






Detección molecular de *Ehrlichia canis* en perros de diferentes localidades de la provincia de Córdoba, Argentina

Molecular detection of *Ehrlichia canis* in dogs from different locations of the province of Córdoba, Argentina

ARK-CAICYT: <http://id.caicyt.gov.ar/ark:/s26182734/6i0au4nm7>

Corina Guendulain^{1*} ; Pablo Tamiozzo² ; Anibal Bessone¹ ; Marina Caffaratti¹ ; Fernanda Giménez¹ ; Sebastián Cabello³; Mariana Bonacci⁴

- 1- Departamento de Clínica Animal, Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto.
- 2- Departamento de Patología Animal, Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto.
- 3- Médico Veterinario, práctica privada Alta Gracia.
- 4- Médica Veterinaria, práctica privada, Adelia María.

RESUMEN. Los agentes transmitidos por garrapatas constituyen un problema emergente que pueden causar enfermedades graves y/o infecciones subclínicas en los perros. Las garrapatas juegan un rol importante como reservorio de estos microorganismos que pueden transmitirse a otros perros e inclusive al hombre. La ehrlichiosis monocítica canina producida por *Ehrlichia canis* es una de las enfermedades transmitidas por garrapatas más frecuente; el agente se transmite al perro por la picadura de la garrapata *Rhipicephalus sanguineus* infectada y se disemina por sangre y por el sistema linfático a hígado, bazo y ganglios linfáticos. Esta enfermedad ha sido diagnosticada en perros de distintas zonas del país, pero en la provincia de Córdoba no hay reportes de su diagnóstico por técnicas moleculares. El objetivo de este trabajo fue determinar la presencia de *Ehrlichia canis* en perros con sintomatología compatible con esta infección; para ello se realizó la técnica de PCR a sangre de perros de la ciudad de Río Cuarto y de las localidades de Alta Gracia y Adelia María, encontrándose 8 positivos.

PALABRAS CLAVE: perro, ehrlichiosis, garrapata

ABSTRACT. Tick-borne agents are an emergent problem which can cause severe diseases and/or sub-clinic infections in dogs. Ticks play an important role as reservoir of these microorganisms which can infect other dogs and even humans. Canine monocytic ehrlichiosis is one of the most frequent tick-borne diseases. It is transmitted to the dog through an infected tick (*Rhipicephalus sanguineus*) bite, and its spreads through the blood and the lymphatic system to liver, spleen and lymph nodes. This disease has been diagnosed in dogs from different areas of the country; however there are not records about its molecular diagnosis in Córdoba province. The aim of this work was to determine the presence of *Ehrlichia canis* in dogs with symptoms compatible with this infection; for this purpose, PCR were performed on dog's blood from the city of Río Cuarto and the towns of Alta Gracia and Adelia María, where 8 positive cases were found.

KEY WORDS: dog, ehrlichiosis, tick

Cómo citar este artículo: Guendulain, C., Tamiozzo, P., Bessone, A., Caffaratti, M., Cabello, S., Bonacci, M. (2021). Detección molecular de *Ehrlichia canis* en perros de diferentes localidades de la provincia de Córdoba, Argentina. Revista *Ab Intus*. 7 (4)

Artículo recibido: 13 de octubre de 2020 . Artículo aceptado: 25 de enero de 2021

Este estudio recibió financiamiento de la Secretaría de Ciencia y Técnica de la UNRC y cuenta con la aprobación del Comité de Ética de la UNRC, en el marco de los Programas y Proyectos de Investigación (Res. Rectoral N° 161/16-1038/18), según consta en el acta N° 88 del 21 de abril de 2016, Expte. N° 158/16.

