

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

Colegio de Ciencias de la Salud

**Diagnóstico microscópico y serológico de Dirofilariasis en un
mono chichico (*Leontocebus nigricollis graellsii*)**

Análisis de casos

Magaly Carolina Lasso Caicedo

Medicina Veterinaria

Trabajo de titulación presentado como requisito
para la obtención del título de
Médico Veterinario

Quito, 13 de mayo de 2016

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

COLEGIO CIENCIAS DE LA SALUD

**HOJA DE CALIFICACIÓN
DE TRABAJO DE TITULACIÓN**

**Diagnóstico microscópico y serológico de Dirofilariasis en un mono chichico
(*Leontocebus nigricollis graellsii*)**

Magaly Carolina Lasso Caicedo

Calificación:

Nombre del profesor, Título académico

Juan Sebastián Galecio,
Médico Veterinario
Magister en Ciencias

Firma del profesor

Quito, 13 de mayo de 2016

Derechos de Autor

Por medio del presente documento certifico que he leído todas las Políticas y Manuales de la Universidad San Francisco de Quito USFQ, incluyendo la Política de Propiedad Intelectual USFQ, y estoy de acuerdo con su contenido, por lo que los derechos de propiedad intelectual del presente trabajo quedan sujetos a lo dispuesto en esas Políticas.

Asimismo, autorizo a la USFQ para que realice la digitalización y publicación de este trabajo en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Firma del estudiante: _____

Nombres y apellidos: Magaly Carolina Lasso Caicedo

Código: 00106264

Cédula de Identidad: 1721498424

Lugar y fecha: Quito, mayo de 2016

RESUMEN

La dirofilariasis es transmitida por mosquitos zoo-antropofílicos y representa una enfermedad de gran importancia en Salud Pública ya que en el ser humano puede presentarse enfermedad nodular pulmonar, lesiones en la piel y ojos. En animales portadores como caninos, felinos y mustélidos puede desarrollarse la enfermedad con signos clínicos tales como: distrés respiratorio, nódulos subcutáneos, ascitis y hemoptisis, mientras que en primates la enfermedad es asintomática. En el Ecuador, existen escasos estudios y reportes sobre filariasis y se limitan a casos exclusivamente en caninos. El objetivo del presente trabajo es describir el diagnóstico de dirofilariasis realizado a un mono chichico (*Leontocebus nigricollis graellsii*) hembra, mediante análisis microscópico y serológico. El mono chichico fue llevado a las instalaciones del “Fondo TUERI” del Hospital Docente de Especialidades Veterinarias de la Universidad San Francisco de Quito por parte de la Unidad Policial del Medio Ambiente. El primate se encontraba en cautiverio en el sur de Quito y se desconoce su procedencia silvestre. Se obtuvo una muestra de sangre del primate en donde se observó la presencia de microfilarias en el frotis sanguíneo. Posteriormente, se realizó una prueba de ELISA utilizando el kit IDEXX SNAP 4DX, obteniéndose un resultado positivo para el antígeno de *Dirofilaria immitis*. Finalmente se realizó la necropsia del animal y se encontró varios parásitos adultos a nivel de cavidad abdominal. El presente estudio es el primer reporte de dirofilariasis localizada a nivel de cavidad abdominal en un mono chichico en el Ecuador. Por medio de este reporte se confirma la presencia de *Dirofilaria* en ésta especie en el Ecuador. Siendo una enfermedad zoonótica se debe prestar mayor atención y realizar más investigaciones en este campo para generar estrategias de prevención a futuro. Dado que esta enfermedad puede llegar a ser asintomática en primates es necesario realizar exámenes sanguíneos e inmunológicos que faciliten su diagnóstico.

Palabras clave: *Dirofilaria immitis*, dirofilariasis, mono chichico (*Leontocebus nigricollis graellsii*), Snap 4Dx, microfilarias.

