* hemotrópicos son muy prevalentes en perros sanos con valores de 77,1% en Argentina (Mascarelli *et al.* 2016); 23,8% en Chile (Cataldo *et al.* 2021), 44,7-5,1% en Brasil (Biondo *et al.* 2009; Constantino *et al.* 2017; Vieira *et al.* 2015; Valle, *et al.* 2014). En el caso de *Ehrlichia* spp., se identificó en el 6,9% de perros testados. En numerosos estudios se ha determinado una seroprevalencia a *E. canis* en distintas ciudades de Colombia: 26% en Medellín, 67% en Bogotá, 74-83% en Barranquilla, 80% en Cartagena, 45,2% en Villavicencio y 45,2% en Bucaramanga (Vargas-Hernandez *et al.* 2012a; McCown *et al.* 2014b). Al igual que ocurre con *Anaplasma* spp. (McCown *et al.* 2014b) y *Babesia* spp. (Vargas-Hernández, *et al.* 2012a), cuando la seroprevalencia frente a *E. canis* era del 82,3% en perros de tres ciudades de Colombia, tan solo el 40,6% eran positivos por qPCR (Vargas-Hernández *et al.* 2012a), debido a que la presencia de anticuerpos solo indica exposición al agente y el diagnóstico definitivo en ausencia de detección molecular se debe correlacionar con hallazgos clínicos y alteraciones en el hemoleucograma sugerentes de hemotrópicos, ya que también es posible que un perro presente una enfermedad concurrente no relacionada después de un tratamiento exitoso y aún muestre una persistencia continua de anticuerpos séricos (Frank *et al.* 1999).

En este estudio, de 3 animales positivos a *Ehrlichia* spp. y con hemograma, solo uno presentaba anemia muy severa no

regenerativa con leucograma compatible de estrés y recuento de plaquetas en $182 \times 10^3/\mu\text{L}$. Los otros 2 estaban en coinfección con *Mycoplasma* spp. y su hemograma solo evidenció trombocitopenia ($130 \times 10^3/\mu\text{L}$) en un animal. Otros estudios en perros con anemia observaron que aquellos animales coinfectados con *E. canis* y *Mycoplasma* spp. presentaban un grado de anemia y trombocitopenia más severo que los infectados únicamente con *E. canis* (Kaewmongkol *et al.* 2017). *Hepatozoon* spp. fue identificado en 177 perros (5,4%), en coinfección con *Anaplasma* spp. en 46 (1,4%) y con *Ehrlichia* spp. en 37 (1,1%). En un estudio en 3 ciudades de Colombia se diagnosticó *H. canis* por qPCR en 29/91 (31,8%) de perros, la mayoría de ellos en refugios donde el control de garrapatas es inadecuado (Vargas-Hernández *et al.* 2012). Otro estudio en 83 perros de refugios en Italia reportó que, en la época de garrapatas en verano, 51,2% y 41,5% de animales eran positivos por qPCR y citología de la capa leucocitaria, respectivamente (Otranto *et al.* 2011). Y ninguno de ellos presentaba signos clínicos a pesar de que el 74,8% de los infectados mostraba alguna alteración hematológica, principalmente eosinofilia y un leucograma inflamatorio. En este estudio solo un paciente positivo presentaba fiebre, rigidez, letargo, depresión, descargas oculares mucopurulentas y caquexia por atrofia muscular asociadas a una anemia leve no regenerativa con leucocitosis. *Babesia* spp. se identificó en 78 perros (2,3%), de los cuales 30 y 12 casos tenían coinfección con *Anaplasma* spp. y *Ehrlichia* spp., respectivamente. Hay descritas 3 subespecies de *B. canis* que afectan a los perros: *B. canis canis*, *B. canis vogeli* y *B. canis rossi* (Koster *et al.* 2015). En Colombia, estudios moleculares han identificado *B. vogeli* y *B. canis*

(Galván *et al.* 2018; Vargas–Hernández *et al.* 2012a). Todas las especies pueden producir distintos grados de anemia hemolítica y trombocitopenia. Signos clínicos agudos como fiebre, anorexia, letargo, debilidad, membranas mucosas pálidas, ictericia y esplenomegalia (Koster *et al.* 2015). No obstante, en el presente estudio solo un caso clínico positivo a *Babesia spp.* presentaba una anemia muy severa no regenerativa, hipoalbuminemia (proteínas en 4 mg/dL) y leucograma de estrés.