***Autora para correspondencia:** Corina Guendulain. Ruta Nacional 36, Km. 601, 5804 Río Cuarto, Córdoba, Argentina; E MAIL cguendulain@ayv.unrc.edu.ar

Esta obra está bajo licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/deed.es_AR

Las garrapatas son artrópodos hematófagos que se encuentran entre los vectores más importantes de enfermedades infecciosas en el mundo y que actúan como reservorios de agentes infecciosos de importancia en la salud pública (Baneth, 2014). En consecuencia, las enfermedades transmitidas por garrapatas son ahora foco de interés en áreas del mundo en las que se consideraban no endémicas, en especial aquellas que afectan a animales de compañía debido al rol social y a su estrecha relación con los seres humanos (Shaw *et al.*, 2001). La propagación de las garrapatas a zonas urbanas y semiurbanas debido, entre otros factores, al cambio climático y al movimiento de perros infectados hacia zonas previamente no endémicas, ha favorecido la emergencia de estos agentes infecciosos. Estos artrópodos pueden transmitir patógenos causales de enfermedades tales como hepatozoonosis y ehrlichiosis, entre otros (Baneth *et al.*, 2001; Baneth *et al.*, 2009; Dantas-Torres *et al.*, 2012). La ehrlichiosis monocítica canina (EMC) es una enfermedad emergente, con distribución mundial, producida por *Ehrlichia canis* (*E. canis*), bacteria intracelular obligatoria de la familia *Anaplasmataceae*, transmitida por la garrapata *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato (*R. sanguineus* s. l.) (Bremer *et al.*, 2005). En el perro puede cursar con tres fases: aguda, subclínica y crónica. La primera fase ocurre entre 8 y 20 días post infección, que puede resultar en la recuperación total con desaparición de los signos clínicos entre la primer y cuarta semana o inducir a una fase subclínica que puede durar de meses a años. La fase crónica puede seguir a la fase subclínica, en la cual es muy difícil la recuperación del paciente. El perro representa una potencial fuente de infección en las diferentes fases, en las que puede transmitir el agente a las garrapatas (Harrus *et al.*, 1998). Los síntomas varían según la fase en la que se encuentre el paciente; los más frecuentes son fiebre, depresión, anorexia, pérdida de peso, desórdenes hemorrágicos, linfadenomegalia y esplenomegalia (Neer *et al.*, 2002; Harrus *et al.*, 2012). La anemia, trombocitopenia, leucopenia, hiperglobulinemia e hipoalbuminemia son los hallazgos de laboratorio característicos (Neer *et al.*, 2002; Castro *et al.*, 2004; Baneth *et al.*, 2009). Existe cierta dificultad en el diagnóstico debido a que la observación al microscopio óptico de una muestra de sangre carece de sensibilidad y especificidad, por lo cual otros métodos diagnósticos son recomendados (Harrus *et al.*, 2012). Las pruebas serológicas que

detectan anticuerpos (Ac), como la inmunofluorescencia indirecta (IFI), y las pruebas rápidas comerciales basadas en el ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) y la inmunocromatografía, son útiles ante la sospecha clínica de la enfermedad (Waner *et al.*, 2001; Harrus *et al.*, 2002), sin embargo, tienen algunas limitaciones, como las reacciones cruzadas con otras especies de *Ehrlichia*, resultados falsos negativos en la etapa aguda de la infección, y anticuerpos persistentes que pueden confundir el diagnóstico (Waner *et al.* 2001; Neer *et al.*, 2002; Harrus y Waner, 2011; Allison y Little, 2013; Martin *et al.*, 2019). Por otra parte, la PCR, si bien es un método altamente sensible y específico (Baneth *et al.*, 2009), puede dar falsos negativos en la etapa subclínica de la enfermedad donde el agente no se encuentra en la sangre (Harrus *et al.*, 1998; Otranto *et al.*, 2010). Por lo tanto, deben utilizarse múltiples estrategias diagnósticas en combinación con la historia y el examen físico exhaustivo del paciente (Maggi *et al.*, 2014; Çetinkaya *et al.*, 2016; Martin *et al.*, 2019). *E. canis* ha sido detectada en perros en Ciudad Autónoma de Buenos Aires y en algunas localidades de las provincias de Buenos Aires, Santa Fe, San Luis, Chaco y Entre Ríos (Eiras *et al.*, 2013; Aubert *et al.*, 2016; Cicuttin *et al.*, 2016; Mansilla Fernández *et al.*, 2019; Tarragona *et al.*, 2019; Sánchez *et al.*, 2020) y en garrapatas de algunas localidades de Buenos Aires, Salta y Formosa (Cicuttin *et al.*, 2015; Cicuttin *et al.*, 2017; Borrás *et al.*, 2019), pero no hay antecedentes de su detección por técnicas moleculares en nuestra provincia. Por ello, el objetivo del presente trabajo fue detectar *E. canis* en perros con sintomatología compatible con esta infección provenientes de tres localidades de la provincia de Córdoba, mediante diagnóstico por PCR.

