

EVALUACIÓN DE ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR VECTORES EN PERROS DE UN ÁREA DE CLIMA SUB-FRÍO DE MÉXICO

Evaluation of vector-borne diseases in dogs in a sub-cold climate area of Mexico

Laura REYES-CLÍMACO¹, Camilo ROMERO-NÚÑEZ^{1*}, Rafael HEREDIA-CARDENAS²

¹Hospital Veterinario Espacio Animal, Av. José de la Luz Blanco. Mnz. 187. Lot 33, Ciudad de México, México

²Centro Integral Veterinario, Valle del Don mz. 374 Lote 14b, Ecatepec de Morelos, Estado de México, México

*For correspondence: mvzcamilo@yahoo.com.mx

Received: 08th February 2019, Returned for revision: 15th April 2019, Accepted: 15th June 2019.

Associate Editor: Rafael Gutiérrez López.

Citation/Citar este artículo como: Reyes-Clímaco L, Romero-Núñez C, Heredia-Cardenas R. Evaluación de enfermedades transmitidas por vectores en perros de un área de clima sub-frío de México. Acta biol. Colomb. 2020;25(2):219-224. DOI: <http://dx.doi.org/10.15446/abc.v25n2.77737>

RESUMEN

La distribución geográfica de las enfermedades transmitidas por vectores está influenciada por una dinámica compleja de factores ambientales y sociales y por el impacto cambiante de la transmisión de sus vectores, huéspedes intermedios y reservorios. El objetivo del presente estudio fue evaluar la seropositividad a anticuerpos anti-*Ehrlichia canis*, *Anaplasma phagocytophilum* y *Borrelia burgdorferia* y la seropositividad a antígenos de *Dirofilaria immitis* en perros de un área de México con un clima semifrío. Se tomaron 100 muestras de sangre de caninos de hogares privados y en clínicas veterinarias del estado de Amecameca de Juárez, Estado de México. El análisis de las muestras se llevó a cabo mediante un kit comercial de ELISA (Test SNAP® 4Dx® Plus Canine IDEXX®). Se observó una seropositividad a anticuerpos anti-*E. canis* del 30 %, 9 % para *A. phagocytophilum*, 4 % para *B. burgdorferi* y 16 % para antígenos de *D. immitis*. Así mismo, se halló una relación estadísticamente significativa entre la seropositividad a anticuerpos anti-*E. canis* y perros mayores a un año y de raza. Por otra parte, se reportaron resultados similares en perros machos y mayores de un año con seropositividad a *D. immitis*. Con los resultados obtenidos, se concluye que existe una mayor seropositividad para la infección por *E. canis* y *D. immitis* y una asociación significativa en perros mayores de un año. Es de gran relevancia conocer la epidemiología de patógenos transmitidos por garrapatas debido al impacto zoonótico que implican. Se recomiendan investigaciones adicionales, así como medidas preventivas de salud animal y salud pública para reducir el riesgo de infección en perros.

Palabras clave: Cambio climático, epidemiología, vectores de enfermedades.

ABSTRACT

The geographical distribution of vector-borne diseases is influenced by a complex dynamic of environmental and social factors and by the changing impact of transmission of their vectors and intermediate hosts and reservoirs. The objective of the present study was to evaluate the seropositivity for antibodies anti-*Ehrlichia canis*, *Anaplasma phagocytophilum* y *Borrelia burgdorferia*, and the seropositivity to antigens of *Dirofilaria immitis* in dogs in an area of Mexico with a cool climate. 100 blood samples from dogs were taken in private homes and at veterinary clinics in the State of Amecameca de Juárez, Mexico State. The analysis of samples was carried out by a commercial ELISA kit (Test SNAP® 4Dx® Plus Canine IDEXX®). There was a seropositivity for antibodies anti-*E. canis* of 30 %, 9 % for *A. phagocytophilum*, 4 % for *B. burgdorferi* and 16 % for *D. immitis* antigen. Likewise, it was found a statistically significant relationship between anti-*E. canis* antibodies and the seropositivity in dogs older than one year of age and purebred. In addition, it was reported similar results in male dogs and older than a year with seropositivity to *D. immitis*. With the results obtained, it is concluded that there is higher seropositivity for infection by *E. canis* and *D. immitis*, and a significant association in dogs older than one year. It is great relevance to know the epidemiology of pathogens transmitted by ticks due to the zoonotic impact involved. Additional research is recommended, as well as preventive measures of animal health and public health to reduce the risk of infection in dogs.

