

Estudio Serológico y Molecular de *Anaplasma phagocytophilum* en Perros del Área Metropolitana de la Ciudad de Guatemala

Serological and Molecular Survey of Anaplasma phagocytophilum in Dogs from the Metropolitan Area of Guatemala City

Eduardo J. Sabillón Montoya^{1,6}, Edgar Leonel Bailey Leonardo², Federico Joaquín Villatoro-Paz^{1,5}, Francisco Escobar Serrano^{1,3}, Mónica Estuardo Solórzano Thillet^{1,4}

1. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad de San Carlos de Guatemala.
2. División de Protección Global de la Salud, Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades.
3. Laboratorio de Referencia Regional de Sanidad Animal, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad de San Carlos de Guatemala.
4. Dirección de Escuela de Medicina Veterinaria, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad de San Carlos de Guatemala.
5. Escuela Estudios de Posgrado, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad de San Carlos de Guatemala.

*Autor al que se dirige la correspondencia: mv.e.sabillon@gmail.com

RESUMEN

El presente estudio tuvo como objetivos verificar la presencia o ausencia de *Anaplasma phagocytophilum*, determinar la seroprevalencia de anticuerpos circulantes contra el género *Anaplasma* e interpretar los resultados de las boletas de los caninos muestreados en el área metropolitana de la ciudad de Guatemala. La investigación se realizó por medio de la recolección de muestras de sangre y suero canina, sin importar sexo, género, raza o estado de salud, en clínicas veterinarias, asociaciones animalistas y albergues. La muestra se calculó utilizando la página OpenEpi para un intervalo de confianza del 95%, empleando una población basada en la relación 1 perro por cada 5 humanos de los 6 municipios más prominentes del departamento de Guatemala. Las 153 muestras fueron sometidas a un ensayo tamiz de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) para *Anaplasma* sp. Luego, las 19 muestras positivas, más 17 negativas al azar, fueron confirmadas mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para *Anaplasma phagocytophilum*, llenando requisito mínimo de la fórmula de Cannon (2001) para presencia o ausencia de una enfermedad. Ninguna resultó positiva. La prevalencia del género *Anaplasma* en el área de estudio fue de 12,42%. Se detectó asociación entre un historial de garrapatosis y la seropositividad a *Anaplasma* sp., ($p < 0.05$, OR=8), mas no para garrapatosis presente, signos de anaplasmosis y frecuencia de paseo.

Palabras Clave: Anaplasmosis, perros, ELISA, PCR, Guatemala

ABSTRACT

The present study aimed to verify the presence or absence of *Anaplasma phagocytophilum*, determine the seroprevalence of circulating antibodies against the *Anaplasma* genus, and interpret the surveys taken from the canines sampled in the metropolitan area of Guatemala City. The research was carried out through the collection of canine blood and serum samples, regardless of sex, gender, race, or health status, in veterinary clinics, animal welfare associations and shelters. The sample was calculated using OpenEpi webpage for a 95% confidence interval, using a population based on the ratio 1 dog for every 5 humans from the 6 most prominent municipalities of the Guatemala department. The 153 samples were subjected to an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for *Anaplasma* sp. Then, the 19 positive samples, plus 17 random negatives, were confirmed by the polymerase chain reaction (PCR) technique for *Anaplasma phagocytophilum*, fulfilling the minimum requirement of the Cannon (2001) formula for the presence or absence of a disease; none resulted positive. The prevalence of the genus *Anaplasma* in the study area was 12.42%. An association between history of ticks and seropositivity to *Anaplasma* sp. was found ($p < 0.05$, OR=8), nevertheless no statistical relationship was found between the dog currently carrying ticks, signs of anaplasmosis and walking frequency.

Key words: Anaplasmosis, dogs, ELISA, PCR, Guatemala.

