

Monitoreo de *Ehrlichia canis*, *Anaplasma phagocytophilum*, *Borrelia burgdorferi*, y *Dirofilaria immitis* en perros de tres ciudades en Colombia[±]

Surveillance for *Ehrlichia canis*, *Anaplasma phagocytophilum*, *Borrelia burgdorferi*, and *Dirofilaria immitis* in Dogs From Three Cities in Colombia

Michael E McCown, DVM, MPH, DACVPM; Víctor H. Monterroso, MV, MS, PhD, DACLAM; Wilder Cardona¹, MV, Esp.

[±]Traducción realizada por los autores. Artículo publicado en el *Journal of Special Operations Medicine*, Spring 2014, Vol 1: 86-90 (*J Spec Oper Med*. 2014 Spring; 14(1):86-90). Permiso para publicar la traducción en español dado por el editor JSOM.

Abstract

Emerging infectious and zoonotic diseases are made up in large proportion by vector-borne diseases (VBD). Dogs are parasitized by disease vectors such as ticks and mosquitoes, making dogs adequate reservoirs for zoonoses. Risk of exposure to VBD exists for the US military personnel and Military Working Dogs (MWD) when deployed globally. The importance of canine VBD surveillance relates to veterinary and public health significance for the host nations as well as for the US troops and MWDs. The objective of this work was to survey dogs from the cities of Medellin, Barranquilla, and Cartagena in Colombia to determine prevalence of heartworm disease (*Dirofilaria immitis*), ehrlichiosis (*Ehrlichia canis*), Lyme disease (*Borrelia burgdorferi*), and anaplasmosis (*Anaplasma phagocytophilum*). Canine (n=498) blood samples (1-3cc) were collected during July 2011 from Medellin (n=175), Barranquilla (n=223), and Cartagena (n=100). Samples were tested on-site using IDEXX SNAP® 4Dx® Test Kits. The overall combined sample prevalence of *E. canis*, *A. phagocytophilum*, *D. immitis*, and *B. burgdorferi* was 62%, 33%, 1.6%, and 0%. In Medellin, 26% of the samples were positive for *E. canis*, 12% for *A. phagocytophilum*, and 0% for *D. immitis*. In Barranquilla, sample prevalence for *E. canis*, *A. phagocytophilum*, and *D. immitis* were 83%, 40%, and 2%. In Cartagena, *E. canis*, *A. phagocytophilum*, and *D. immitis* sample prevalence were 80%, 51%, and 3%. In conclusion, *E. canis* and *A. phagocytophilum* are present in all three surveyed cities. There is a higher prevalence for *E. canis* and *A. phagocytophilum* than *D. immitis*. In addition, the prevalence for these organisms is higher in Barranquilla and Cartagena than in Medellin. Overall, this study emphasizes the value of surveillance for VBDs in order to determine disease prevalence, develop risk assessments, and to implement control measures.

Keywords:

Colombia, dogs, parasites, public health, surveillance, vector-borne disease, zoonotic disease.

Resumen

Las nuevas enfermedades infecciosas y enfermedades zoonóticas son en su mayor proporción el resultado o causa de enfermedades transmitidas por vectores (VBD: Vector-Borne Diseases). Perros que han sido infectados por enfermedades vectores como mosquitos y garrapatas, se convierten en fuentes adecuadas para enfermedades zoonóticas. Existe un riesgo ante la exposición a VBD en el personal de las Fuerzas Armadas Americanas y los perros del servicio militar (MWD: Military Working Dogs) cuando estos se encuentran trabajando fuera de los Estados Unidos. Tanto como para la Veterinaria, la Salud pública de las Naciones anfitrionas y de las Fuerzas Armadas Americanas y de sus perros militares es de gran importancia el seguimiento y vigilancia de VBD en los