Se realizó un estudio dirigido que incluyó solamente caninos con sospecha de EMC que presentaban signos tales como: temperatura aumentada, anorexia, decaimiento, desmejoramiento de la condición general, linfadenomegalia, hemorragias, debilidad generalizada, debilidad posterior y/o hiperestesia. Fueron analizados 14 caninos de la provincia de Córdoba: 9 de la ciudad de Río Cuarto (pacientes atendidos en el Hospital Escuela de la Facultad de Agronomía y Veterinaria, de la Universidad Nacional de Río Cuarto, Departamento Río Cuarto), 4 de la localidad de Alta Gracia (Departamento Santa María) y 1 de la localidad de Adelia María (Departamento Río Cuarto). Todos los perros fueron inspeccionados en

busca de garrapatas o sus propietarios interrogados acerca de antecedentes de garrapatas. Se les extrajo 5 ml de sangre de la vena cefálica antebraquial, que fue colectada en tubos con anticoagulante (EDTA) con la que se realizó hemograma, frotis de la capa leucocitaria (teñido con May Grunwald Giemsa para la búsqueda de mórulas de *Ehrlichia* spp. en monocitos y linfocitos) y recuento de plaquetas. Además, a una alícuota, se le extrajo el ADN utilizando kit comercial (ADN puriprep S kit, Inbiohighway, Argentina) para su posterior análisis por una PCR anidada, la cual se realizó utilizando los cebadores y las condiciones previamente descritas (Murphy *et al.*, 1998). Brevemente, para la primera ronda de amplificación se utilizaron los cebadores específicos de género ECC y ECB (Dawson *et al.*, 1994: 1996) y para la segunda ronda, los cebadores especie-específicos de *E. canis* (ECAN5 y HE3); no se intentó la amplificación de *E. chaffeensis* ni de *E. ewingii*. Como control positivo se utilizó ADN de referencia cedido por el laboratorio de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Austral de Chile y como control negativo (un control negativo cada 5 muestras) agua bidestilada estéril.

De 14 perros estudiados, 8 resultaron positivos a la PCR para *E. canis*, de los cuales 7 eran mestizos y 1 de raza pura, 4 hembras y 4 machos, con un rango de edad de 1 a 10 años. Todos los perros presentaban garrapatas o tenían antecedentes de infestación reciente. Al examen de la capa leucocitaria en los frotis de sangre no se observaron mórulas de *Ehrlichia* spp. en monocitos ni en linfocitos, y en cuanto a los resultados del hemograma en tres casos hubo anemia, en tres leucocitosis moderada, en dos leucopenia, en cuatro trombocitopenia y en uno de los casos no hubo alteraciones (Tabla 1).