INTRODUCCIÓN

Las bacterias del género *Anaplasma* son rickettsias transmitidas por garrapatas, de las cuales, algunas especies son consideradas zoonóticas. En el humano, *Anaplasma phagocytophilum* provoca la enfermedad zoonótica conocida como anaplasmosis granulocítica humana y la anaplasmosis granulocítica canina en perros. Sus síntomas varían desde una enfermedad leve similar a un resfriado con fiebre, anorexia, letargo y, hasta puede llegar a síntomas más fuertes como poliartritis (Alleman & Wamsley, 2008); asimismo, se puede presentar como una enfermedad febril inespecífica muy parecida a la anaplasmosis en perros. El patógeno suele ser descrito como una enfermedad similar a una influenza, la cual empieza después de la picadura de una garrapata (Bakken et al, 1996). La prevalencia de la enfermedad en ciudades puede deberse a la presencia de perros portadores asintomáticos que traen las garrapatas en contacto con los humanos. En un país en desarrollo, donde los métodos diagnósticos son limitados o inclusive inexistentes, una enfermedad como esta, en especial con sus síntomas leves o moderados, puede pasar desapercibida o ser confundida con una gripe estacional (dengue o chikunguña), las cuales tienen síntomas similares.

En Guatemala se ha demostrado la existencia de anticuerpos contra *Anaplasma* sp. en caninos en dos estudios de tesis de grado. Se han encontrado entre un 10% a 16% de perros infectados, independientemente de la presencia o no de sintomatología (Barahona, 2013; Morales, 2010). Los diagnósticos en Guatemala se basan en el descubrimiento serológico de anticuerpos contra la enfermedad usando principalmente pruebas rápidas, como SNAP 4Dx Plus-IDEXX. Este tipo de pruebas no son específicas para la especie y, por lo tanto, no hay distinción entre *Anaplasma platys* y *A. phagocytophilum*. Esto, debido a la reacción

cruzada de los anticuerpos en contra de *A. platys* y *A. phagocytophilum* en los kits comerciales de ELISA (Diniz et al, 2010); consiguientemente, no se ha determinado la existencia de la especie *Anaplasma phagocytophilum* en perros ni en humanos en el área. El presente estudio se pretende verificar la presencia o ausencia de *Anaplasma phagocytophilum*, determinar la seroprevalencia de anticuerpos circulantes contra el género *Anaplasma* e interpretar los resultados de las boletas de los caninos muestreados en el área metropolitana de la ciudad de Guatemala.

MÉTODO

El estudio se realizó con 153 perros de todas las edades sin distinción de sexo, raza, o estado de salud. Las muestras se tomaron en clínicas veterinarias, asociaciones animalistas, albergues para mascotas, mismas que tomaron la muestra y llenaron la encuesta para cada canino muestreado. La boleta de encuesta fue llenada por personal veterinario que muestreaba con el fin obtener una referencia de donde vive y se pasea al perro e identificar preguntas claves para el diagnóstico de anaplasmosis entre: ver si tenía garrapatas, si tuvo historial de garrapatas, si presentaba sintomatología de anaplasmosis, si el perro era paseado y que frecuencia. Los caninos debían residir en los municipios de Guatemala, Santa Catarina Pinula, Mixco, Villa Nueva, Villa Canales, San Miguel Petapa del departamento de Guatemala, Guatemala.

El tamaño de la muestra mínima requerida era de 139 perros. Se calculó el tamaño de muestra para una frecuencia del 10% basado en las investigaciones de Barahona (2013) y Morales (2010). Los límites de confianza se definieron en 5% con un efecto de diseño para muestras aleatorias y con un intervalo de confianza del 95% (Dean et al, 2013). La población total aproximada es de medio millón de perros basándose en la relación de 1 perro por cada 5 personas (CES, 2016; INE, 2020). La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para *Anaplasma phagocytophilum* se limitó a los

seropositivos del ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) tamiz para *Anaplasma* sp. (sensibilidad de 92%), así como con algunos seronegativos al azar para un total de 35 muestras que se calcularon a partir de la fórmula de ausencia o presencia de una enfermedad de Cannon (2001) la cual nos dio una n de 35 muestras.

De cada perro se obtuvo una muestra de sangre entera y una de suero. Estas se guardaron a 4°C por un máximo de 5 días. Se realizó primero el ELISA y las muestras de sangre entera seropositivas en conjunto con seronegativos seleccionados al azar se congelaron entre -15 a -25°C en alícuotas de 200µl. La extracción de ADN para PCR se realizó después de completada todas las rondas de ELISA. Se empezó por desnaturalización con proteinasa K, RNasa A y buffer de digestión del kit mientras se agitaba y descongelaba a 55°C en un bloque de calor con agitador. El resto de los pasos se realizaron siguiendo las instrucciones del manual del kit *PureLink™ Genomic DNA Mini Kit* (ThermoFisher Scientific) y *VetMAX™ A. phagocytophilum Kit* (ThermoFisher Scientific). Todas las muestras fueron validadas por los controles internos y externos del ensayo.