perros. El objetivo de este trabajo fué el monitoreo e investigación de perros en las ciudades de Medellín, Barranquilla y Cartagena en Colombia y determinar la existencia de enfermedades como la enfermedad del gusano del corazón (“heartworm disease” - *Dirofilaria immitis*), ehrlichiosis (*Ehrlichia canis*), Lyme disease (*Borrelia burgdorferi*) y anaplasmosis (*Anaplasma phagocytophilum*). Perros (n=498) muestras de sangre (1-3cc) recolectadas durante Julio 2011. En Medellín (n=175) Barranquilla (n= 223) y Cartagena (n= 100). Muestras fueron utilizadas in situ por medio de IDEXX SNAP® 4Dx® Test Kits. La combinación total de las pruebas muestran una prevalencia de *E. canis*, *A. phagocytophilum*, *D. immitis*, y *B. burgdorferi* fue de un 62%, 33%, 1.6% y de un 0% En Medellín, 26% de las pruebas fueron positivas para *E. canis*, 12% para *A. phagocytophilum*, y 0% para *D. immitis*. En Barranquilla, las muestras demostraron una prevalencia para *E. canis*, *A. phagocytophilum* y *D. immitis* fue de un 83%, 40% y 2%. En Cartagena, *E. canis*, *A. phagocytophilum*, y *D. immitis* mostraron una prevalencia del 80%, 51% y 3%. En conclusión, *E. canis* y *A. phagocytophilum* están presentes en las tres ciudades. Hay una mayor prevalencia para *E. canis* y *A. phagocytophilum* y también la presencia de estos organismos es mayor en Barranquilla y Cartagena comparado con los resultados de Medellín. Este estudio tiene como propósito enfatizar el valor e importancia del monitoreo y estudio de VBDs con el fin de determinar la prevalencia de las enfermedades, el desarrollo de sus causas y determinar medios para prevenir y controlar el esparcimiento de estas enfermedades.

Palabras clave:

Colombia, enfermedades zoonóticas, parásitos, enfermedades de transmisión por vectores, monitoreo, perros, salud pública.

Introducción

Las enfermedades transmitidas por garrapatas, se encuentran en el grupo de enfermedades transmitidas por vectores (ETV). Por su continua y rápida diseminación a nivel mundial son denominadas también enfermedades emergentes (OMS, Reporte 2004; Jones *et al.*, 2008). Asimismo, por el incremento en el número de nuevas infecciones y de enfermedades zoonóticas las garrapatas son descritas como vectores transmisores de patógenos “transmitidas por garrapatas” (OMS, Reporte 2004). Las poblaciones caninas son susceptibles a la mayor parte de los patógenos que infectan los mamíferos transmitidos por las garrapatas, incluyendo los seres humanos, por lo que los perros son grandes reservorios y centinelas adecuados para las enfermedades infecciosas y zoonóticas (Beall *et al.*, 2008; Bowman *et al.*, 2009; Otranto *et al.*, 2010; Otranto *et al.*, 2009 part I; Otranto *et al.*, 2009 part II; Pantchev *et al.*, 2009; McCown 2005).

Enfermedades en los perros tales como la “Enfermedad del corazón” (*Dirofilaria immitis*), la Ehrlichiosis (*Ehrlichia canis*), la Enfermedad de Lyme (*Borrelia burgdorferi*), y la Anaplasmosis (*Anaplasma phagocytophilum*), deberían ser objeto de estudio, debido a su importancia para la veterinaria y la salud pública. El valor de la vigilancia de tales enfermedades está orientada a disminuir los riesgos de exposición a enfermedades, laborales y ambientales. (IDEXX Laboratories Inc 2010; Coutinho *et al.* 2005; Dantas-Torres 2008; Mitchell 1991; Conn *et al.* 1997; Moraes-Filho *et al.* 2011). Los resultados de esta vigilancia no solamente pueden aportar información

sobre tasas de prevalencia en la población canina, sino también sobre los vectores presentes y el riesgo latente para la población humana. El objetivo de este trabajo fue estudiar los caninos de las ciudades de Medellín, Barranquilla y Cartagena en Colombia, para determinar la prevalencia de la Enfermedad del Gusano del Corazón, la Ehrlichiosis, la Anaplasmosis, y la Enfermedad de Lyme.