E. canis tiene distribución en casi todo el mundo, se encuentra en Asia, África, Europa y América; es endémica en regiones tropicales y subtropicales, pero se reporta cada vez más en regiones de clima templado (Harrus *et al.*, 2012). En Argentina se ha comunicado el hallazgo de *E. canis* en perros y/o garrapatas en zonas de clima tropical como Chaco, Salta, Corrientes, Formosa y Entre Ríos, pero también en zonas de clima templado como Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Buenos Aires, Santa Fe y San Luis (Eiras *et al.*, 2013; Aubert *et al.*, 2016; Cicuttin *et al.*, 2015, 2016, 2017; Borrás *et al.*, 2019; Mansilla

Fernández *et al.*, 2019; Tarragona *et al.*, 2019; Sánchez *et al.*, 2020). En la provincia de Córdoba y en la provincia de San Luis se han detectado otras cepas de *Ehrlichia* sp. asociadas a garrapatas *Amblyomma tigrinum* (*A. tigrinum*), una de ellas estrechamente relacionada a *E. chaffeensis* (provincia de San Luis) y otra filogenéticamente relacionada a tres cepas de *Ehrlichia* sp. de Brasil (provincia de Córdoba) (Cicuttin *et al.*, 2017). Dado que las garrapatas *A. tigrinum* parasitan comúnmente a los perros en áreas periurbanas y rurales, este hallazgo adquiere relevancia epidemiológica y debería impulsar estudios acerca de la patogenicidad de estas nuevas especies de *Ehrlichia* en perros y humanos.

En América del Sur existen dos linajes de garrapatas *R. sanguineus* s.l.: tropical y templado, ambos presentes en Argentina (Moraes-Filho *et al.* 2013), donde existe una zona divisoria a la altura de los paralelos 24°S y 25°S que atraviesan las provincias de Jujuy, Salta y Formosa, por encima de la cual se encuentran las garrapatas *R. sanguineus* de linaje tropical y por debajo de la misma se encuentran las de linaje templado (*R. sanguineus* sensu stricto). Según un estudio experimental realizado por Moraes-Filho *et al.* (2013) existen diferencias en la competencia vectorial para la transmisión de *E. canis* entre estos dos linajes; ellos encontraron que las garrapatas *R. sanguineus* s.l. de zonas tropicales de América eran vectores altamente competentes para la transmisión de *E. canis*, pero no así las garrapatas *R. sanguineus* s.l. del Cono Sur de América del Sur. En otro estudio sobre garrapatas realizado en el año 2015 en Argentina, se detectó *E. canis* sólo en garrapatas del linaje tropical en provincias del norte, por lo que era esperable que la EMC se presentara en esas zonas, sin embargo, en un estudio posterior se encontró también *E. canis* en garrapatas del linaje templado en la provincia de Buenos Aires, aunque estas garrapatas se obtuvieron de un perro con EMC (Moraes-Filho *et al.*, 2011; Nava *et al.*, 2012; Moraes-Filho *et al.*, 2013; Cicuttin *et al.*, 2015; Cicuttin *et al.*, 2017).

Si bien existe una comunicación que reporta el hallazgo de mórulas de *E. canis* en muestras de sangre de 2 perros (Palomeque *et al.*, 2019), en una investigación reciente realizada en las provincias de Santa Fe y Córdoba, no se encontraron muestras positivas a la PCR de *Ehrlichia* spp. en 70 muestras analizadas (Mascarelli *et al.*, 2016), por lo que el presente

trabajo constituye el primer informe acerca de la presencia de *E. canis* detectada por técnicas moleculares en la provincia de Córdoba. Aunque por el tipo de estudio y el sesgo en el muestreo, ya que fueron analizados solamente perros con sospecha de EMC, no se puede inferir sobre la frecuencia del agente en la población canina de las regiones en las cuales se realizó el muestreo, los datos obtenidos generan un precedente acerca de la circulación de *E. canis*, especialmente en el sur de la provincia de Córdoba. Por otra parte, en este estudio solamente fue analizado un fragmento del gen 16S ARNr, el análisis de otros genes hubiera servido no solo para confirmar los hallazgos obtenidos sino también para el análisis filogenético de las muestras positivas; sin embargo, consideramos que es muy importante co-

municar nuestros resultados a la comunidad científica. Si bien en la práctica diaria los colegas informan resultados positivos, la mayoría lo hace en base a pruebas serológicas, las cuales por sí solas no pueden considerarse de certeza, ya que no discriminan entre infección actual o permanencia de Ac por infecciones anteriores (Waner *et al.*, 2001; Neer *et al.*, 2002). Por lo tanto, es importante basar el diagnóstico en la signología clínica compatible, en la serología y en la PCR en forma conjunta. Esta es la primera comunicación del hallazgo de *E. canis* mediante pruebas moleculares en localidades de la provincia de Córdoba.