Con los resultados del ELISA se analizan los porcentajes seroprevalencia y con los resultados de la PCR la ausencia o presencia de la enfermedad. Dado a que las area reportadas como la mediana de rango de hogar de perros vagabundos en Guatemala son de 0.3 hectareas (Warembourg et al., 2021) se delimitaron anillos epidemiológicos con esta medida usando la extensión de Range Rings para Google Earth. Por último, se realizaron las pruebas de Chi cuadrado, relación de probabilidades (odds ratio o OD) y riesgo relativo (risk ratio o RR) para analizar las respuestas de la encuesta en relación a los resultados de laboratorio.

RESULTADOS

De las 153 muestras que se sometieron

a ELISA para *Anaplasma* sp., se obtuvieron 19 positivos, dándonos una seroprevalencia de la enfermedad de 12,42%. Se procesaron en PCR para *Anaplasma phagocytophillum* las 19 muestras seropositivas, así como 17 muestras seronegativas al azar para un total de 36 muestras. Todas las muestras resultaron negativas.

De los 153 perros muestreados se pudo georreferenciar a 133, incluyendo todos los 19 seropositivos. En la Figura 1 podemos apreciar los anillos epidemiológicos de 0.3ha alrededor de los caninos seropositivos, así como la distribución de los seronegativos en círculos azules y sus áreas de paseo en diamantes verdes. Se puede apreciar la conglomeración principalmente en el área norte y noroccidente del área de estudio. Áreas que corresponden a la Ciudad de Guatemala tuvieron 47,4% (9) de positivos y a Mixco 26,3% (5). También se aprecian unos positivos en área sur, que corresponden a Villa Nueva 15,8% (3), San Miguel Petapa 5,3% (1), y Villa Canales 5,3% (1). Cabe destacar la ausencia de positivos en el área oriente del departamento correspondiente a Santa Catarina Pinula y parte oriente de la ciudad capital correspondiente a las zonas 10, 15 v 16.

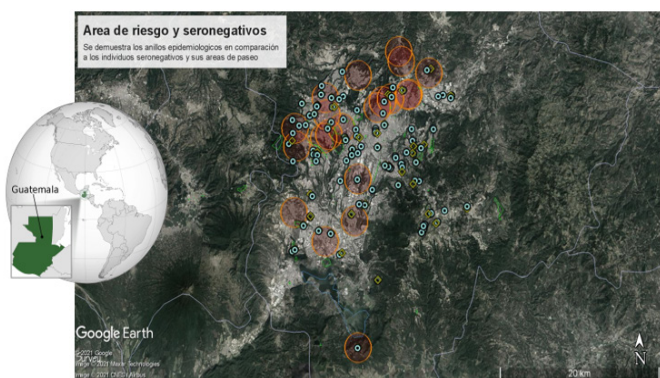


Figura 1. DISTRIBUCIÓN DE LOS RESULTADOS DE ELISA para *Anaplasma* sp. con anillos epidemiológicos. Área metropolitana de la Ciudad de Guatemala, octubre-noviembre 2021 (Google, 2021).

En la encuesta realizada, a la mayoría de los perros muestreados se les determinó que de las cuatro preguntas clave del diagnóstico de anaplasmosis solo el haber tenido historial de garrapatosis era altamente significativo

($p=0.002$). También se calculó que es 8 veces más probable que el paciente sea seropositivo a *Anaplasma* sp. si alguna vez tuvo garrapatas en su vida (OR=7.88, IC 95% 1.56-27.14). Se considera el historial de garrapatas como un factor de riesgo para la presencia de anaplasmosis (RR=6.5, IC 95% 1.56-27.14), y, al contrario, el no presentar un historial de garrapatas se considera un factor de protección contra la anaplasmosis (RR:0.15, IC 95% 0.64-0.04). Las otras preguntas como: ver si tenía garrapatas, si presentaba sintomatología de anaplasmosis, si el perro era paseado y con qué frecuencia, presentaron ser de poca significancia en el diagnóstico de la enfermedad.