Materiales y Métodos

Se colectaron muestras de sangre en caninos en tres ciudades de Colombia (n = 498), con el fin de obtener datos de vigilancia más completos. Las tres ciudades seleccionadas para el muestreo fueron - Medellín (n = 175), Barranquilla (n = 223) y Cartagena (n = 100) - tres regiones diferentes de Colombia con alturas sobre el nivel del mar, variables -. Medellín (latitud 6° 13' N, longitud 75° 36' W, altitud 4.902 pies o 1.499 metros). De otro lado, Barranquilla (latitud 10° 53' N, longitud 74 ° 46'47'W, con una elevación de 98 pies o 30 m.s.n.m) y Cartagena (Latitud 10 ° 27'N, longitud 75 ° 31'W, elevación 3 pies o 1 m.s.n.m), dos ciudades costeras de Colombia. Se incluyeron en el estudio perros de clínicas veterinarias y refugios de las respectivas ciudades, entre ellos, perros callejeros recogidos por entidades encargadas del control de animales, por personal de las clínicas veterinarias o miembros de la comunidad que voluntariamente llevaron a sus perros a una clínica para un examen médico veterinario.

Entre 1 y 3 mL de sangre fueron tomados de cada perro por venopunción de la vena cefálica. Cada muestra se dividió entre un tubo con EDTA y un tubo sin ningún tipo de aditivo. La muestra de sangre entera se analizó en el lugar de muestreo para la enfermedad del gusano del corazón (antígeno de *D. immitis*), ehrlichiosis canina (anticuerpos contra *E. canis*), anaplasmosis (anticuerpos de *A. phagocytophilum*), y la enfermedad de Lyme (anticuerpos a *B. burgdorferi*), utilizando un kit de ensayo SNAP® 4Dx® (IDEXX Laboratories, Inc., Westbrook, ME), siguiendo las indicaciones del fabricante (IDEXX Laboratories Inc. 2010).

El Kit de prueba SNAP® 4Dx® es un sistema de prueba de ensayo rápido utilizando el ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA). El resultado de cada muestra fue registrado como positivo o negativo, para cada una de las cuatro enfermedades evaluadas. Se registró para cada una de las enfermedades, el número de muestras positivas o negativas de cada individuo y el número de muestras positivas a más de un agente.

Análisis Estadístico

Mediante un análisis estadístico se calculó la prevalencia local de cada enfermedad como la proporción de

muestras positivas del total de las muestras realizadas en las respectivas ciudades. Las razones de disparidad (*odds ratio* – OR-, por sus siglas en inglés) de cada una de las enfermedades se compararon por medio de un análisis de regresión logística, utilizando “PROC LOGISTIC,” un sistema de análisis estadístico SAS 9.2 2008 (SAS Institute Inc, Cary, NC).

Resultados

La prevalencia canina general de VBD (infección con uno o más agentes patógenos VBD) fue del 30% en Medellín y del 84%, tanto en Barranquilla como en Cartagena. La prevalencia general de *E. canis*, *A. phagocytophilum*, *D. immitis*, y *B. burgdorferi* fue del 62%, 33%, 1,2% y 0%, respectivamente. En la ciudad de Medellín, el 25% de las muestras dieron positivas para *E. canis*, 12% para *A. phagocytophilum* y 0% para *D. immitis* (Figura 1 y Tabla 1). En la ciudad de Barranquilla, la prevalencia de *E. canis*, *A. phagocytophilum* y *D. immitis* fueron del 82%, 41%, y 1%, respectivamente (Figura 2 y Tabla 2). En la ciudad de Cartagena, la prevalencia para *E. canis*, *A. phagocytophilum* y *D. immitis* fue del 79%, 52% y 3%, respectivamente (Figura 2 y Tabla 3).