Raza	Sexo	Edad	Garrapatas	Signos clínicos	Laboratorio	Plaquetas
Mestizo	Hembra	4 años	Abundante cantidad	Debilidad generalizada.	Anemia normocítica normocrómica, hipocromía, policromasia, anisopoi-quilocitosis. Leucocitosis moderada, neutrofilia. Plaquetas reactivas.	246.000/ μ l
Mestizo	Macho	1 año	Abundante cantidad	Temperatura aumentada, debilidad, paresia del tren posterior, secreción ocular.	Anisocitosis, anisocromía. Población hipocrómica. Eosinofilia. Plaquetas reactivas.	109.000/ μ l
Mestizo	Hembra	7 años	Abundante cantidad	Temperatura aumentada, debilidad, paresia del tren posterior.	Anisocitosis. Toxicidad celular. Plaquetas reactivas.	355.000/ μ l
Mestizo	Macho	8 años	Abundante cantidad	Debilidad, tetraparesia.	Leucocitosis moderada, neutrofilia con desvío a la izquierda regenerativo leve, monocitosis. Plaquetas reactivas.	416.000/ μ l
Caniche	Macho	2 años	Abundante cantidad	Debilidad, hiperestesia generalizada.	Anemia microcítica hipocrómica ar-regenerativa. Neutropenia, eosinofilia.	89.000/ μ l
Mestiza	Hembra	10 años	Moderada cantidad	Temperatura aumentada, debilidad, dolor abdominal, vómitos, anorexia.	Leucopenia, linfopenia, eosinopenia.	32.000/ μ l
Mestiza	Hembra	6 años	Escasa cantidad	Decaimiento.	Anemia normocítica normocrómica. Leucocitosis moderada.	96.000/ μ l
Mestizo	Macho	2 años	Escasa cantidad	Debilidad.	Sin particularidades.	310.000/ μ l