Cuadro 1.

Resultados de preguntas en la boleta, área metropolitana de la Ciudad de Guatemala, octubre-noviembre 2021

Garrapatoxis actual	Seropositivos	Seronegativos	Total	X ²
Si Reportaron	4 21.1%	15 11.5%	19 12.7%	$p > 0.05$
No reportaron	15 78.9%	116 88.5%	131 87.3%	
Total	19 12.7%	131 87.3%	150 100%	
Historial de Garrapatas	Seropositivos	Seronegativos	Total	X ²
Si Reportaron	17 20%	68 80%	85 56.7%	$p < 0.01$
No reportaron	2 3%	63 97%	65 40.41%	
Total	19 12.7%	131 87.3%	150 100%	
Sintomatología de anaplasmosis	Seropositivos	Seronegativos	Total	X ²
Si Reportaron	2 15.4%	11 84.6%	13 8.6%	$p < 0.01$
No reportaron	17 12.3%	121 87.6%	138 91.4%	
Total	19 12.5%	132 87.4%	151 100%	
Paseo frecuente	Seropositivos	Seronegativos	Total	X ²
Si Reportaron	10 10.8%	83 89.2%	93 61.6%	$p < 0.01$
No reportaron	9 15.5%	49 84.5%	58 38.4%	
Total	19 12.5%	132 87.4%	151 100%	

Cuadro 2.

Odds ratio y risk ratio de preguntas en la boleta, área metropolitana de la Ciudad de Guatemala, octubre-noviembre 2021.

Tipo de Pregunta	Odds Ratio	Límite inferior 95%IC	Límite superior 95% IC
Garrapatoxis actual	1.93	4.74	0.64
Historial de garrapatas	7.87	27.14	1.56
Sintomatología de anaplasmosis	0.77	3.09	0.21
Paseo frecuente	0.65	1.6	0.3
Tipo de Pregunta	Risk Ratio	Límite inferior 95%IC	Límite superior 95% IC
Presencia de garrapatoxis actual	1.75	4.74	0.64
Ausencia de garrapatoxis actual	0.57	1.55	0.21
Presencia de historial de garrapatas	6.5	27.14	1.56
Ausencia de historial de garrapatas	0.15	0.64	0.04
Presencia de sintomatología de anaplasmosis	0.8	3.09	0.21
Ausencia de sintomatología de anaplasmosis	1.25	4.82	0.32
Paseo como factor de riesgo	0.69	1.6	0.3
Paseo como factor protector	1.44	3.34	0.62

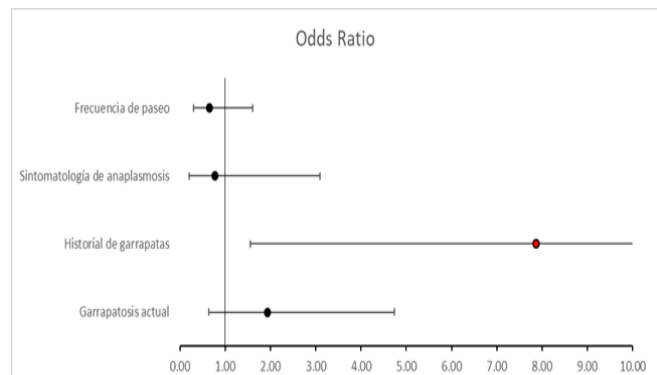


Figura 2. Odds Ratio de preguntas en la boleta. Área metropolitana de la Ciudad de Guatemala, octubre-noviembre 2021.