Keywords: Climate change, disease vectors, epidemiology.

INTRODUCCIÓN

Las infecciones transmitidas por vectores en caninos involucran una amplia gama de patógenos transmitidos por artrópodos, que debido a su distribución mundial y rápida propagación se han convertido en un tema de interés en todo el mundo. También se sabe que pueden causar morbilidad y mortalidad en los perros y algunas de estas infecciones son de importancia zoonótica (Guven *et al.*, 2017), por lo que también representan un riesgo para la población humana (Pantchev *et al.*, 2015). Entre las infecciones más comunes en perros se encuentra *Dirofilaria immitis*, *Borrelia burgdorferi*, *Anaplasma phagocytophilum* y *Ehrlichia canis* (Alho *et al.*, 2017). Además, estas enfermedades no suelen tener signos específicos y los síntomas clínicos dependen del patógeno y del huésped (Baneth *et al.*, 2012).

Las infecciones por dirofilariosis en perros son causadas por el nematodo filarial *D. immitis*, el agente causal del gusano del corazón, que se transmite a los perros a través de diferentes especies de mosquitos (Ferreira *et al.*, 2017). Es una de las enfermedades parasitarias más graves que afectan a perros, así como a otros carnívoros y tiene importantes implicaciones zoonóticas (Diakou *et al.*, 2016). Por otra parte, la infección ha sido reportada en varias regiones del mundo, principalmente en áreas tropicales, debido a una mayor concentración y diversidad de vectores (Argôlo *et al.*, 2018).

La borreliosis, comúnmente conocida como enfermedad de Lyme, es la infección humana más común transmitida por garrapatas. En perros, *B. burgdorferi* a menudo causa signos clínicos leves y no específicos, como fiebre, anorexia, letargo y linfadenomegalia (Piantedosi *et al.*, 2017). La infección es transmitida por garrapatas (en etapa larvaria y ninfa) de la especie *Ixodes* spp., que parasitan aves y pequeños mamíferos. Es por ello por lo que los pequeños mamíferos, como los perros, son indispensables para el mantenimiento y distribución de las garrapatas (Obiegala *et al.*, 2017).

Anaplasma phagocytophilum es una bacteria gram-negativa intracelular obligada que tiene tropismo por granulocitos y neutrófilos. Es agente causal de la anaplasmosis granulocítica en perros, gatos, caballos, ovejas y humanos (Sainz *et al.*, 2015). Los hospederos suelen adquirir la infección a través de la picadura de garrapatas presentes en el entorno natural (Welc-Falęciak *et al.*, 2013). Se sabe que *Ixodes ricinus* es la especie de garrapata más frecuente y ampliamente distribuida, siendo así el vector de varios patógenos, entre ellos *Anaplasma* spp. (Welc-Falęciak *et al.*, 2018).

La erliquiosis monocítica canina es una enfermedad también transmitida por garrapatas, causada por la alfa-proteobacteria intracelular obligada *E. canis*, que se replica dentro de las células mononucleares del huésped. La erliquiosis canina se ha reportado principalmente en áreas subtropicales y tropicales, es una de las enfermedades más comunes en la práctica veterinaria (Malik *et al.*, 2018) y se sabe que es transmitida por *Rhipicephalus sanguineus*, así como por garrapatas de los géneros *Amblyomma*, *Dermacentor* e *Ixodes* (Little *et al.*, 2014).