Tabla 1. Reseña, examen clínicos y resultados hematológicos de perros positivos a *Ehrlichia canis* mediante PCR.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Allison, R.W., Little, S.E. (2013). Diagnosis of rickettsial diseases in dogs and cats. *Veterinary Clinical Pathology*, 42 (2):127-144.
- 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. Conferencia: XXI Reunión Científico Técnica de la Asociación Argentina de Veterinarios de Laboratorios de Diagnóstico (AAVLD). Memorias de resúmenes.
- Baneth, G. (2014). Tick-borne infections of animals and humans: a common ground. *International Journal for Parasitology*, 44 (9):591-596.
- Baneth, G., Harrus, S., Ohnona, F.S., Schlesinger, Y. (2009). Longitudinal quantification of *Ehrlichia canis* in experimental infection with comparison to natural infection. *Veterinary Microbiology*, 136 (3-4):321-325.
- Baneth, G., Samish, M., Alekseev, Y., Aroch, I., Shkap, V. (2001). Transmission of *Hepatozoon canis* to dogs by naturally fed or percutaneously injected *Rhipicephalus sanguineus* ticks. *Journal of Parasitology*, 87, 606-611.
- Borrás, P., Sánchez, J., Guillemi, E., De La Fourniere, S., Abadía, M., Farber, M., Santini, M.S. (2019). Detección de bacterias de los géneros *Ehrlichia*, *Anaplasma* y *Rickettsia* en garrapatas *Rhipicephalus sanguineus* sl en Pergamino Argentina. *Revista Argentina de Salud Pública*, 10(41):8-13.
- Bremer, W.G., Schaefer, J.J., Wagner, E.R., Ewing, S.A., Rikihisa, Y., Needham, G.R., Jittapalpong, S., Moore, D.L., Stich, R.W. (2005). Transstadial and intrastadial experimental transmission of *Ehrlichia canis* by male *Rhipicephalus sanguineus*. *Veterinary Parasitology*, 131(1/2):95-105.
- Castro, M.B., Machado, R.Z., Aquino, L.P.T., Alessi, A.C., Costa, M.T. (2004). Experimental acute canine monocytic ehrlichiosis: clinicopathological and immunopathological findings. *Veterinary Parasitology*, 119:73-86.
- Çetinkaya, H., Matur, E., Akyazi, İ., Ekiz, E.E., Aydin, L., Toparlak, M. (2016). Serological and molecular investigation of *Ehrlichia* spp. and *Anaplasma* spp. in ticks and blood of dogs, in the Thrace Region of Turkey. *Ticks and Tick Borne Diseases*, 7(5):706-714.
- Cicuttin, G.L., De Salvo, M.N., Gury Dohmen, F.E. (2016). Molecular characterization of *Ehrlichia canis* infecting dogs, Buenos Aires. *Ticks and Tick Borne Diseases*, 7(5):954-957.
- Cicuttin, G.L., De Salvo, M.N., Nava, S. (2017). Two novel *Ehrlichia* strains detected in *Amblyomma tigrinum* ticks associated to dogs in peri-urban areas of Argentina. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 53:40-44.
- Cicuttin, G.L., De Salvo, M.N., Silva, D.A., Brito, M., Nava, S. (2017) *Ehrlichia canis* (Rickettsiales: Anaplasmataceae) en garrapatas *Rhipicephalus sanguineus sensu lato* del linaje templado (Acari: Ixodidae), provincia de Buenos Aires, Argentina. *FAVE. Sección Ciencias Veterinarias*, 16:93-96.
- 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.
- Dantas-Torres, F., Chomel, B.B., Otranto, D. (2012). Ticks and tick-borne diseases: a One Health perspective. *Trends in Parasitology*, 28:437-446.
- Eiras, D., 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*, 36:169-173.
- Harrus, S., Waner, T., Aizenberg, I., Foley, J.E., Poland, A.M., Bark, H. (1998). Amplification of ehrlichial DNA from dogs 34 months after infection with *Ehrlichia canis*. *Journal of Clinical Microbiology*, 36:73-76.
- Harrus, S., Alleman, A.R., Bark, H., Mahan, S.M., Waner, T. (2002). Comparison of three enzyme-linked immunosorbant assays with the indirect immunofluorescent antibody test for the diagnosis of ca-

nine infection with *Ehrlichia canis*. *Veterinary Microbiology*, 86(4):361-368.

Harrus, S., Waner, T. (2011). Diagnosis of canine monocytotropic ehrlichiosis (*Ehrlichia canis*): an overview. *Veterinary Journal*, 187(3):292-296.

Harrus S., Waner, T., Neer, T.M. (2012). *Ehrlichia canis* infection. In: Greene C.E. (Ed.), *Infectious Diseases of the Dog and Cat*. Missouri, Elsevier. 227-238.

Maggi, R.G., Birkenheuer, A.J., Hegarty, B.C., Bradley, J.M., Levy, M.G., Breitschwerdt, E. (2014). Comparison of serological and molecular panels for diagnosis of vector-borne diseases in dogs. *Parasites & Vectors*, 7(1):127.

Mansilla Fernández, S.L., Sotelo, A.A., Delgado, M.B., Cainzos, R.P., Deluca, G.D., Koszcinczuk, P. (2019). Ehrlichiosis canina en el nordeste argentino: confirmación diagnóstica por PCR. Resultados preliminares. Memorias XV Congreso Argentino de Microbiología, V Congreso Argentino de Microbiología de Alimentos, V Congreso Latinoamericano de Microbiología de Medicamentos y Cosméticos, XIV Congreso Argentino de Microbiología General, Asociación Argentina de Microbiología. Bs. As., Argentina, p.93.