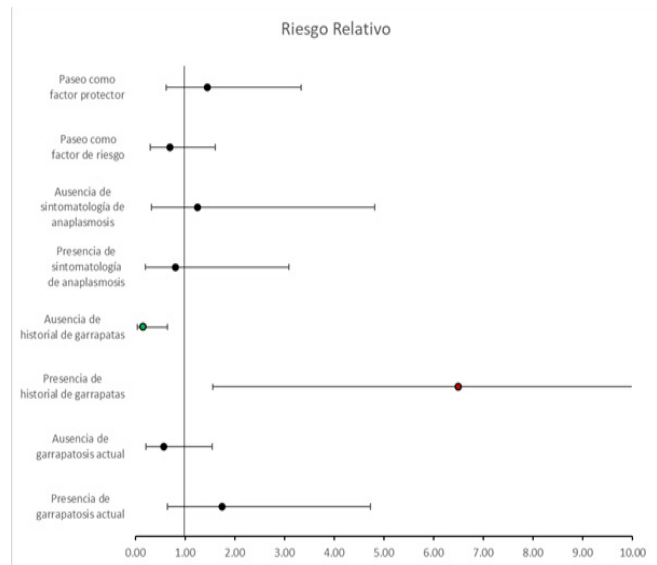


Figura 3. Riesgo Relativo de preguntas en la boleta. Área metropolitana de la Ciudad de Guatemala, octubre-noviembre 2021.

DISCUSIÓN

La seroprevalencia de *Anaplasma* sp. en la ciudad capital es de 12,42%, parecida a la observada en los departamentos de Escuintla con 16% (Barahona, 2013) y Mixco con 10% (Morales, 2010). En conjunto podemos ver el comportamiento de la enfermedad en ciertas áreas del país. Lugares cálidos como Escuintla (Barahona, 2013), la zona norte de la capital, y la zona sur del departamento (Villa Nueva, Villa Canales, zona sur de la capital y sur Mixco) muestran una seroprevalencia alta mientras que las zonas frías, como la zona suroriente y oriente de la capital (zona 10, 15 y 16) y Santa Catarina Pinula (Carretera al Salvador), no mostraron seropositividad. Esto, debido a la preferencia de las garrapatas a los climas cálidos, ya que

su ciclo se desarrolla más rápidamente en ellos (Lorenzana, 2005; Espí, 2011).

Cabe recalcar la relación de las geodistribuciones de los resultados de serología con el estatus socioeconómico de los dueños de los perros. Si relacionamos el área en donde viven (y donde pasean) con los anillos epidemiológicos de la enfermedad, obtenemos mapas muy parecidos con los mapas de índice de poder de compra de Central America Data (2021), figura 4. Cuando la capacidad de compra del dueño del perro es menor (o nula en el caso de los perros callejeros), mayor es la probabilidad de contraer anaplasmosis en algún punto de su vida. Estos resultados no son sorprendentes, debido a que muchos autores han hecho referencia a enfermedades transmitidas por las garrapatas siendo más prevalentes en zonas de bajo nivel socioeconómico (Cicuttin et al, 2015; Gómez et al, 2017; Opazo et al, 2019; Tasayco et al, 2017). Esto podría deberse a la capacidad del dueño para comprar y aplicar a los perros ectoparasiticidas comerciales para el control de pulgas y garrapatas; asimismo, a la ignorancia de la importancia del control de estos ectoparásitos. Una investigación realizada en Venezuela refleja lo mencionado anteriormente; el estudio reportó que los dueños, aunque sí sabían que sus animales les pueden transmitir enfermedades, la mayoría no aplicaba un plan de vacunación y desparasitación, únicamente el aporte de cachorro (Javitt, 2013).

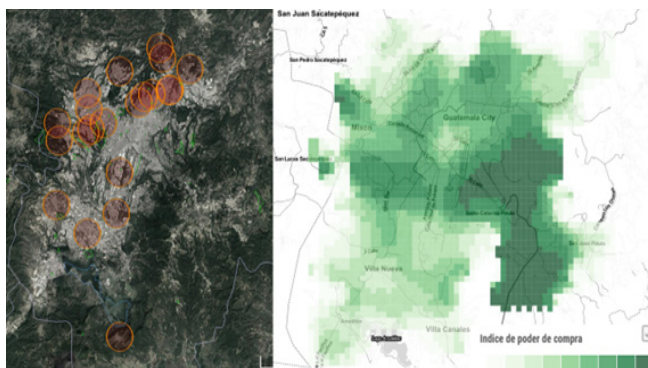


Figura 4. Comparativo entre mapas de anillos epidemiológicos de *Anaplasma* sp. con mapa socioeconómico de la Ciudad de Guatemala, octubre-noviembre 2021. Adaptado de: (Google, 2021; Central America Data, 2021).

Nota: Izquierda: área metropolitana con los anillos epidemiológicos de *A. phagocytophilum*. Derecha: Mapa de la capacidad de compra de población en el área metropolitana de la Ciudad de Guatemala. Adaptado de: (Google, 2021; Central America Data, 2021).

