

Dirofilaria immitis en caninos del medio Sinú: un posible riesgo para la salud pública

Dirofilaria immitis in canines of middle Sinú: a potential risk for public health

Cesar Betancur-Hurtado ^a, Alfonso Calderón-Rangel ^b,
Patricia Jaramillo Mejía ^c

- a. Profesor Titular. Departamento de Ciencias Pecuarias, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad de Córdoba. Grupo de Investigación en Biotecnología (GRU-BIODEQ). ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7617-2202>
- b. Profesor Titular. Departamento de Ciencias Pecuarias, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad de Córdoba. Grupo de Investigación en Producción Animal Tropical (GIPAT). (GIPAT). ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-6503-8323>
- c. Especialista. Ejercicio particular de clínica veterinaria especializada en mascotas.

DOI: 10.22517/25395203.24697

Resumen

Introducción: *Dirofilaria immitis* es un parásito de distribución mundial, en caninos produce la dirofilariosis cardiopulmonar progresiva, afección localizada en las arterias pulmonares y el ventrículo derecho, que induce a daño endotelial y neumonitis. El parásito es transmitido por la picadura de mosquitos a caninos y a otras especies, inclusive a humanos que habitan zonas endémicas, constituyéndose en una zoonosis. En Colombia *D. immitis* ha sido reportada en diferentes regiones de Colombia.

Objetivo: Determinar anticuerpos contra *D. immitis* en caninos de Cere-té, Ciénaga de Oro y San Carlos, municipios del Medio Sinú (Córdoba).

Materiales y métodos: Mediante un estudio descriptivo de corte tras-versal y un muestreo estratificado, se tomaron 105 muestras de sangre en caninos de las áreas urbanas de estos municipios; la determinación de an-tígenos de *D. immitis*, se realizó mediante un inmunoensayo enzimático. Se usó estadística descriptiva y se empleó Chi-cuadrado para determinar si hubo diferencias significativas con respecto a la seropositividad y las varia-bles evaluadas (edad, raza y procedencia).

Resultados: La seroprevalencia fue del 5.7% y los anticuerpos se de-lectaron en todos los municipios evaluados. No se encontraron diferencias estadísticas entre seropositividad por municipio, edad, raza, sexo.

Conclusiones: La presencia de anticuerpos circulantes de *D immitis* en huéspedes caninos junto con las condiciones agroecológicas del medio Sinú, posibilita la presencia de vectores mosquitos involucrados en la transmisión de la enfermedad, lo cual representa un riesgo potencial para la salud pública donde los humanos pueden actuar como huéspedes aberrantes.

Palabras clave: Anticuerpos, antígenos, dípteros, epidemiología, nematodos, zoonosis (Fuente: DeCS).

Abstract

Introduction: *Dirofilaria immitis*, is a worldwide distribution parasite that causes progressive cardiopulmonary disease in dogs, which is located in the pulmonary arteries and right ventricle and produces endothelial injury and pneumonia. The parasite is transmitted by mosquito bites to canines, but it may be found in a variety of mammals, including humans living in endemic areas, which turns it into a zoonosis. The infection has been reported in different Colombian regions.

Objective: To determine antibodies against *D. immitis* in dogs of Cereté, Ciénaga de Oro, and San Carlos, municipalities of middle Sinú (Córdoba).

Materials and methods: Blood samples of 105 crossbreed dogs were collected from the urban areas of these municipalities in order to conduct a descriptive cross-sectional study and stratified sampling. Antibody to *Dirofilaria immitis* was measured through the implementation of an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Descriptive analysis and Chi-square were used to determine whether there were significant differences with respect to *D. immitis* seropositivity and the parameters investigated (age, race and geographic region of origin).

Results: The seroprevalence to *D. immitis* was 5.7%, and the antibodies were detected in the municipalities evaluated. No statistically significant differences were observed between the seropositivity of different age groups, races, sexes, and municipalities.

Conclusions: The presence of circulating antibodies of *D. immitis* in dogs together with the agroecological conditions of middle Sinú, allows the presence of mosquito vectors involved in the transmission of the disease, which may represent a potential public health risk in where humans can act as aberrant hosts.