El reporte epidemiológico de las enfermedades transmitidas por insectos vectores es de útil importancia en el manejo clínico de los animales afectados, ya que estos patógenos comúnmente aparecen en coinfecciones y representan un desafío constante en la práctica de la medicina veterinaria y en el campo de la salud pública (Farkas *et al.*, 2014). Por ello, el principal objetivo de esta investigación fue evaluar la seropositividad, así como los factores de riesgo de infección a enfermedades transmitidas por insectos vectores en caninos de un área no endémica a estas infecciones.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se llevó a cabo en el municipio de Amecameca de Juárez, situado en las faldas de la Sierra Nevada, dentro de la provincia del eje volcánico y en la cuenca del río Moctezuma-Pánuco (19° 3' 12" N y 98° 37' 34" W y 19° 11' 2" N ; 98° 37' 34" W y 98° 49' 10" W). Se ubica en la porción sur del oriente del Estado de México. La altitud es de 2420 metros sobre el nivel del mar en la cabecera municipal. Presenta un clima templado a semifrío y subhúmedo, con la mayor parte de las lluvias en verano y otoño y una temperatura máxima de 32 °C y mínima de -8 °C, con un promedio anual de 14,1 °C. La investigación se realizó entre los meses de mayo a agosto de 2016. Se seleccionaron 100 perros al azar, de diversas edades, razas y ambos sexos, provenientes de domicilios privados y clínicas veterinarias. La toma de muestras en caninos se realizó con previa autorización del consentimiento informado por parte de los propietarios. El procedimiento fue aprobado por el comité de bioética del Centro Universitario UAEM de Amecameca, Estado de México, México.

La toma de muestras consistió en la extracción de sangre periférica mediante la punción de la vena cefálica (3 ml) y se realizó de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, en donde se especifica el uso de técnicas seguras y asépticas para la obtención de muestras y su respectivo diagnóstico. El equipo empleado para la recolección de muestras fue desechable y libre de pirógenos. Posteriormente, se obtuvo el suero de cada muestra mediante centrifugación a 1800 rpm, durante cinco minutos y se almacenó a -20 °C hasta el momento de su uso.

Las muestras se procesaron mediante un kit comercial de ELISA (Test SNAP® 4Dx® Plus Canine IDEXX®) para la determinación de la seropositividad a antígenos de *D. immitis* y a anticuerpos anti-*Anaplasma* spp., *B. burgdorferi* y *E. canis*. Estudios actuales reportan la alta sensibilidad de la prueba (Liu *et al.*, 2018), por lo que su uso es seguro para la determinación de anticuerpos y antígenos de las infecciones en estudio, aunque cabe mencionar que también se han detectado las reacciones cruzadas entre *A. phagocytophilum* y *A. platys* (Montenegro *et al.*, 2017).

El procesamiento de las muestras se realizó de acuerdo con las instrucciones del fabricante y por duplicado.

Para el análisis de datos, se consideraron las variables de edad, raza y sexo y se dividieron en dos grupos; edad: perros < 1 año de edad y > 1 año de edad, raza: perros mestizos y perros de raza identificada, sexo: machos y hembras. El riesgo relativo de infección se calculó con el programa 2019 MedCalc Software bvba®, mediante la prueba Odds Ratio (OR), en la que los valores superiores a 1 se consideran como factores de riesgo; en este análisis se tomaron valores de $p \leq 0,05$ como significativos.

RESULTADOS

De las 100 muestras analizadas en caninos, la mayor seropositividad se presentó a anticuerpos anti-*E. canis*, seguida de *A. phagocytophilum*, y la más baja para *B. burgdorferi*, mientras que para la seropositividad a antígenos de *D. immitis* se observó un 16 %. Las variables de raza y edad (perros mayores de un año de edad) mostraron una asociación estadísticamente significativa con la seropositividad a anticuerpos anti-*E. canis*. Por otra parte, se encontró que los perros machos y mayores de un año mostraron una asociación significativa con la presencia de antígenos de *D. immitis* (Tabla 1).