La frecuencia evidenciada en este estudio para filarias es del 0,9%, y en coinfección con *Mycoplasma spp.* en un 0,5%. En otros estudios en Colombia se ha reportado una prevalencia general de *D. immitis* en perros de refugio en el área metropolitana de Bucaramanga por frotis de sangre y prueba de Knott modificada de 6,3% (13/207) y 0,5% (1/207) por kit de inmunocromatografía (Muñoz *et al.* 2020). En el suroeste de Colombia, en un estudio donde se seleccionaron 82 casos de microfilariasis identificados microscópicamente, el 81,7% (67/82) resultaron positivos por PCR y 43 individuos del grupo control fueron negativos. Sin embargo, las 82 muestras positivas por visualización correspondían a un total de 2.971 muestras, lo que nos arroja una frecuencia del 2,7% (82/2971) (Espinosa *et al.* 2020). En otro estudio donde se evaluó caninos de Medellín, Barranquilla y Cartagena la prevalencia de agentes hemotrópicos mediante IDEXX SNAP® 4Dx®, se evidenció en Medellín el 0% de *D. immitis*. Sin embargo, en Barranquilla, la prevalencia para *D. immitis* fue 2 % y en Cartagena, del 3% (McCown *et al.* 204b). Otras filarias de caninos se han identificado en aumento en ciudades como Cali, donde *Acanthocheilonema reconditum*

fue identificado en el 61,3% de los casos (49/82) (Espinosa *et al.* 2022).

Distintos tipos de garrapatas se han identificado como vectores que transmiten enfermedades (VBD, por su sigla en inglés). De un total estimado de 800 especies de garrapatas a nivel mundial, los principales géneros implicados en transmitir hemoparásitos son *Ixodes spp.*, *Dermacentor spp.*, *Amblyomma spp.* y *Rhipicephalus spp.* (Chomel 2011). Por su parte, las pulgas (*Ctenocephalides canis* y *C. felix*) se han visto que pueden estar infectadas con *Rickettsia spp.*, *Bartonella spp.* y *Dirofilaria immitis* (Foongladda *et al.* 2011). En el caso de *Dirofilaria immitis*, varias especies de los géneros *Culex spp.*, *Aedes spp.* y *Anopheles spp.* intervienen en la transmisión de este parásito, al igual que Wolbachia, que es una bacteria endosimbiótica de *D. immitis*, con un rol importante en el ciclo de este nemátodo (Esteban–Mendoza *et al.* 2020). Sin embargo, en el caso de *Acanthocheilonema reconditum*, otra especie de filaria que infecta a perros, la cual generapatologías que suelen ser asintomáticas o leves, su transmisión se ha reportado principalmente por *Ctenocephalides felis* (Palacios, *et al.* 2022). En Medellín, de un total de 193 garrapatas recogidas de perros urbanos, dos especies se identificaron: *Rhipicephalus sanguineus* (92,2%) y *R. microplus* (7,8%) (Arroyave *et al.* 2020). En dicho estudio se detectó ADN para *Ehrlichia spp.* y *Anaplasma platys* en el 30% y 8% de las garrapatas, respectivamente. En el presente estudio se diagnosticaron coinfecciones por dos o tres agentes en 17,7% (583/3.300) y 1,3% (42/3.300) de perros testeados, lo que sugiere que *Rhipicephalus sanguineus* podría transmitir varios patógenos simultáneamente.