Keywords: Antibodies, antigens, diptera, epidemiology, nematodes, zoonoses (Source: DeCS).

Introducción

El objetivo de este estudio fue determinar anticuerpos contra *D. immitis* en caninos de tres municipios del Medio Sinú (Cerete, Ciénaga de Oro y San Carlos) en Córdoba, Colombia. *Dirofilaria immitis* es un parásito que en caninos produce la dirofilariosis cardiopulmonar progresiva, afección localizada en las arterias pulmonares y el ventrículo derecho que induce daño endotelial y neumonitis (1). El parásito es transmitido por la picadura de mosquitos (vectores) a caninos y otras especies como: *Vulpes vulpes* o zorros rojos (2), *Canis latrans* o coyotes (3), *Canis aureus* o chacales (4); *Canis aureus* o chavales dorados (5), *Felis catus* o gato doméstico, *Felis silvestris* o gato salvaje, *Ailurus fulgens* o pandas rojos, *Ursidae* u osos, *Otariinae* o león marino, primates (6) y humanos, constituyéndose en una zoonosis (7).

Como vectores de *D. immitis* se encuentran mosquitos de los géneros *Aedes*, *Culex* (8), *Anopheles* (9), *Culiseta* (10), *Mansonia*, *Coquillettidia* y *Psorophora* (11), *Myzorrhynchus*, *Armigeres* y *Taeniothyncus* (11). Actualmente, *Aedes koreicus*, es una especie invasora en Europa y es probable que sea un vector competente de *D. immitis* (13).

La dirofilariosis es de distribución mundial, excepto en las regiones polares, la mayor frecuencia se presenta en regiones tropicales y subtropicales donde la temperatura, la humedad y la vegetación son factores para una mayor densidad de vectores y con la presencia de los hospederos, el parásito completa su ciclo biológico (14). En Grecia se demostró que la dinámica poblacional de los mosquitos desempeña un papel importante en la distribución de *D. immitis* (15).

Los humanos tienen una alta probabilidad de infectarse cuando habitan zonas endémicas (16), suelen ser asintomáticos y las lesiones se descubren por exámenes radiológicos al sospecharse una masa maligna en tórax (17;18), o casos de ubicación inusual como en la arteria espermática (19), en nódulos hepáticos (20), a nivel intraocular (21), escrotal (22) o en el globo ocular (23).

En Colombia, *D. immitis* ha sido reportada en diferentes regiones de Colombia, anticuerpos contra *D. immitis* se detectaron en una comunidad indígena tikuna en el Amazonas, Colombia (24). En Bucaramanga, se reportó



El objetivo de este estudio fue determinar anticuerpos contra D. immitis en caninos de tres municipios del Medio Sinú (Cerete, Ciénaga de Oro y San Carlos) en Córdoba, Colombia.»