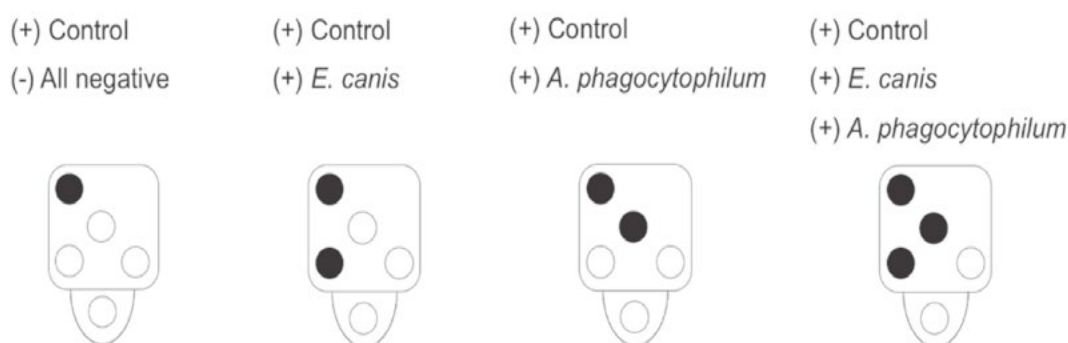


Figura 1. Representación de los resultados de las pruebas observados y registrados en la ciudad de Medellín.

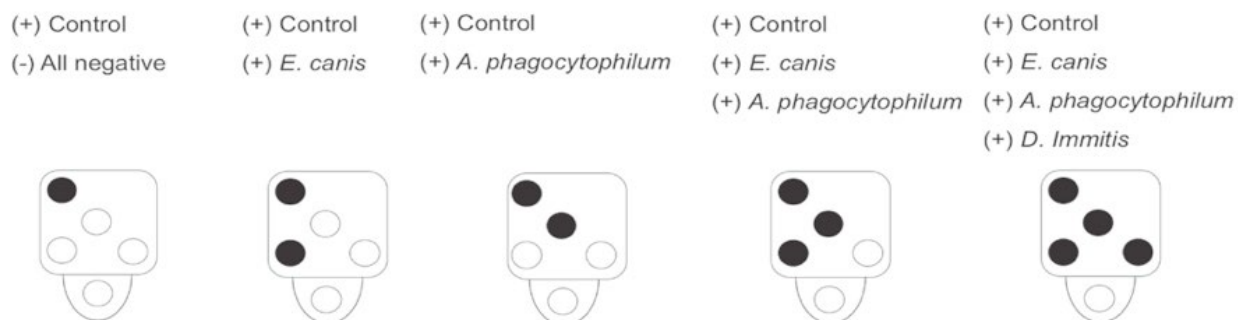


Figura 2. Representación de los resultados de las pruebas observados y registrados en las ciudades de Barranquilla y Cartagena.

Tabla 1. Número de muestras positivas para los antígenos o los anticuerpos en las muestras sanguíneas tomadas a los caninos, en la ciudad de Medellín.

<i>Organismo Causal</i>	<i>Antígeno o anticuerpo positivo/en animales participantes</i>	<i>Seroprevalencia</i>
Al menos un organismo	52/175	30%
<i>Ehrlichia canis</i> (total)	43/175	25%
<i>Anaplasma phagocytophilum</i> (total)	20/175	11%
<i>Ehrlichia canis</i> (sola)	32/175	18%
<i>Anaplasma phagocytophilum</i> (sola)	9/175	5%
<i>E. canis</i> + <i>A. phagocytophilum</i> (coinfeción)	11/175	6%
<i>Borrelia burgdorferi</i>	0/175	0%
<i>Dirofilaria immitis</i>	0/175	0%

Tabla 2. Número de muestras positivas para los antígenos o los anticuerpos en las muestras sanguíneas tomadas a los caninos en la ciudad de Barranquilla.

<i>Organismo Causal</i>	<i>Antígeno o anticuerpo positivo/en animales participantes</i>	<i>Seroprevalencia</i>
Por lo menos ≥ 1 organismo	189/223	84%
<i>Ehrlichia canis</i> (total)	184/223	82%
<i>Anaplasma phagocytophilum</i> (total)	90/223	40%
<i>Ehrlichia canis</i> (sola)	92/223	41%
<i>Anaplasma phagocytophilum</i> (sola)	0/223	0%
<i>E. canis</i> + <i>A. phagocytophilum</i> (coinfeción)	90/223	40%
<i>E. canis</i> + <i>A. phagocytophilum</i> + <i>D. immitis</i> (coinfeción)	2/223	0.9%
<i>Borrelia burgdorferi</i>	0/223	0%
<i>Dirofilaria immitis</i>	5/223	2%