CONCLUSIÓN

En este estudio se logra evidenciar la presencia de 9 agentes hemotrópicos en perros de la ciudad de Medellín mediante qPCR, y que, al igual que en otros reportes, algunos caninos positivos a algún agente hemotrópico pueden encontrarse sin alteraciones clínico-patológicas, y si bien se encuentran aparentemente sanos, estos individuos pueden desencadenar cuadros agudos o crónicos a futuro y ser fuente de infección para otros animales e incluso la población humana en presencia del vector. Por lo anterior, se hace necesario realizar otros estudios que busquen evaluar la presencia de estos agentes hemotrópicos en una población mayor que incluya pacientes sugerentes de la enfermedad y otro grupo control, y que asimismo permitan dar un acercamiento a una prevalencia de hemotrópicos en caninos de Medellín y correlacionar la presencia de uno o más agentes infecciosos con posibles manifestaciones clínicas y valores de sus respectivos hemoleucogramas.

Además, al comparar los resultados de frecuencia con otros estudios de seroprevalencia y PCR reportados, la serología suele detectar un mayor número de animales positivos de los que son identificados mediante qPCR, por lo que se enfatiza la detección molecular como herramienta diagnóstica más confiable en este tipo de patógenos transmitidos por vectores.

CONFLICTO DE INTERESES

Declaramos que no existe conflicto de intereses entre los autores.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a las clínicas veterinarias que aportaron los hemogramas de los

pacientes y ayudaron en el análisis de los datos y al señor David Gómez, por su ayuda en análisis de datos y organización de la base de datos.

FUENTES DE FINANCIACIÓN

Investigación realizada con recursos propios, no se recibieron recursos de ninguna entidad para la investigación.

CONTRIBUCIÓN DE LOS AUTORES

Todos los autores contribuyeron de forma equitativa al proceso del análisis de datos y elaboración del artículo.

DISPONIBILIDAD DE LOS DATOS Y

MATERIALES

Todos los datos y materiales están disponibles con el autor de correspondencia, sin embargo, las condiciones de ensayo hacen parte de propiedad intelectual de la compañía Testmol SAS y su disponibilidad está asociada a un contrato legal por las partes interesadas.

REFERENCIAS

- Andrade GB, Barreto WTG, Santos LLD, Ribeiro LRR, Macedo GCD, Sousa KCMD y Herrera HM. 2014. Pathology of dogs in Campo Grande, MS, Brazil naturally co-infected with *Leishmania infantum* and *Ehrlichia canis*. Rev Bras Parasitol Vet. 2014;23(4):509-15. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612014081>
- Arroyave E, Cornwell ER, McBride JW, Díaz CA, Labruna MB, Rodas JD. 2020. Detection of tick-borne rickettsial pathogens in naturally infected dogs and dog-associated ticks in Medellín, Colombia. Rev Bras Parasitol Vet. 29(3):e005320. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612020060>
- Bazzocchi C, Genchi C, Paltrinieri S, Lecchi C, Mortarino M y Bandi C. 2003. Immunological role of the endosymbionts of *Dirofilaria immitis*:

- the Wolbachia surface protein activates canine neutrophils with production of IL-8. *Veterinary parasitology*. 117(1-2):73-83. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2003.07.013>
- Biondo AW, Dos Santos AP, Guimaraes AM, Vieira RF, Vidotto O, Macieira B, Almosny NR, Molento MB, Timenetsky J, De Morais HA, Gonzalez FH, Messick JB. 2009. A review of the occurrence of haemoplasmas (hemotrophic mycoplasmas) in Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet*. 18:1-7. <https://doi.org/10.4322/rbpv.01803001>
- Cannon SH, Levy JK, Kirk SK, Crawford PC, Leutenegger CM, Shuster JJ y Chandrashekar R. 2016. Infectious diseases in dogs rescued during dogfighting investigations. *The Veterinary Journal*. 211:64-69. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2016.02.012>
- Carrillo-Bonilla LM, Betancur Cardona S, Roldán Cardona D, Pérez Jaramillo JE, Galeano Rivera D, Loaiza Echeverría ET y Giraldo Echeverría CA. 2012. Implementación de un método basado en PCR, para el diagnóstico de *Ehrlichia* spp. en caninos de Medellín (Colombia). *CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*. 7(2):38-46. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1900-96072012000200005&lng=en&tlng=
- Castro M, Machado R, Aquino L, Alessi A, Costa MT. 2004. Experimental acute canine monocytic ehrlichiosis: clinicopathological and immunopathological findings. *Vet. Parasitol*. 119:73-86. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2003.10.012>
- Chomel, B. 2011. Tick-borne infections in dogs—An emerging infectious threat. *Veterinary Parasitology*. 179:294-301. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.03.040>
- Constantino C. De Paula EFE, Brandão APD, Ferreira F, Da Costa Vieira RF y Biondo AW. 2017. Survey of spatial distribution of vector-borne disease in neighborhood dogs in southern Brazil. *Open Veterinary Journal*. 7(1):50-56. <https://doi.org/10.4314/ovj.v7i1.7>
- Derakhshandeh N, Sharifiyazdi H, Abbaszadeh Hasiri M. 2017. Molecular detection of *Ehrlichia* spp. in blood samples of dogs in southern Iran using polymerase chain reaction. *Vet Res Forum*. 8(4):347-351. Epub 2017 Dec 15. PMID: 29326795; PMCID: PMC5756256.
- Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5756256/>
- Espinosa N, Rosero A, Villegas CL, García IC, Gaviria-Cantín T, Peña A y Ramírez LMN. 2020. Canine filariasis outbreak in south-western Colombia: A Molecular and Epidemiological Study. <https://doi.org/10.20944/preprints202010.0221.v1>
- Espinosa N, Rosero A, Villegas CL, García IC, Gaviria-Cantín T, Nieto AP y Nieto Ramírez LM. 2022. First Report of *Acanthocheilonema reconditum* Outbreak in Canines with Clinical Signs of Anemia from Southwestern Colombia. *Pathogens*. 11(12):1434. <https://doi.org/10.3390/pathogens11121434>
- Esteban-Mendoza MV, Arcila-Quiceno V, Albaracín-Navas J, Hernández I, Flechas-Alarcón MC y Morchón R. 2020. Current situation of the presence of *Dirofilaria immitis* in dogs and humans in Bucaramanga, Colombia. *Frontiers in Veterinary Science*. 7:488. <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.00488>
- Franco-Zetina M, Adame-Gallegos J y Dzúl-Rosado K. 2019. Efectividad de los métodos diagnósticos para la detección de ehrlichiosis monocítica humana y canina. *Revista chilena de infectología*. 36(5):650-655. <http://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182019000500650>
- Frank JR y Breitschwerdt EB. 1999. A retrospective study of ehrlichiosis in 62 dogs from North Carolina and Virginia. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 13(3): 194-201. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.1999.tb02178.x>
- Foongladda S, Inthawong D, Kositanont U y Gaywee J. 2011. Rickettsia, Ehrlichia, Anaplasma, and Bartonella in ticks and fleas from dogs and cats in Bangkok. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*. 11(10):1335-1341. <https://doi.org/10.1089/vbz.2010.0174>
- Galvan C, Miranda J, Mattar S y Ballut J. 2018. Babesia spp. in dogs from Córdoba, Colombia. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*. 24(6). <https://doi.org/10.9775/kvfd.2018.19982>
- Hamilton KS, Standaert SM y Kinney MC. 2004. Characteristic peripheral blood findings in human ehrlichiosis. *Modern pathology* 17(5):512-517. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/3800075>