Martin, P., De Salvo M.N., Cicuttin, G.L., Arauz, M.S. (2019). Canine monocytic ehrlichiosis in Buenos Aires, Argentina: comparison of serological and molecular assays. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 39(8):649-654.

Mascarelli, P.E., Tártara, 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*, 15; 9(1):642.

Mera y Sierra R., Neira, G. (2014) Ocurrencia de *Ehrlichia canis* en caninos de la provincia de Mendoza. III Congreso Panamericano de Zoonosis and VIII Congreso Argentino de Zoonosis, La Plata, Argentina.

Moraes-Filho, J., Marcili, A., Nieri-Bastos, F., Richtzenhain, L.J., Labruna, M.B., (2011). Genetic analysis

of ticks belonging to the *Rhipicephalus sanguineus* group in Latin America. *Acta Tropica*, 117 (1):51-55.

Moraes-Filho, J., Soares, J.B., da Silva Krawczak, F., Lado, P., Labruna, M.B., (2013). Estudio de la competencia vectorial de *Ehrlichia canis* por cuatro poblaciones de *Rhipicephalus sanguineus*. *Acta Médica Costarricense*, 55, 93.

Murphy, G.L., Ewing, S.A., Whitworth, L.C., Fox, J.C., Kocan, A.A. (1998). A molecular and serologic survey of *Ehrlichia canis*, *E. chaffeensis* and *E. ewingii* in dogs and ticks from Oklahoma. *Veterinary Parasitology*, 27;79(4):325-339.

Nava, S., Mastropaolo, M., Venzal, J.M., Mangold, A.J., Guglielmo, A.A., (2012). Mitochondrial DNA analysis of *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato (Acari:Ixodidae) in the Southern Cone of South America. *Veterinary Parasitology*, 190, 547–555.

Neer, T.M., Breitschwerdt, E.B., Greene, R.T., Lappin, M.R. (2002). Consensus statement on ehrlichial disease of small animals from the infectious disease study group of the American College of Veterinary Internal Medicine. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 16:309-315.

Otranto, D., Testini, G., Dantas-Torres, F., Latrofa, M.S., Diniz, P.P., Caprariis, D., Lia, R.P., Mencke, N., Stanneck, D., Capelli, G., Breitschwerdt, E.B. (2010). Diagnosis of canine vector-borne diseases in young dogs: a longitudinal study. *Journal of Clinical Microbiology*, 48 (9):3316-3324.

Palomeque, S.M., Eiras, D.F., Vazquez, M.V. (2019). Hepatozoonosis canina: hallazgos hematológicos y bioquímicos en perros de la ciudad de Córdoba, Argentina. Universidad Nacional de la Plata, Facultad de Ciencias Veterinarias, Trabajo final Especialización en Diagnóstico Veterinario de Laboratorio, 33 pp.

Sánchez, R., Bazzano, V., Felix, M., Armúa-Fernández, M., Venzal, J. (2020). Ehrlichiosis monocítica canina en la provincia de Entre Ríos, Argentina: confirmación molecular de casos en la ciudad de Concordia. *FAVE Sección Ciencias Veterinarias*, 19 (1):16-22.

Shaw, S.E., Day, M.J., Birtles, R.J., Breitschwerdt, E.B.

(2001). Tick-borne infectious diseases of dogs. Review. *Trends in Parasitology*, 17 (2):74-80.

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 Sección Ciencias Veterinarias*, 18: 49-54.

Waner, T., Harrus, S., Jongejan, F., Bark, H., Keysary, A., Cornelissen, A.W. (2001). Significance of serological testing for ehrlichial diseases in dogs with special emphasis on the diagnosis of canine monocytic ehrlichiosis caused by *Ehrlichia canis*. *Veterinary Parasitology*, 95 (1):1-15.