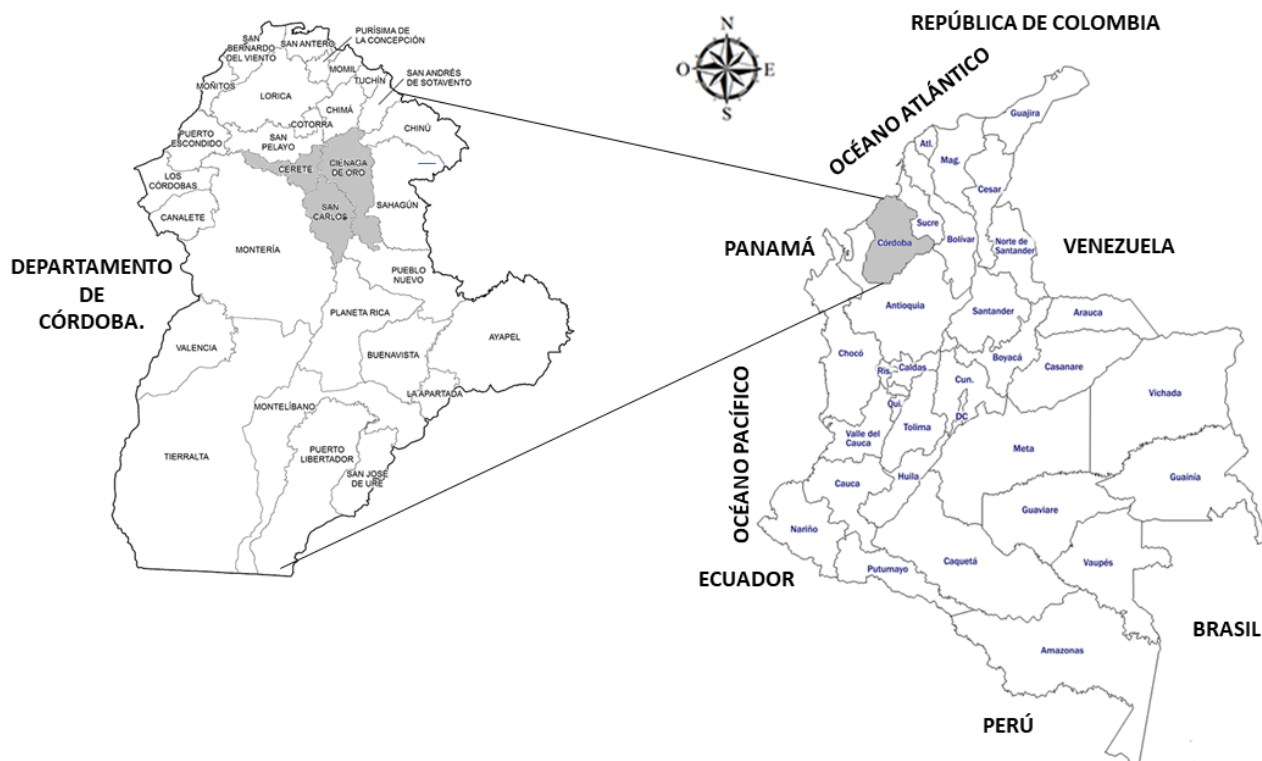
una seropositividad a *D. immitis* en humanos y caninos de una misma zona (25); también se han descrito casos de dirofilariosis pulmonar humana (26). El parásito se ha encontrado igualmente en ciudades de gran altura y clima frío (27). Por pruebas serológicas (28;29;30), reporte de casos (31), técnicas moleculares (32), combinación de serología y pruebas moleculares (25;32) estos resultados pueden confirmar la adaptabilidad de los vectores a diferentes condiciones ambientales (33).

Materiales y métodos

Tipo de estudio: Estudio descriptivo de corte trasversal.

Área de estudio: Área urbana de los municipios de Cereté, Ciénaga de Oro y San Carlos, municipios ubicados en la región geográfica del Medio Sinú (Figura1).

Figura 1. Ubicación de los municipios de Cereté, Ciénaga de Oro y San Carlos, subregión del Medio Sinú en Córdoba, Colombia, donde se determinó anticuerpos contra *D. immitis* en caninos.



Tamaño de la muestra: El tamaño de la muestra fue de 105 caninos de diferentes edades, según los datos de vacunación canina de estas áreas urbanas que fue de 14.393 caninos. Se hizo un muestreo estratificado con asignación proporcional en cada municipio según la tabla 1.

Tabla 1. Determinación de los caninos de acuerdo a un muestreo estratificado con asignación proporcional por municipio.

Municipio	Población censada	Porcentaje	Número de muestras
Cereté	8729	61	64
Ciénaga de Oro	3938	27	28
San Carlos	1726	12	13
Total	14393	100	105

Toma de las muestras: Previa desinfección del área del antebrazo y por venopunción de la vena cefálica o safena, se tomó una muestra de sangre de 5 ml en un tubo vacutainer sin anticoagulante al vacío (tapa roja); cada muestra se rotuló con la respectiva identificación del animal y se conservó en refrigeración entre 4°C y 8°C en una nevera de icopor, hasta llevarlo al laboratorio de la Clínica Julio E. Cuervo de la Universidad de Córdoba, sede Berástegui, donde se obtuvo el suero por centrifugación a 3500 rpm durante 5 minutos, el cual se conservó en congelación (-70oC) en tubos eppendorf hasta su procesamiento.