Esta pregunta depende solamente de la capacidad de detectar el vector, creando así variantes que no se pudieron controlar en la investigación. La sintomatología de la enfermedad es demasiado inespecífica para solo basar el diagnóstico en ella; también por el carácter asintomático de la enfermedad y el método de detección. Al no contar con PCR para otras especies aparte de *A. phagocytophilum*, no podemos contabilizar cuántos seropositivos habían sobrepasado la enfermedad; tampoco cuántos están infectados por otras especies de *Anaplasma*.

Cabe mencionar que tampoco existe relación entre la anaplasmosis y la frecuencia de paseo de los perros; inclusive se observa que casi la mitad de los seropositivos no son paseados regularmente 47,4% (9). Este fenómeno puede deberse a que no es necesario que un perro sea paseado para que entre en contacto con una garrapata. Es posible que el perro tenga algún contacto o cercanía con animales y allí entrar en contacto con una garrapata. Esto es similar a los resultados de un estudio realizado en Cuba, donde mientras más contactos tenía con otros animales, más probable era que el perro tuviera garrapatas (Rodríguez et al., 2021).

No se encontró presencia de *Anaplasma phagocytophilum* en el área de estudio. Se debe mencionar que la ausencia de evidencia no significa evidencia de ausencia, aunque se hayan utilizado fórmulas estadísticas como la de Cannon (2001) para comprobarlo.

CONCLUSIONES

La prevalencia de *Anaplasma* sp. en el área metropolitana de la ciudad de Guatemala es de 12,47% y no se encontró presencia de la especie *A. phagocytophilum*. Observando la geodistribución de los resultados podemos inferir que la anaplasmosis está relacionada con

el estatus socioeconómico del dueño, donde a menor capacidad de compra mayor probabilidades de que el canino contraerá la enfermedad. Estadísticamente la pregunta más significativa para sospechar de anaplasmosis es si alguna vez el perro tuvo garrapatas; siendo 8 veces más probable que en este caso el paciente salga seropositivo a *Anaplasma* sp.