DISCUSIÓN

Las enfermedades caninas transmitidas por vectores se han convertido en un foco de interés en los últimos años (Krämer *et al.*, 2014). El cambio climático, la modificación de los hábitats, el aumento de los viajes y la importación de perros han generado la expansión de vectores y de patógenos que causan infecciones de interés en la práctica clínica veterinaria, así como en el área de salud pública por tratarse de enfermedades zoonóticas (Schurer *et al.*, 2016). La incidencia de enfermedades transmitidas por artrópodos ha aumentado en las últimas décadas, siendo la temperatura y la humedad los principales factores ambientales que afectan la propagación de estas enfermedades (Sánchez *et al.*, 2011). Sin embargo, en este estudio se reporta una seropositividad significativa para *E. canis* y *D. immitis* en perros que habitan en un área de clima templado a semifrío.

Esto podría deberse a que a pesar de que los insectos vectores son organismos ectotérmicos y su crecimiento, supervivencia y comportamiento son altamente sensibles a las temperaturas ambientales, han logrado adaptarse a las condiciones de climas templados, lo cual puede facilitar el aumento de las tasas de desarrollo del vector y tener una influencia compensatoria sobre la supervivencia y el comportamiento de alimentación (Ladeau *et al.*, 2015).

Con respecto a la asociación entre la seropositividad a *E. canis* y la variable de edad, la presente investigación coincide con un estudio realizado por Huerto y Damaso (2015), quienes delimitaron que uno de los factores asociados con la presencia de *E. canis* es la edad (en perros adultos), probablemente debido a una mayor duración de exposición

al vector para este patógeno, ya que se sabe que puede inducir infecciones duraderas en algunos perros (Piantedosi *et al.*, 2017). Por otra parte, Montenegro *et al.* (2017) reportaron una mayor seropositividad a *E. canis* en perros de raza, lo cual podría deberse a cuestiones propiamente socioeconómicas, puesto que la población con un mayor estatus socioeconómico tiende a tener perros de raza (Westgarth *et al.*, 2013), y el reporte de la infección en perros de raza es más frecuente debido a que acuden al servicio médico veterinario al menos una vez al año (Slater *et al.*, 2008). Así mismo, los perros de raza suelen ser transportados con mayor frecuencia a estados con climas tropicales en donde existe una mayor abundancia de insectos vectores (Heitman *et al.*, 2016), como garrapatas de diversas especies, entre estas *Rh. sanguineus*, conocida como la garrapata café del perro y habitualmente reportada en América Central y Suramérica (Acevedo-Gutiérrez *et al.*, 2020), lo cual expone a los caninos a la infección y a actuar como reservorios o vehículos de transporte de garrapatas. Estudios recientes reportan que los perros infestados con garrapatas presentan un mayor porcentaje de seropositividad a *E. canis* (Movilla *et al.*, 2016), por lo que se considera necesario implementar medidas de prevención contra la infección en perros.

En el caso de las variables asociadas con *D. immitis*, un estudio realizado por Mircean *et al.* (2012) coincide en que la seroprevalencia fue significativamente mayor en machos. Con respecto a la variable de edad, nuestros resultados concuerdan con los de Farkas *et al.* (2014), quienes reportaron una mayor probabilidad de seropositividad en perros mayores, puesto que los perros de mayor edad han estado expuestos durante más tiempo a las picaduras de mosquitos (Cardoso *et al.*, 2012).