Estos resultados tienen un gran significado estadístico (prueba de Chi cuadrado, 95% Intervalo de confianza, $p < 0,05$). Los resultados demuestran la existencia de *Ehrlichia* en ciudades como Barranquilla y Cartagena con un número entre 14,5 y un 12,3 veces mayor en comparación con las pruebas tomadas en perros en Medellín. Los resultados positivos para *A. phagocytophilum* fueron un 5,2 y 8,0 veces mayor en perros que habitan en Barranquilla y Cartagena respectivamente comparados con perros que viven en Medellín. Para *D. immitis* los resultados positivos no mostraron mayor diferencia entre las tres ciudades.

Discusión

Las ciudades de Medellín, Barranquilla y Cartagena fueron seleccionadas para proporcionar los datos de tres regiones muy importantes pero a su vez disímiles, en cuanto a su altura sobre el nivel del mar (Medellín con una latitud de 6°13'N, Longitud: 75°36'W, Elevación: 4902 pies o 1499 metros), es una región montañosa con un gran componente rural y urbano, Barranquilla (Latitud: 10°53'N, Longitud: 74°46'47"W, Elevación: 98 pies o 30 metros) y Cartagena (Latitud: 10°27'N, Longitud: 75°31'W, Elevación: 3 pies o 1 metro).

Tabla 3. Número de muestras positivas para los antígenos o los anticuerpos en las muestras sanguíneas tomadas a los caninos, en la ciudad de Cartagena.

<i>Organismo Causal</i>	<i>Antígeno o anticuerpo positivo/en animales participantes</i>	<i>Seroprevalencia</i>
Por lo menos ≥ 1 organismo	84/100	84%
<i>Ehrlichia canis</i> (total)	80/100	80%
<i>Anaplasma phagocytophilum</i> (total)	51/100	51%
<i>Ehrlichia canis</i> (sola)	30/100	30%
<i>Anaplasma phagocytophilum</i> (sola)	1/100	1%
<i>E. canis</i> + <i>A. phagocytophilum</i> (co infección)	49/100	49%
<i>E. canis</i> + <i>A. phagocytophilum</i> + <i>D. immitis</i> (co infección)	1/100	1%
<i>Borrelia burgdorferi</i>	0/100	0%
<i>Dirofilaria immitis</i>	3/100	3%



Dr. McCown tomando una muestra de sangre en un perro callejero.

Barranquilla y Cartagena son ciudades costeras de clima tropical húmedo y caliente durante todo el año. Los climas húmedos tropicales proporcionan un medio ambiente adecuado para la presencia de vectores tales como garrapatas y mosquitos (Coutinho *et al.*, 2005; Dantas-Torres 2008). En América del Sur, vectores como *Rhipicephalus sanguineus* (garrapata marrón del perro), la garrapata *Ixodes spp.* y mosquitos de las especies *Aedes albopictus* y *Anopheles spp.*, se encuentran presentes (Mitchell 1991; Conn *et al.*, 1997; Moraes-Filho *et al.*, 2011). La presencia de estos vectores es de

importancia: *R. sanguineus* es el vector primario para *E. canis* y las garrapatas *Ixodes spp.* son vectores para *A. phagocytophilum* y *B. burgdorferi* (Johnson *et al.*, 1998; Swanson *et al.*, 2006; Bakken and Dumler 2008). Mosquitos como *Aedes spp.* y *Anopheles spp.*, son vectores transmisores de *D. immitis* (Otranto *et al.*, 2009 part I); los mosquitos de este género se han reportado en áreas de Colombia y Ecuador (Disease Vector Ecology Profiles Ecuador, 1998; Disease Vector Ecology Profiles Colombia, 1998).