Procesamiento de las muestras: Se uso el kit comercial Prueba SNA-PMR, inmunoensayo enzimático para la detección semicuantitativa de antígeno *D. immitis* canina en suero, plasma, o sangre total de caninos y felinos. La sensibilidad de la prueba es del 98%, la especificidad del 100% (LC del 85, 96 al 100%) y un valor de Kappa del 0.98%. Esta tecnología permite que el conjugado y la muestra se mezclen y luego esta mezcla sea añadida al dispositivo que se activa liberando los reactivos almacenados dentro del dispositivo; la interpretación de los resultados se hizo por la visualización de los colores en la ventanilla y para la interpretación se siguieron las instrucciones del fabricante.

Análisis estadístico: Se elaboró una base de datos en formato Excel, donde se consignó información de las variables de los caninos evaluados y los resultados obtenidos en el laboratorio. Se usó Chi-cuadrado con el objeto de determinar si las variables edad, raza y procedencia presentaron relación con la seropositividad para antígeno *D. immitis*; se usó estadística descriptiva mediante el software SAS.

Resultados

La seroprevalencia determinada para el antígeno *D. immitis* en los 105 caninos de las áreas urbanas de Cereté, Ciénaga de Oro y San Carlos (Córdoba) fue del 5.7% (6/105). En cada uno de los municipios evaluados (Tabla 2), se determinó la presencia de antígenos de *D. immitis*; y por la prueba de Chi-cuadrado (valor=3.159; p=0.790) se demostró que no hay diferencias estadísticas (P>0.05) entre la seropositividad y los municipios evaluados.

Tabla 2. Seroprevalencia por municipio de caninos evaluados en la región del Medio Sinú.

Localidad	Caninos evaluados		Seropositivos		Seronegativos	
	n	%	n	%	n	%
Cereté	64	60.95	2	1.90	62	59.1
Ciénaga de Oro	28	26.67	2	1.90	26	24.76
San Carlos	13	12.38	2	1.90	11	10.44
Total	105	100	6	5.70	99	94.30

En la tabla 3, se presenta la seroprevalencia por edad, mediante la prueba del Chi-cuadrado se establece que no hay diferencias estadísticas (P>0.05) entre la seropositividad y la edad (valor=1.286; p=0.733).

Tabla 3. Seroprevalencia por edad de caninos evaluados en la región del Medio Sinú.

Edad (años)	Caninos evaluados		Seropositivos		Seronegativos	
	n	%	n	%	n	%
1 - 2	55	52.30	3	2.85	52	49.50
3 - 4	22	20.90	2	1.90	20	19.00
5 - 6	15	14.20	1	0.95	14	13.30
> 7	13	12.30	0	0	13	12.40
Total	105	100	6	5.70	99	94.20

La mayor población evaluada correspondió a caninos de raza criolla o mestizos, donde se obtuvo que por cada canino de raza pura se muestrearon tres caninos de raza criolla o mestizo (Tabla 4); a pesar de esta proporción, no se encontraron diferencias estadísticas por Chi-cuadrado (valor=0.403; p=0.525) (P>0.05) para esta variable.

«Esta tecnología permite que el conjugado y la muestra se mezclen y luego esta mezcla sea añadida al dispositivo activa liberando los reactivos ...»



Tabla 4. Seroprevalencia por raza de caninos evaluados en la región del Medio Sinú.

Raza	Caninos evaluados		Seropositivos		Seronegativos	
	n	%	n	%	n	%
Razas mestizas	80	76.10	6	5.7	74	70.40
Razas puras	25	23.80	0	0.0	25	23.80
Total	105	100	6	5.70	99	94.20

En relación al sexo, el número de machos fue ligeramente superior al de las hembras; igualmente, por el Chi-cuadrado (valor=0.071; $p=0.790$) no se observaron diferencias estadísticas ($P>0.05$) (Tabla 5).

Tabla 5. Seroprevalencia por sexo de caninos evaluados en la región del Medio Sinú.