Desde décadas anteriores, en un estudio realizado por Liverman y O'Brien (1991), se reportó que el calentamiento global podría traer condiciones más cálidas y secas a México. Hoy en día, se ha confirmado que el cambio climático ha generado el aumento de la temperatura, lo cual puede afectar a la prevalencia y propagación de mosquitos y por lo tanto, la transmisión de *D. immitis* en perros y personas (Bamorovat *et al.*, 2017). De acuerdo a la Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT), en México la temperatura ha aumentado casi 4 °C en los últimos años, lo cual incrementa el riesgo de propagación de este vector y con ello la transmisión de zoonosis parasitarias. Así mismo, el proceso de urbanización, la invasión de áreas boscosas y la ampliación de espacios públicos, crean oportunidades para que algunos vectores como los mosquitos y las garrapatas se adapten a otro tipo de condiciones ambientales (Uspensky, 2014). Por lo tanto, el cambio climático puede afectar los patrones de co-transmisión y se ha demostrado que las alteraciones inducidas por el cambio de la biodiversidad de los vectores en los ecosistemas pueden influir en la transmisión de patógenos (Parham *et al.*, 2015).

Con respecto a la baja seropositividad reportada para anticuerpos anti-*B. burgdorferi* y anti-*A. phagocytophilum*, una

Tabla 1. Asociación de factores de riesgo con la seropositividad a enfermedades transmitidas por vectores en perros de Amecameca, Estado de México.

Agente patógeno	Seropositividad (%)	Variables de estudio		OR	IC	Valor de P
<i>E. canis</i>	30/100 (30 %)	Sexo	Machos	2,33	(0,93-5,80)	0,06
			Hembras	1,73	(0,33-4,32)	0,14
		Edad	> 1 año	6,29	(2,15-18,33)	0,0008*
			< 1 año	2,16	(0,78-3,57)	0,11
		Raza	Identificada	3,11	(1,27-7,56)	0,0124*
			Mestizos	1,98	(0,67-4,29)	0,24
<i>A. phagocytophilum</i>	9/100 (9 %)	Sexo	Machos	2,78	(0,65-11,85)	0,16
			Hembras	1,33	(0,45-3,26)	0,37
		Edad	> 1 año	7,16	(0,86-59,66)	0,06
			< 1 año	3,56	(0,98-4,74)	0,09
		Raza	Identificada	1,66	(0,41-6,61)	0,46
			Mestizos	1,87	(0,56-7,74)	0,59
<i>B. burgdorferi</i>	4/100 (4 %)	Sexo	Machos	1,56	(0,65-6,43)	0,23
			Hembras	4,23	(2,54-4,53)	0,41
		Edad	> 1 año	7,62	(0,3-14,56)	0,17
			< 1 año	4,67	(1,67-5,64)	0,07
		Raza	Identificada	1,28	(0,17-9,51)	0,8
			Mestizos	2,56	(2,56-4,79)	0,19
<i>D. immitis</i>	16/100 (16 %)	Sexo	Machos	3,4	(1,08-10,67)	0,036*
			Hembras	4,7	(2,06-7,88)	0,06
		Edad	> 1 año	4,13	(1,09-15,56)	0,036*
			< 1 año	1,33	(3,48-8,96)	0,32
		Raza	Identificada	2,45	(0,81-7,37)	0,11
			Mestizos	3,6	(1,98-5,11)	0,08

Valor de P= ≤ 0,05 *; OR: Odds Ratio; IC: Intervalo de Confianza (95 %).

investigación realizada por Wang *et al.* (2018) coincide en el reporte de bajos niveles de seropositividad a ambas infecciones. Sin embargo, algunos autores sugieren que los perros se pueden considerar como reservorios potenciales de *A. phagocytophilum* y *B. burgdorferi* en algunas regiones, especialmente en entornos semiurbanos (Elhamiani *et al.*, 2017).

CONCLUSIONES

Existe una mayor seropositividad a anticuerpos anti-*E. canis* y antígenos de *D. immitis* y una asociación significativa en perros mayores de un año. Estos hallazgos demuestran que el riesgo de exposición a las principales enfermedades transmitidas por vectores en perros es significativo, sobre todo por tratarse de un área geográfica no endémica a estas infecciones, y por lo tanto es necesario implementar medidas de prevención para minimizar el riesgo de transmisión de patógenos por parte de los vectores, que han mostrado una alta adaptación a nuevas condiciones climáticas.