Dr. Wilder Cardona tomando una muestra de sangre en un pastor alemán en Barranquilla

Todas las muestras recolectadas en este estudio fueron negativas para anticuerpos de *B. burgdorferi*, con una muy baja prevalencia de *D. immitis*. Este fue un hallazgo interesante, como la presencia de vectores (mosquitos y garrapatas) y el consecuente diagnóstico como evidencia de agentes etiológicos de estas dos enfermedades que han sido reportadas en Colombia y en otros países vecinos como Ecuador, Brasil, Perú y Argentina. (Mitchell 1991; Conn *et al.*, 1997; Moraes-Filho *et al.*, 2011; Vieira *et al.*, 1998; Vieira *et al.*, 1998; Adrianzén *et al.*, 2003; Danta-Torres 2008; Santos *et al.*, 2010; Espinoza-Leon *et al.*, 2012; Labarthe *et al.*, 2003; Levy *et al.*, 2008; McCown *et al.*, 2011; Vezzani *et al.*, 2006; Labarthe and Guerrero 2005). Entidades como la enfermedad del corazón o dirofilariosis causada por *D. immitis* ha sido reportada en el área de las Islas Galápagos en Ecuador, en regiones amazónicas de Colombia y países vecinos como Perú y Brasil (Vieira *et al.*, 1998; Adrianzén *et al.*, 2003; Danta-Torres 2008; Santos *et al.*, 2010; Levy *et al.*, 2008). Hallazgos similares han sido reportados para la enfermedad de Lyme causada por *B. burgdorferi* (Santos *et al.*, 2010; Miranda *et al.*, 2009). Es posible concluir que barreras naturales o condiciones ecológicas expliquen estos resultados. Sin embargo, la presencia de unas condiciones climáticas favorables y de los vectores hace más probable que la VBD se presente (Sutherst, 2004). Así las cosas, la enfermedad del corazón y la enfermedad de Lyme están presentes con una baja seroprevalencia.

En general, ha sido sugerido que la coinfección de dos o más VBD, tal como se muestra en este reporte, podrían conducir a efectos inmunológicos más complejos, dificultando aún más el diagnóstico de VBD y posterior

tratamiento (Otranto *et al.*, 2009 parte I). Considerando todas las condiciones favorables existentes en Colombia, es posible especular que la prevalencia de las enfermedades del corazón o dirofilariosis y la enfermedad Lyme se incrementarán con el tiempo.

La vigilancia epidemiológica futura, tanto de época y la prevalencia puntual estudio, es necesaria para recoger cifras objetivas para determinar si la prevalencia de estas enfermedades va en aumentando, y en caso de que así sea, determinar la velocidad y la gravedad de dicho aumento.

En conclusión, este trabajo ha proveído de importante información médica en el área de enfermedades vectores zoonóticas que podrían afectar a las Fuerzas Armadas de los Estados Unidos que se encuentran sirviendo a nivel mundial, así también a las Naciones anfitrionas de las Fuerzas Militares. Los resultados de este estudio demuestran la presencia de VBDs *E. canis*, *A. phagocytophilum* y *D. immitis* en Colombia. Este estudio enfatiza la importancia del monitoreo de VBD con el propósito de determinar la seroprevalencia de estas enfermedades, el desarrollo y evaluación de riesgos, así como la implementación de una medicina preventiva y otros medios de control. Los resultados demuestran la inmensa necesidad de monitorear continuamente los lugares donde existan animales expuestos a VBDs. (Duncan *et al.* 2004). A nivel de Salud Pública, este estudio concuerda con el concepto de “Una Salud” (el esfuerzo de colaboración de múltiples disciplinas trabajando localmente, nacionalmente y globalmente para la investigación, el manejo y el control de recursos que permitan una óptima salud en las personas, los animales

domésticos, los animales salvajes y el medio ambiente). Estudios de vigilancia tienen un valor adicional en los departamentos de salud de las localidades, al proveer herramientas objetivas para desarrollar e implementar medidas integrales de educación y prevención que aseguren la salud pública.

El futuro monitoreo y estudio constante es necesario para recolectar muestras y números que determinen si la existencia de estas enfermedades es creciente, y si lo es, cuál será el resultado, con qué velocidad se incrementa y cuál será su efecto.