Raza	Caninos evaluados		Seropositivos		Seronegativos	
	n	%	n	%	n	%
Machos	58	55.20	6	5.7	74	70.30
Hembras	47	44.70	0	0.0	25	23.75
Total	105	100	6	5.70	99	94.20

Discusión

Se determinó una seroprevalencia al antígeno *D. immitis* del 5.7% en tres áreas urbanas de Cereté, Ciénaga de Oro y San Carlos (Córdoba), municipios ubicados en la región del Medio Sinú, donde predomina el clima subhúmedo y húmedo tropical con una precipitación mensual que oscila entre 110 y 182 mm (34); los climas tropicales húmedos y subhúmedos son propicios para la presencia de vectores (garrapatas y mosquitos) que pueden transmitir enfermedades (35). Se ha determinado que la humedad y la vegetación favorecen el desarrollo de los mosquitos (36).

En un estudio reciente comparativo entre Medellín, Barranquilla y Cartagena, la seroprevalencia fue del 0% en Medellín y del 3% en las ciudades del Caribe colombiano, donde predomina el clima húmedo tropical (29). Previamente, en el Valle de Aburrá se reportó una seroprevalencia del 0.35% y se concluyó que en Medellín y en el Valle de Aburrá, la *D. immitis* no es una enfermedad endémica (28). Un caso clínico de un Pastor Alemán de tres años, nacido en Medellín y trasladado desde los cinco meses hacia la isla San Andrés, generó dudas sobre si este archipiélago es una zona endémica (31).

Por otro lado, un estudio realizado en Girardot, Cundinamarca, con clima seco tropical, en los caninos urbanos no vagabundos no se diagnosticó cardiopatías compatibles con *D. immitis* (27), dado que los tratamientos profilácticos y la oportuna atención veterinaria pueden disminuir la exposición a patógenos transmitidos por vectores en áreas endémicas (37). Igualmente, otras investigaciones han establecido que se han encontrado diferencias significativas entre caninos vagabundos y no vagabundos (38). Así mismo, un estudio comparativo entre regiones concluyó que en Colombia no se han observado diferencias significativas entre la prevalencia y las diferentes regiones geográficas (39), pero la costumbre canina de deambular por las calles, hizo que se establecieran diferencias significativas (40). En caninos de albergue de áreas metropolitanas de Bucaramanga, se determinó una prevalencia del 6.3% en frotis de sangre y del 0.5% con una prueba inmunocromatográfica (30). Finalmente, otro estudio en la misma ciudad, determinó una seroprevalencia 6,71% en humanos que convivían con caninos, donde la seroprevalencia fue del 5.12% (25).

En el presente estudio, no se encontraron diferencias estadísticas entre la seropositividad por municipio (Cereté, Ciénaga de Oro y San Carlos), municipios colindantes de la región del Medio Sinú, en donde los caninos tienen la misma probabilidad de infectarse ya que la región ofrece condiciones ambientales favorables para la presencia de vectores. Sin embargo, se ha reportado la captura de mosquitos de los géneros *Aedes*, *Culex*, *Anopheles*, *Culiseta*, *Mansonia*, *Coquillettidia*, *Psorophora*, *Myzorrhynchus*, *Armigeres* y *Taeniothyncus* en el Medio y Bajo Sinú (40;41;42;43); aunque no se han adelantado estudios para evidenciar infección de *D. immitis* en estas regiones.

La correlación entre la variable independiente seropositividad y las variables dependientes: raza, sexo y edad no determinaron diferencias estadísticas, lo que indica que caninos de ambos sexos, de cualquier raza y edad y que habiten las zonas urbanas donde se implementó el estudio, tienen la misma probabilidad de infectarse. Resultados muy similares para edad y el sexo han sido reportados en caninos en Irán y otros lugares (44), (45). Se han encontrado diferencias significativas entre caninos puros y mestizos, pero estas diferencias pueden ser debidas a tratamientos profilácticos y la oportuna atención veterinaria (46).