- Harrus S, Waner T, Aizenberg I, Foley JE, Poland AM, Bark H. 1998. Amplification of Ehrlichial DNA from dogs 34 months after infection with *Ehrlichia canis*. J Clin Microbiol. 36(1):73-76. <https://doi.org/10.1128/JCM.36.1.73-76.1998>
- Harrus S y Waner T. 2011. Diagnosis of canine monocytotropic ehrlichiosis (*Ehrlichia canis*): an overview. The Veterinary Journal. 187(3):292-296. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2010.02.001>
- Kaewmongkol G, Lukkana N, Yangtara S, Kaewmongkol S, Thengchaisri N, Sirinarumitr T y Fenwick SG. 2017. Association of *Ehrlichia canis*, Hemotropic *Mycoplasma* spp. and *Anaplasma platys* and severe anemia in dogs in Thailand. Veterinary microbiology. 201:195-200. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2017.01.022>
- Koster LS, Lobetti RG, Kelly P. 2015. Canine babesiosis: a perspective on clinical complications, biomarkers, and treatment. Veterinary Medicine: Research and Reports. 6:119-128. <https://doi.org/10.2147/VMRR.S60431>
- Maggi RG, Birkenheuer AJ, Hegarty BC, Bradley JM, Levy MG, Breitschwerdt EB. 2014. Comparison of serological and molecular panels for diagnosis of vector-borne diseases in dogs. Parasite Vectors. 7:127. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1186/1756-3305-7-127>
- Maggi RG y Kramer F. 2019. A review on the occurrence of companion vector-borne diseases in pet animals in Latin America. Parasites Vectors. 12:145. <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3407-x>
- Mascarelli PE, Tartara GP, Pereyra NB y Maggi RG. 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):1-5. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1920-8>
- McCown ME, Monterroso VH, Cardona W. 2014a. Surveillance for *Ehrlichia canis*, *Anaplasma phagocytophilum*, *Borrelia burgdorferi*, and *Dirofilaria immitis* in dogs from three cities in Colombia. J Spec Oper Med. 14:86-90. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1900-96072015000200014
- McCown ME, Alleman A, Saylor KA, Chandrashekar R, Thatcher B, Tyrrell P y Barbet AF. 2014b. Point prevalence survey for tick-borne pathogens in military working dogs, shelter animals, and pet populations in northern Colombia. J Spec Oper Med. 14(4):81-5. Disponible en: https://www.academia.edu/20545612/Point_prevalence_survey_for_tick_borne_pathogens_in_military_working_dogs_shelter_animals_and_pet_populations_in_northern_Colombia
- Messick JB. 2004. Hemotrophic mycoplasmas (hemoplasmas): a review and new insights into pathogenic potential. Veterinary Clinical Pathology. 33(1):2-13. <https://doi.org/10.1111/j.1939-165X.2004.tb00342.x>
- Mierzejewska EJ, Welc-Fałęciak R, Bednarska M, Rodo A y Bajer A. 2014. The first evidence for vertical transmission of *Babesia canis* in a litter of Central Asian Shepherd dogs. Annals of Agricultural and Environmental Medicine. 21(3):500-503. <https://doi.org/10.5604/12321966.1120590>
- Molano RFS, Ucrós NS y Echeverri AML. 2008. Reporte de presentación de *Ehrlichia canis* en muestras sanguíneas de caninos en la ciudad de Cali, Colombia. Revista Veterinaria y Zootecnia (On Line). 2(1):27-31. Disponible en: <https://revistasojs.ucaldas.edu.co/index.php/vetzootec/article/view/5743>
- Muñoz AAF, Martínez AR y Pinilla JC. 2020. Prevalence of *Dirofilaria immitis* in shelter dogs in Bucaramanga metropolitan area, Colombia. Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports. 22:100489. <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2020.100489>
- Otranto D, Dantas-Torres F, Weigi S, Latrofa MS, Stanneck D, Decapariis D, Capelli G, Baneth G. 2011. Diagnosis of *Hepatozoon canis* in young dogs by cytology and qPCR. Parasitol Vectors. 13(4):55. Disponible en: <https://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/1756-3305-4-55>
- Otalora O, Couto G, Benavides J, Mucha C y Morchón R. 2022. Current distribution of selected canine vector borne diseases in domestic dogs from Barranquilla and Puerto Colombia, Atlántico, Colombia. Veterinary Medicine and Science. 8(1):46-51. <https://doi.org/10.1002/vms3.673>
- Palacios,.; Rincón R, Castellanos A. 2022. Molecular Detection of the Endosymbiont *Wolbachia* sp. in *Acanthocheilonema reconditum* and Potential