REFERENCIAS

- Acevedo-Gutiérrez LY, Paternina LE, Pérez-Pérez JC, Londoño AF, López G, Rodas JD. Garrapatas duras (Acari: Ixodidae) de Colombia, una revisión a su conocimiento en el país. *Acta Biol Colomb.* 2020;25(1):126-139 Doi: <http://dx.doi.org/10.15446/abc.v25n1.75252>
- Alho AM, Lima C, Latrofa MS, Colella V, Ravagnan S, Capelli G. Molecular detection of vector-borne pathogens in dogs and cats from Qatar. *Parasit Vectors.* 2017;10:298. Doi: <https://doi.org/10.1186/s13071-017-2237-y>
- Argôlo EGG, Reis T, Fontes DAT, Gonçalves EC, Giese EG, Melo FTV, *et al.* Canine filariasis in the Amazon: species diversity and epidemiology of these emergent and neglected zoonoses. *PLoS One.* 2018;13:e0200419. Doi: [10.1371/journal.pone.0200419](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0200419)
- Bamorovat M, Sharifi I, Fasihi Harandi M, Nasibi S, Sadeghi B, *et al.* Parasitological, serological and molecular study of *Dirofilaria immitis* in domestic dogs, southeastern Iran. *Iran J Parasitol.* 2017;12(2):260-266.