REFERENCIAS

- Alleman, A. R., & Wamsley, L. H. (2008). An Update on Anplasmosis in Dogs. *Veterinary Medicine*, 103, 212-220. <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US201300886871>
- Bakken, J. S., Krueth, J., Wilson-Nordskog, C., Tilden, R. L., Asanovich, K., & Dumler. (1996). Clinical and laboratory characteristics of Human Granulocytic ehrlichiosis. *Journal American Medical Asociacion*, 275(3), 199-205. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8604172/>
- Barahona, L. G. (2013). *Determinación de la Presencia de Anticuerpos Circulantes de Ehrlichia canis, Anaplasma phagocytophilum, Borrelia burgdorferi y Antígenos Circulantes de Dirofilaria immitis, atravez de la Prueba Rapida de Elisa, en Perros, del municipio de Siquinalá*. [Tesis de licenciatura, Universidad de San Carlos de Guatemala], Ciudad de Guatemala. <http://www.repositorio.usac.edu.gt/2196/>
- Cannon, R. M. (2001). Sense and sensitivity — designing surveys based on an imperfect test. *Preventive Veterinary Medicine*, 49(3-4), 141-163. [https://doi.org/10.1016/S0167-5877\(01\)00184-2](https://doi.org/10.1016/S0167-5877(01)00184-2)
- Central America Data. (2021). *Mapa Socioeconómico de la Ciudad de Guatemala*. <https://maps.centralamericadata.com/cadmex/maps/90125/mapa-socioecon-mico-de-ciudad-de-guatemala#>
- CES. (2016). *Vigilancia y Control de la Rabia en Guatemala: actualización 2016 (Entrevista a G. Betran 12 de Oct. 2016 por G. Rodas)*. Centro de Estudios en Salud. Guatemala: Universidad del Valle de Guatemala.
- Cicuttin, G. L., De Salvo, M. N., Siccardi, F. M., Gramajo, L., & Gury, F. E. (2015). Caninos domésticos con elevada infestación por garrapatas y patógenos bacterianos asociados en la Ciudad Autónoma de Buenos Aires. *Revista Argentina de Zoonosis y Enfermedades Infecciosas Emergentes*, 10(1), 13-16. <https://www.aazoonosis.org.ar/wp-content/uploads/2013/05/Rev-Zoonosis-Total-2015-1-1.pdf>
- Dean, A. G., Sullivan, K. M., & Soe, M. M. (2013) Sample Size for Frequency in a Populati3n [Calculadora] Open Source Epidemiologic Statistics for Public Health. www.OpenEpi.com
- Diniz, P. P., Beall, M. J., Omark, K., Chandrashekar, R., Daniluk, D. A., Cyr, K. E., & Breitschwerdt, E. B. (2010). High prevalence of tick-borne pathogens in dogs from an Indian reservation in northeastern Arizona. *Vector Borne Zoonotic Diseases*, 10(2), 117-123. <https://doi.org/10.1089/vbz.2008.0184>
- Espí, A. (2011). Las garrapatas como agentes transmisores de enfermedades para los animales y el hombre. *Tecnología Agroalimentaria*, 9, 21-24. <https://ria.asturias.es/RIA/handle/123456789/1483>
- G3mez, M., Beatriz, E., Hoyos, S., Manchego, S., & Su3rez, A. (2017). Detecci3n de anticuerpos contra Ehrlichia spp en propietarios de caninos dom3sticos con ehrlichiosis. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Per3*, 28(4), 939-946. <https://dx.doi.org/10.15381/rivep.v28i4.13930>
- Google (2021). [Ciudad de Guatemala] Recuperado el 1 de diciembre de 2021 de <https://earth.google.com/web/@14.57961147,-90.48523072,1607.19628055a,45017.12809538d,35y,0h,0t,0r>
- INE. (2020). *Guatemala: Estimaciones de la Poblaci3n total por municipio. Per3odo 2008-2020*. Instituto Nacional de Estadistica de Guatemala. [http://www.oj.gob.gt/estadistica/reportes/poblacion-total-por-municipio\(1\).pdf](http://www.oj.gob.gt/estadistica/reportes/poblacion-total-por-municipio(1).pdf)
- Javitt, M. J. (2013). Experiencia Comunitaria en Salud Animal y su Implicaci3n en la Salud Publica. *Revista Venezolana de Salud P3blica*, 1(1), 39-47. <https://revistas.uclave.org/index.php/rvsp/article/view/1570/790>
- Lorenzana, C. (2005). Infestaci3n por Garrapatas en el Perro. *Virbac al D3a*, 2-6. <https://issuu.com/hitsoft/docs/compania04/1>
- Morales, G. C. (2010). Utilizaci3n de la Prueba R3pida de ELISA para la determinaci3n de Anticuerpos Circulantes en perros sospechosos de Anaplasmosis en el Municipio de Mixco, Guatemala. [Tesis de licenciatura, Universidad de San Carlos de Guatemala], Ciudad de Guatemala. <http://www.repositorio.usac.edu.gt/3148/>
- Opazo, A., Barrientos, C., Sanhueza, M. A., Nicole, U., & Fern3ndez, I. (2019). Fauna parasitaria en caninos (*Canis lupus familiaris*) de un sector rural de la regi3n central de Chile. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Per3*, 30(1), 330-338. <https://dx.doi.org/10.15381/rivep.v30i1.15683>
- Rodr3guez, M. B., Gonz3lez, M., Reyes, E. L., & Bravo, E. (2021). Comportamiento de la infestaci3n por *Rhipicephalus sanguineus* en perros de La Habana, Cuba. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Per3*, 32(5), 1-12. <http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v32i5.17727>
- Tasayco, R., V3squez, J., & Chuquiyauri, M. (2017). Identificaci3n y grado de parasitismo por garrapatas en caninos de la zona de San Luis- Amarilis- Hu3nuco 2011. *Investigaci3n Valdizana*, 5(2), 18-21. <http://revistas.unheval.edu.pe/index.php/riv/article>

view/669

Warembourg, C., Wera, E., Odoch, T., Bulu, P. M., Berger-González, M., Álvarez, D., Dürr, S. (2021). Comparative Study of Free-Roaming Domestic Dog Management and Roaming Behavior Across Four Countries: Chad, Guatemala, Indonesia, and Uganda. *Frontiers in Veterinary Science*, 8, 617900. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.617900>