El hábitat de los humanos en los municipios del medio Sinú, junto con la detección de anticuerpos circulantes en caninos de *D. immitis*, las condicio-

nes agroecológicas de esta región, la presencia de mosquitos y hospederos, puede hacer que los humanos sean expuestos a la transmisión de patógenos y ser un riesgo para la salud pública; por lo cual se hace necesario implementar medidas de prevención y control de vectores.

Financiación:

La investigación fue autofinanciada.

Conflicto de intereses:

Los autores declaran que no tienen ningún conflicto de interés.

Correspondencia electrónica: acalderonr@correo.unicordoba.edu.co

Bibliografía

1. Theis JH. Public health aspects of dirofilariasis in the United States. *Vet Parasitol.* 2005; 24;133(2-3):157-180.
2. GF, Kick TJ, Andrews RD. *Dirofilaria immitis* in red foxes in Illinois. *Journal of Wildlife Diseases* 1980;16(2):229-232.
3. Hernández CN, Pineda LRF. Primer registro de *Dirofilaria immitis* (Spirurida: onchocercidae) en coyotes de México. *Acta Zool Mex* 2012;28(3):659-662.
4. Heidari Z, Kia EB, Arzamani K, Sharifdini M, Mobedi I, Zarei Z, Kamranrashani B. Morphological and molecular identification of *Dirofilaria immitis* from Jackal (*Canis aureus*) in North Khorasan, northeast Iran. *J Vector Borne Dis.* 2015;52(4):329-333.
5. Ionică AM, Matei IA, D'Amico G, Daskalaki AA, Juránková J, Ionescu DT, Mihalca AD, Modrý D, Gherman CM. Role of golden jackals (*Canis aureus*) as natural reservoirs of *Dirofilaria* spp. in Romania. *Parasit Vectors.* 2016;28; 9:240 DOI: 10.1186/s13071-016-1524-3
6. Gamble KC, Fried JJ, Rubin GJ. Presumptive dirofilariasis in a pale-headed saki monkey (*Pithecia pithecia*). *J Zoo Wildl Med* 1998; 29:50-54.
7. Malik D, Amaraneni A, Singh S, Roach R. Man's best friend: How humans can develop *Dirofilaria immitis* infections. *IDCases.* 2016 24; 4:43-45.
8. Miranda ML, Reyes DF, Nuñez OL, Hernández GJ. Determinación de dirofilariasis en Xochimilco. *Rev AMMVEPE* 2000; 11:12-15.
9. Mendes SM, Silva PS, Lourenço de Oliveira R. Vector competence of *Culex quinquefasciatus* say from different regions of Brazil to *Dirofilaria immitis*. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2000; 95:769-775.
10. Theis JH, Kovaltchouk JG, Fujioka KK, Saviskas B. Vector competence of two species of mosquitoes (Diptera: Culicidae) from southern California for *Dirofilaria immitis* (Filariidea: Onchocercidae). *J Med Entomol* 2000; 37:295-297.
11. Serrão ML, Labarthe N, Lourenço-de-Oliveira R. Vectorial competence of *Aedes aegypti* (Linnaeus 1762) Rio de Janeiro strain, to *Dirofilaria immitis* (Leidy 1856). *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 2001;96(5) 593-598.
12. Pérez G, Rosa A, Ribicich M, Meyer P, Welch E, Casalonga O, Reino P. *Dirofilariasis* canina (Resumen). Parte II. *Rev Med Vet* 1999; 76:228-240.
13. Montarsi F, Ciocchetta S, Devine G, Ravagnan S, Mutinelli F, Frangipane di Regalbono A, Otranto D, Capelli G. Development of *Dirofilaria immitis* within the mosquito *Aedes* (*Finlaya*) *koreicus*, a new invasive species for Europe. *Parasit Vectors.* 2015;3(8):177. DOI: 10.1186/s1307