- Baneth G, Bourdeau P, Bourdoiseau G, Bowman D, Breitschwerdt E, G Capelli G, *et al.* Vector-borne diseases-constant challenge for practicing veterinarians: recommendations from the CVBD World Forum. *Parasit Vectors.* 2012;5:55. Doi: <https://doi.org/10.1186/1756-3305-5-55>
- Cardoso L, Mendão C, de Carvalho LM. Prevalence of *Dirofilaria immitis*, *Ehrlichia canis*, *Borrelia burgdorferi* sensu lato, *Anaplasma* spp. and *Leishmania infantum* in apparently healthy and CVBD-suspect dogs in Portugal - a national serological study. *Parasit Vectors.* 2012;5:62. Doi: <https://doi.org/10.1186/1756-3305-5-62>
- Diakou A, Kapantaidakis E, Tamvakis A, Giannakis V, Strus N. *Dirofilaria* infections in dogs in different areas of Greece. *Parasit Vectors.* 2016;9:508. Doi: <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1797-6>
- Elhamiani Khatat S, Daminet S, Kachani M, Leutenegger CM, Duchateau L, El Amri H, *et al.* *Anaplasma* spp. in dogs and owners in north-western Morocco. *Parasit Vectors.* 2017;10:202. Doi: <https://doi.org/10.1186/s13071-017-2148-y>
- Farkas R, Gyurkovszky M, Lukács Z, Aladics B, Solymosi N. Seroprevalence of some vector-borne infections of dogs in Hungary. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2014;14(4):256-260. Doi: <https://doi.org/10.1089/vbz.2013.1469>
- Ferreira C, Afonso A, Calado M, Maurício I, Alho AM, Meireles J, *et al.* Molecular characterization of *Dirofilaria* spp. circulating in Portugal. *Parasit Vectors.* 2017;10:250. Doi: <https://doi.org/10.1186/s13071-017-2180-y>
- Güven E, Avcioğlu H, Cengiz S, Hayırlı A. Vector-borne pathogens in stray dogs in northeastern Turkey. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2017;17(8):610-617. Doi: <https://doi.org/10.1089/vbz.2017.2128>
- Heitman KN, Dahlgren FS, Drexler NA, Massung RF, Behravesh CB. Increasing Incidence of Ehrlichiosis in the United States: a summary of national surveillance of *Ehrlichia chaffeensis* and *Ehrlichia ewingii* infections in the United States, 2008–2012. *Am J Trop Med Hyg.* 2016;94(1):52-60. Doi: <https://doi.org/10.4269/ajtmh.15-0540>
- Huerto M, Dásamo M. Factors associated with *Ehrlichia canis* infection in dogs infested with ticks from Huanuco, Peru. *Rev Peru Med Exp Salud Publica.* 2015;32(4):756-760.
- Krämer F, Schaper R, Schunack B, Połozowski A, Piekarska J, Szwedko A, *et al.* Serological detection of *Anaplasma phagocytophilum*, *Borrelia burgdorferi* sensu lato and *Ehrlichia canis* antibodies and *Dirofilaria immitis* antigen in a countrywide survey in dogs in Poland. *Parasitol Res.* 2014;113:3229-39. Doi: <https://doi.org/10.1007/s00436-014-3985-7>
- Ladeau SL, Allan BF, Leisnham PT, Levy MZ. The ecological foundations of transmission potential and vector-borne disease in urban landscapes. *Funct Ecol.* 2015;29(7):889-901. Doi: <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12487>
- Little SE, Beall JM, Bowman DD, Chandrashekar R, Stamaris J. Canine infection with *Dirofilaria immitis*, *Borrelia burgdorferi*, *Anaplasma* spp., and *Ehrlichia* spp. in the United States, 2010-2012. *Parasit Vectors.* 2014;7:257. Doi: <https://doi.org/10.1186/1756-3305-7-257>
- Liu J, Drexel J, Andrews B, Eberts M, Breitschwerdt E, Chandrashekar R. Comparative evaluation of 2 in-clinic assays for vector-borne disease testing in dogs. *Top Companion Anim Med.* 2018;33(4):114-118. Doi: <https://doi.org/10.1053/j.tcam.2018.09.003>
- Liverman DM, O'Brien KL. Global warming and climate change in Mexico. *Global Environ Chang.* 1991;1:351-364. Doi: [https://doi.org/10.1016/0959-3780\(91\)90002-B](https://doi.org/10.1016/0959-3780(91)90002-B)
- Malik MI, Qamar M, Ain Q, Hussain MF, Dahmani M, Ayaz M, *et al.* Molecular detection of *Ehrlichia canis* in dogs from three districts in Punjab (Pakistan). *Vet Med Sci.* 2018;4(2):126-132. Doi: <https://doi.org/10.1002/vms3.94>
- Mircean V, Dumitrache M, Györke A, Pantchev N, Jodies R, Mihalca AD, *et al.* Seroprevalence and geographic distribution of *Dirofilaria immitis* and tick-borne infections (*Anaplasma phagocytophilum*, *Borrelia burgdorferi* sensu lato, and *Ehrlichia canis*) in dogs from Romania. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2012;12(7):595-604. Doi: <https://doi.org/10.1089/vbz.2011.0915>
- Montenegro VM, Bonilla MC, Kaminsky D, Romero-Zúñiga JJ, Siebert S, Krämer F. Serological detection of antibodies to *Anaplasma* spp., *Borrelia burgdorferi* sensu lato and *Ehrlichia canis* and of *Dirofilaria immitis* antigen in dogs from Costa Rica. *Vet Parasitol.* 2017;236:97-107. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2017.02.009>
- Movilla R, García C, Siebert S, Roura X. Countrywide serological evaluation of canine prevalence for *Anaplasma* spp., *Borrelia burgdorferi* (sensu lato), *Dirofilaria immitis* and *Ehrlichia canis* in Mexico. *Parasit Vectors.* 2016;9:421. Doi: <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1686-z>
- Obiegala A, Król N, Oltersdorf C, Nader J, Pfeffer M. The enzootic life-cycle of *Borrelia burgdorferi* (sensu lato) and tick-borne rickettsiae: an epidemiological study on wild-living small mammals and their ticks from Saxony, Germany. *Parasit Vectors.* 2017;10:115. Doi: <https://doi.org/10.1186/s13071-017-2053-4>
- Pantchev N, Schnyder M, Vrhovec MG, Schaper R, Tsachev I. Current surveys of the seroprevalence of *Borrelia burgdorferi*, *Ehrlichia canis*, *Anaplasma phagocytophilum*, *Leishmania infantum*, *Babesia canis*, *Angiostrongylus vasorum* and *Dirofilaria immitis* in dogs in Bulgaria. *Parasitol Res.* 2015;114(Sup. 1):117-130. Doi: <https://doi.org/10.1007/s00436-015-4518-8>
- Parham PE, Waldock J, Christophides GK, Hemming D, Augusto F, Evans KJ, *et al.* Climate, environmental and socio-economic change: weighing up the balance in vector-borne disease transmission. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2015;370(1665):20130551. Doi: <https://doi.org/10.1098/rstb.2013.0551>
- Piantedosi D, Neola B, D'Alessio N, Di Prisco F, Santoro M, Pacifico L, *et al.* Seroprevalence and risk factors associated with *Ehrlichia canis*, *Anaplasma* spp., *Borrelia burgdorferi* sensu lato, and *D. immitis* in hunting dogs from southern Italy. *Parasitol Res.* 2017;116(10):2651-2660. Doi: <https://doi.org/10.1007/s00436-017-5574-z>