- Vectors. Preprints 2022. 2022020191. <https://doi.org/10.20944/preprints202202.0191.v1>
- Rojas A, Rojas D, Montenegro V, Gutiérrez R, Yasur-Landau D y Baneth G. 2014. Vector-borne pathogens in dogs from Costa Rica: first molecular description of *Babesia vogeli* and *Hepatozoon canis* infections with a high prevalence of monocytic ehrlichiosis and the manifestations of co-infection. *Veterinary parasitology*. 199(3-4):121-128. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.10.027>
- Rojas-Triviño A, Rueda Hurtado A, Díaz Molano DM, Mesa Cobo NC, Benavides Montaño JA, Imbachi López K, Álvarez Ríos L y López Bermúdez R. 2013. Identificación de *Ehrlichia canis* (Donatien & Lestoquard) Moshkovski mediante PCR anidada. *Revista Veterinaria y Zootecnia (On Line)*. 7(1):37-48. Disponible en: <https://revistasojs.ucaldas.edu.co/index.php/vetzootec/article/view/4403>
- Thomas RS, Santodomingo AM, Castro LR. 2020. Molecular detection of *Babesia canis vogeli* and *Hepatozoon canis* in dogs in the department of Magdalena (Colombia). *Rev Med Vet Zoot* 2020. 67(2):107-122. <https://doi.org/10.15446/rfmvz.v67n2.90701>
- Van Assendelft OW, Bull BS, Fujimoto K, Groner W, Houwen B, Van Hove L *et al*. 2001. Recommendations for reference method for the packed cell volume (ICSH Standard 2001). *Laboratory Hematology*. 7(3):148-170.
- Vargas-Hernández G, André MR, Faria JLM, Munhoz TD, Hernández-Rodríguez M, Machado RZ y Tinucci-Costa M. 2012a. Molecular and serological detection of *Ehrlichia canis* and *Babesia vogeli* in dogs in Colombia. *Veterinary Parasitology*. 186(3-4):254-260. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.11.011>
- Vargas-Hernández G, André MR, Munhoz TD, Faria JM, Machado RZ y Tinucci-Costa M. 2012b. Molecular characterization of *Hepatozoon canis* in dogs from Colombia. *Parasitology Res*. 110(1):489-492. <https://doi.org/10.1007/s00436-011-2634-7>
- Vargas-Hernández G, André MR, Faria JLM, Munhoz TD, Hernández-Rodríguez M, Machado RZ y Tinucci-Costa M. 2012c. Molecular and serological detection of *Ehrlichia canis* and *Babesia vogeli* in dogs in Colombia. *Veterinary Parasitology*. 186(3-4):254-260. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.11.011>
- Vieira RFDC, Vidotto O, Vieira TSWJ, Guimaraes AMS, Santos APD, Nascimento NC y Messick JB. 2015. Molecular investigation of hemotropic mycoplasmas in human beings, dogs and horses in a rural settlement in southern Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*. 57:353-357. <https://doi.org/10.1590/S0036-46652015000400014>
- Wong SS, Teng JL, Poon RW, Choi GK, Chan KH, Yeung MLY Yuen KY. 2011 Comparative evaluation of a point-of-care immunochromatographic test SNAP 4Dx with molecular detection tests for vector-borne canine pathogens in Hong Kong. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 11(9):1269-1277. <https://doi.org/10.1089/vbz.2010.0265>

Forma de citación del artículo:

Ríos-Usuga C, Arias A, Gómez D, Pérez D, Muñoz-Cadavid C, Jaramillo-Delgado IL. 2023. Identificación molecular de microorganismos hemotrópicos transmitidos por vectores en caninos domésticos de diferentes centros veterinarios de Medellín, Colombia. *Rev Med Vet Zoot*. 70(2):206-219. <https://doi.org/10.15446/rfmvz.v70n2.104573>