Referencias

1. Adrianzén JG, Chávez AV, Casas EA, and Li OE (2003). Seroprevalencia de la dirofilariosis y ehrlichiosis canina en tres distritos de Lima. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú* 14(1):43-48.
2. Bakken JS and Dumler S (2008) Human granulocytic anaplasmosis. *Infectious Disease Clinics of North America* 22(3):433-448.
3. Beall MJ, Chandrashekar R, Eberts MD, et al (2008) Serological and molecular prevalence of *Borrelia burgdorferi*, *Anaplasma phagocytophilum*, and *Ehrlichia* species in dogs from Minnesota. *Vector Borne Zoonotic Dis* 8(4):455-464.
4. Bowman D, Little SE, Lorentzen L, Shields J, Sullivan MP, Carlin EP (2009) Prevalence and geographic distribution of *Dirofilaria immitis*, *Borrelia burgdorferi*, *Ehrlichia canis*, and *Anaplasma phagocytophilum* in dogs in the United States: results of a national clinic-based serologic survey. *Vet Parasitol* 160(1-2):138-148.
5. Conn JE, Mitchell SE, Cockburn AF (1997) Mitochondrial DNA variation within and between two species of neotropical anopheline mosquitoes (Diptera:Culicidae). *Journal of Heredity* 88(2):98-107.
6. Courtney CH and Zeng Q (2001) Comparison of heartworm antigen test kit performance in dogs having low heartworm burdens. *Veterinary Parasitology* 96(4):317-322.
7. Coutinho MT, Bueno LL, Sterzik A, Fujiwara RT, Botelho JR, Maria M, Genaro O, Linardi PM (2005) Participation of *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) in the epidemiology of canine visceral leishmaniasis. *Veterinary Parasitology* 128:149-155.
8. Dantas-Torres F (2008) Canine vector-borne diseases in Brazil. *Parasites & Vectors* 1(1):25.
9. Dantas-Torres F (2008). The brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus* (Latrielle, 1806) (Acari: Ixodidae): from taxonomy to control. *Veterinary Parasitology* 152:173-185.
10. Disease Vector Ecology Profiles (1998) Disease Vector Ecology Profiles Ecuador. Defense Pest Management Information Analysis Center 1-82.
11. Disease Vector Ecology Profiles (1998) Disease Vector Ecology Profiles Colombia. Defense Pest Management Information Analysis Center 1-85.
12. Duncan AW, Correa MT, Levine JF, Breitschwerdt EB (2004). The dog as a sentinel for human infection: prevalence of *Borrelia burgdorferi* C6 antibodies in dogs from southeastern and mid-Atlantic states. *Vector Borne Zoonotic Diseases* 4:221-229.
13. Espinoza-Leon F, Arocha F, Hassanhi M, Arevalo J (2010) Using the polymerase chain reaction to *Borrelia burgdorferi* infection in localized scleroderma injure (morphea), in Venezuelan patients. *Investigacion Clinica* 51(3):381-390.
14. IDEXX Laboratories Inc (2010) SNAP® 4Dx® Test Kit.
15. http://www.idexx.com/view/xhtml/en_us/smallanimal/inhouse/snap/4dx.jsf
16. Johnson EM, Ewing SA, Barker RW, Fox JC, Crow DW, Kocan KM (1998) Experimental transmission of *Ehrlichia canis* (Rickettsiales: Ehrlichieae) by *Dermacentor variabilis* (Acari: Ixodidae). *Veterinary Parasitology* 74:277-288.
17. Jones KE, Patel NG, Levy MA, Storeygard A, Balk D, Gittleman JL, Daszak P (2008) Global trends in emerging infectious diseases. *Nature* 451:990-993.
18. Labarthe N, de Campos PM, Barbarini O, McKee W, Coimbra CA, Hoskins J (2003) Serologic prevalence of *Dirofilaria immitis*, *Ehrlichia canis*, and *Borrelia burgdorferi* infections in Brazil. *Veterinary Therapeutics* 4(1):67-75.
19. Labarthe N and Guerrero J (2005) Epidemiology of heartworm: what is happening in South America and Mexico? *Veterinary Parasitology* 133(2-3):149-156.