- Sainz Á, Roura X, Miró G, Estrada-Peña A, Kohn B, Harrus S, *et al.* Guideline for veterinary practitioners on canine ehrlichiosis and anaplasmosis in Europe. *Parasit Vectors.* 2015;8:75. Doi: <https://doi.org/10.1186/s13071-015-0649-0>
- Sánchez KM, Calvo RP, Mutis BC. *Dirofilaria immitis*: una zoonosis presente en el mundo. *Rev Med Vet.* 2011;22:57-68.
- Schurer JM, Mosites E, Li C, Meschke S, Rabinowitz P. Community-based surveillance of zoonotic parasites in a 'One Health' world: a systematic review. *One Health.* 2016;2:166-174. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.onehlt.2016.11.002>
- Slater MR, Di Nardo A, Pediconi O, Villa PD, Candeloro L, Alessandrini B, *et al.* Cat and dog ownership and management patterns in central Italy. *Prev Vet Med.* 2008;85:267-94. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2008.02.001>
- Uspensky I. Tick pests and vectors (Acari: Ixodoidea) in European towns: introduction, persistence and management. *Ticks Tick Borne Dis.* 2014;5(1):41-47. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2013.07.011>
- Wang J, Kelly P, Zhang J, Shi Z, Song C, Zheng X, *et al.* Detection of *Dirofilaria immitis* antigen and antibodies against *Anaplasma phagocytophilum*, *Borrelia burgdorferi* and *Ehrlichia canis* in dogs from ten provinces of China. *Acta Parasitol.* 2018;63(2):412-415. Doi: <https://doi.org/10.1515/ap-2018-0047>
- Welc-Fałęciak R, Werszko J, Cydzik K, Bajer A, Michalik J, Behnke J. Co-infection and genetic diversity of tick-borne pathogens in Roe Deer from Poland. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2013;13(5):277-288. Doi: <https://doi.org/10.1089/vbz.2012.1136>
- Welc-Fałęciak R, Kowalska J, Bednarska M, Szatan M, Pawełczyk A. Molecular identification of tick-borne pathogens in asymptomatic individuals with human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) infection: a retrospective study. *BMC Infect Dis.* 2018;18:227. Doi: <https://doi.org/10.1186/s12879-018-3140-7>
- Westgarth C, Boddy LM, Stratton G, German AJ, Gaskell RM, Coyne KP, *et al.* Pet ownership, dog types and attachment to pets in 9-10 year old children in Liverpool, UK. *BMC Vet Res.* 2013;9:102. Doi: <https://doi.org/10.1186/1746-6148-9-102>