14. Nguyen C, Koh WL, Casteriano, A, Beijerink N, Godfrey C, Brown G, Emery D, Šlapeta J. Mosquito-borne heartworm *Dirofilaria immitis* in dogs from Australia. *Parasites & Vectors* 2016; 9:535 DOI: 10.1186/s13071-016-1821-X
15. Diakou A, Kapantaidakis E, Tamvakis A, Giannakis V, Strus N. *Dirofilaria* infections in dogs in different areas of Greece. *Parasit Vectors*. 2016 20;9(1):508. DOI: 10.1186/s13071-016-1797-6.
16. Simón F, Siles-LM, Morchón R, González-MJ, Mellado I, Carretón E, Montoya-Alonso JA. Human and animal dirofilariasis: the emergence of a zoonotic mosaic. *Clin Microbiol Rev*. 2012; 25(3):507-544.
17. Gómez E, Chiner E, Signes-Costa J, Arriero J, Onrubia J, Mayol, MJ. Pulmonary dirofilariasis mimicking lung cancer. *Monaldi Arch Chest Dis* 2002; 57 (1):33-34.
18. Yoshino N, Hisayoshi T, Sasaki T, Yamauchi S, Oaki, Hino, M. (2003). Human pulmonary dirofilariasis in a patient whose clinical condition altered during follow-up. *The Japanese Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 2003; 51, 211-213.
19. Rouhani S, Athari A. Ocular dirofilariasis in Iran: A case report. *Medical Journal of the Islamic Republic of Iran* 2003 17(1): 85-86.
20. Kim MK, Kim CH, Yeom BW, Park SH, Choi SY, Choi JS. The first human case of hepatic dirofilariasis. *J Korean Med Sci*. 2002;17(5):686-690.
21. Choi SH, Kim N, Paik JH, Cho J, Chai JY. Orbital dirofilariasis. *Korean J Ophthalmol*. 2014 28(6):495-496.
22. Tumolskaya NI, Pozio E, Rakova VM, Supriaga VG, Sergiev VP, Morozov EN, Morozova LF, Rezza G, Litvinov SK: *Dirofilaria immitis* in a child from the Russian Federation. *Parasite*, 2016;23:37 DOI 10.1051/parasite/2016037
23. Dantas-Torres F, Otranto D. Dirofilariosis in the Americas: ¿a more virulent *Dirofilaria immitis*? *Parasit Vectors*. 2013;6(1):288. doi: 10.1186/1756-3305-6-288.
24. Vieira AL, Vieira MJ, Oliveira JM, Simões AR, Diez-Baños P, Gestal. Prevalence of canine heartworm (*Dirofilaria immitis*) disease in dogs of central Portugal. *Parasite*. 2014; 21:5. DOI: 10.1051/parasite/2014003. Epub 2014 Feb 19.
25. Esteban-Mendoza MV, Arcila-Quiceno V, Albarracín-Navas J, Hernández I, Flechas-Alarcón MC, Morchón R. Current Situation of the Presence of *Dirofilaria immitis* in dogs and humans in Bucaramanga, Colombia. *Frontiers in Veterinary Science* 2020; 7; 488 DOI=10.3389/fvets.2020.00488
26. Beaver PC, Orihel TC, Leonard G. Dirofilariasis pulmonar: nuevo estudio de gusanos gravitados reportados. *Am J Trop Med Hyg*. (1990) 43: 9-167. doi: 10.4269 / ajtmh.1990.43.167
27. Sánchez, M., Calvo, P. Determinación de la frecuencia de *Dirofilaria immitis* en mascotas caninas y su correlación con parámetros electrocardiográficos en tres pisos térmicos de Cundinamarca, Colombia. *Revista Medicina Veterinaria* 2006; 6:61-65.
28. Orozco SC, Arango M, Cardona W. Detección de antígenos de *Dirofilaria immitis* en caninos del área metropolitana del Valle de Aburrá. *Rev Col Cienc Pec* 2006; 19:3280-290.
29. McCown M, Monterroso VH, Cardona W. Monitoreo de *Ehrlichia canis*, *Anaplasma phagocytophilum*, *Borrelia burgdorferi*, y *Dirofilaria immitis* en perros de tres ciudades en Colombia. *Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia* 2015;10(2): 224-231.
30. Florez MAA, Rosas MA, Pinilla JC, Prevalence of *Dirofilaria immitis* in shelter dogs in Bucaramanga metropolitan area, Colombia, *Vet Parasitol* 2020; 22: 100489.
31. Gómez GLF, Gildardo JAG, Orozco PSC. Reporte de un caso de *Dirofilaria immitis* en un perro. Hallazgo de antígenos y confirmación del parásito a la necropsia. *Rev Col Cienc Pec* 2006;19(1):70-79.