20. Levy JK, Crawford PC, Lappin MR, Dubovi EJ, Levy MG, Alleman R, Tucker SJ, Clifford EL (2008) Infectious diseases of dogs and cats on Isabela Island, Galapagos. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 22(1):60-5.
21. Martin SW, Meek AH, Willeberg P (1987) Measurement of disease frequency and production. *Veterinary Epidemiology Principles and Methods*. Iowa State University Press, Ames, Iowa, pp 66-69.
22. McCown M (2005) Infectious Disease Discovered in Colombian Military Working Dogs. *Journal of Special Operations Medicine* 5(2):66-70.
23. McCown ME, Monterroso VH, Grzeszak B. (2011) Zoonotic and Infectious Disease Surveillance for *Ehrlichia canis*, *Anaplasma phagocytophilum*, *Borrelia burgdorferi*, and *Dirofilaria immitis* in Dogs in Ecuador. *J Spec Oper Med* 11(3):61-65.
24. Miranda J, Mattar S, Perdomo K, and Palencia L (2009) Seroprevalence of Lyme borreliosis in workers from Cordoba, Colombia. *Revista Salud Publica (Bogotá)* 11(3):480-489.
25. Mitchell CJ (1991) Vector competence of North and South America strains of *Aedes albopictus* for certain arboviruses: a review. *Journal of the American Mosquito Control Association* 7(3):446-451.
26. Moraes-Filho J, Marcili A, Nieri-Bastos FA, Richtzenhain LJ, Labruna MB (2011) Genetic analysis of ticks belonging to the *Rhipicephalus sanguineus* group in Latin America. *Acta Tropica* 117(1):51-55.
27. Otranto D, Dantas-Torres F (2010) Canine and feline vector-borne diseases in Italy: current situation and perspectives. *Parasit Vectors* 2010; 3:2.
28. Otranto D, Dantas-Torres F, Breitschwerdt EB (2009) Managing canine vector-borne diseases of zoonotic concern: part two. *Trends Parasitol* 25(5):228-235.
29. Otranto D, Dantas-Torres F, Breitschwerdt EB (2009) Managing canine vector-borne diseases of zoonotic concern: part one. *Trends Parasitol* 25(4):157-163.
30. Pantchev N, Schaper R, Limousin S, Norden N, Weise M, Lorentzen L (2009) Occurrence of *Dirofilaria immitis* and tick-borne infections caused by *Anaplasma phagocytophilum*, *Borrelia burgdorferi sensu lato* and *Ehrlichia canis* in domestic dogs in France: results of a countrywide serologic survey. *Parasitol Res* 105 Suppl 1:S101-114.
31. Santos M, Ribeiro-Rodrigues R, Lobo R, Talhari S (2010) Antibody reactivity to *Borrelia burgdorferi sensu stricto* antigens in patients from the Brazilian Amazon region with skin diseases not related to Lyme disease. *International Journal of Dermatology* 49:552-556.
32. Statistical Analysis System (SAS) 9.2 (2008) SAS Institute Inc., Cary, NC.
33. Sutherst RW (2004) Global change and human vulnerability to vector-borne diseases. *Clinical Microbiology Reviews* 17:136-173.
34. Swanson SJ, Neitzel D, Reed KD, and Belongia EA (2006) Coinfections acquired from Ixodes ticks. *Clinical Microbiology Reviews* 19:708-727.
35. Vezzani D, Eiras DF, Wisnivesky C (2006) *Dirofilariasis* in Argentina: historical review and first report of *Dirofilaria immitis* in a natural mosquito population. *Veterinary Parasitology* 136(3-4):259-73.
36. Vieira C, Montoya MN, Agudelo S, Velez ID, and Simon F (2000) Human antibody response to a 56-kDa purified excretory/secretory product of *Dirofilaria immitis*. *Tropical Medicine and International Health* 5(12):855-859.
37. Vieira C, Velez ID, Montoya MN, Agudelo S, Alvarez MI, Genchi C, Simon F (1998) *Dirofilaria immitis* in Tikuna Indians and their dogs in the Colombian Amazon. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* 92(1):123-125.
38. World Health Organization Report (2004) Changing history. World Health Organization, (Geneva, Switzerland).