32. Espinosa N, Rosero A, Villegas CL, García IC, Gaviria-Cantín T, Peña A, Ferro BE, Nieto Ramírez LM. Canine filariasis outbreak in southwestern Colombia: A Molecular and Epidemiological Study. *Preprints 2020*; 2020100221 (doi: 10.20944/preprints202010.0221.v1)
33. Mattar SV, González TM. ¿Adaptación de los vectores a los microorganismos o adaptación de los microorganismos a los vectores? *Rev.MVZ Córdoba* 2016;21(3): 5478-5479.
34. Corporación colombiana de investigación agropecuaria (Corpoica). Atlas de los sistemas de producción bovina. Modulo Región Caribe. Bogotá, Colombia, 2002.
35. Verwoerd DW. Definición de «vector» y «enfermedad transmitida por vectores. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.*, 2015;34(1):37-39.
36. Montoya-Alonso JA, Carretón E, García-Guasch L, Expósito J, Armario B, Morchón R, Simón F. First epidemiological report of feline heartworm infection in the Barcelona metropolitan area (Spain) *Parasit Vectors*. 2014 12; 7:506. DOI: 10.1186/s13071-014-0506-6.
37. Vascellari M, Ravagnan S, Carminato A, Cazzin S, Carli E, Da Rold G, Lucchese L, Natale A, Otranto D, Capelli G. Exposure to vector-borne pathogens in candidate blood donor and free-roaming dogs of northeast Italy *Parasit Vectors*. 2016 29;9(1):369. DOI: 10.1186/s13071-016-1639-6.
38. Khedri J, Radfar MH, Borji H, Azizzadeh M, Akhtardanesh B. Canine Heartworm in Southeastern of Iran with Review of disease distribution. *Iran J Parasitol* 2014;9(4):560-567.
39. Park HJ, Lee SE, Lee WJ, Oh JH, Maheswaran E, Seo KW, Song KH. Prevalence of *Dirofilaria immitis* infection in stray cats by nested PCR in Korea. *Korean J Parasitol*. 2014; 52(6):691-694.
40. 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;29;9(1):421-XXX.
41. Hoyos-López R, Suaza-Vasco J, Rúa-Urbe G, Uribe S, Gallego-Gómez J. Molecular detection of flaviviruses and alphaviruses in mosquitoes (Diptera: Culicidae) from coastal ecosystems in the colombian Caribbean. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*, 2016; 206;111(10):625-634.
42. Parra-Henao G, Suárez L. Mosquitos (Diptera: Culicidae) vectores potenciales de arbovirus en la región de Urabá, noroccidente de Colombia. *Biomédica*; 2012;32(2):252-262.
43. Razi JMH, Alborzi AR, Avizeh R, Mosallanejad B. A study on *Dirofilaria immitis* in healthy urban dogs from Ahvaz, Iran. *IJVR* 2010;11(4):356-353.
44. Jaramillo M, Peña J, Berrocal L, Komar N, González M, Ponce C, Ariza K, Mátar S. Vigilancia centinela para el virus del oeste del Nilo en culicidos y aves domésticas en el departamento de Córdoba. *MVZ-Córdoba* 2005; 10;(2):633-638.
45. Panayotova-Pencheva MS, Mirchev RL, Trifonova AP. *Dirofilaria immitis* infection in carnivores from Bulgaria: 2012–2013 UPDATE. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine*, 2016, 19(2):153-162.
46. Oi M, Yoshikawa S, Ichikawa Y, Nakagaki K, Matsumoto J, Nogami S. Prevalence of *Dirofilaria immitis* among shelter dogs in Tokyo, Japan, after a decade: comparison of 1999-2001 and 2009-2011. *Parasite*. 2014; 21:10. DOI: 10.1051/parasite/2014008. Epub 2014 Mar 3.