ABSTRACT

Heartworm disease is transmitted by zoo-anthropophylic mosquitoes and represents a disease of great importance to Public Health, since humans develop pulmonary nodular disease, or severe skin and ocular lesions. In carrier animals such as dogs, cats and mustelids the disease may develop clinical signs such as respiratory distress, subcutaneous nodules, ascites and hemoptysis, while in primates the disease is asymptomatic. In Ecuador, there are few studies and reports on filariasis and those are limited to canines. The aim of this study is to describe the diagnosis of filariasis conducted on a female chichico (*Leontocebus nigricollis graellsii*) monkey by microscopic and serological analysis. The chichico monkey was taken to the premises of the "TUERI Fund" located at the Hospital Docente de Especialidades Veterinarias de la Universidad San Francisco de Quito by the Environmental Police Unit. The primate was in captivity in southern Quito and its wild origin is unknown. A blood sample smear demonstrated the presence of microfilaria in the sample. Subsequently, an ELISA test was performed using the IDEXX kit SNAP 4DX, demonstrating a positive result for *Dirofilaria immitis* antigen. Finally, an animal necropsy was performed and some adult parasites were found in the abdominal cavity. This study is the first report of dirofilariasis located at the abdominal cavity in a chichico monkey in Ecuador. Through this report, the presence of heartworm disease is confirmed in Ecuador and because it has a zoonotic implication more attention should be paid and more research in this field should be conducted to generate future prevention strategies. Since this disease can be asymptomatic in primates it is necessary to perform immunological and blood tests that facilitate the diagnosis.

Key words: *Dirofilaria immitis*, heartworm disease, chichico (*Leontocebus nigricollis graellsii*) monkey, Snap 4Dx, microfilariae.

TABLA DE CONTENIDO

INTRODUCCIÓN	8
BASE CONCEPTUAL	10
ANÁLISIS CLÍNICO.....	13
Conclusiones:.....	17
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	18

ÍNDICE DE FIGURAS

- FIGURA 1:** Vista microscópica de una muestra sanguínea en donde se observa la presencia de Microfilaremia en un primate chichico (*Leontocebus nigricollis graellsii*).....**11**
- FIGURA 2:** Figura 2: Presencia y ubicación de las filarias en cavidad peritoneal de un mono chichico (*Leontocebus nigricollis graellsii*).....**12**

INTRODUCCIÓN

La Filariasis es una enfermedad distribuida en todo el mundo y generada por nemátodos (Dantas-Torres y Otranto, 2013), que se transmiten por mosquitos zoonantropofílicos pertenecientes a diferentes géneros tales como: *Aedes*, *Anopheles*, *Culex*, *Ochlerotatus* y *Psorophora* (Bowman y Atkins, 2009). Esta enfermedad tiene gran importancia en Salud Pública, debido a que en el ser humano puede ser un hospedador definitivo del parásito, el mismo que puede provocar enfermedad nodular pulmonar o lesiones en piel (Simón *et al*, 2012). Algunos animales portadores pueden desarrollar la enfermedad clínica que puede variar desde nódulos subcutáneos localizados a estados sistémicos potencialmente mortales (Dantas-Torres y Otranto, 2013).

En cuanto a la enfermedad en Primates, de acuerdo a un estudio realizado en varios zoológicos de Colombia, la prevalencia de la presencia de microfilarias en sangre es mayor en primates pertenecientes a la familia *Callitrichidae* con un porcentaje de 6,4% (De La Hortúa y Moreno, 2007). Los animales infectados con estos parásitos no presentan signos clínicos (Gamble *et al*, 1998), a pesar de tener altos recuentos de microfilarias en sangre (De La Hortúa y Moreno, 2007). En Ecuador continental existen trabajos realizados sobre casos positivos en caninos de *Dirofilaria immitis* en Galápagos (Levy *et al*, 2008) y en Quito (Segovia, 2015). Sin embargo no existen reportes de esta enfermedad en primates en Ecuador.

Los principales métodos de diagnóstico de Filariasis son: observación de microfilarias, diagnóstico serológico y Reacción de Cadena de la Polimerasa (PCR). La observación directa de las microfilarias en muestra de sangre periférica proporciona características morfológicas del parásito esto se puede realizar usando técnicas de concentración de microfilarias como

la técnica de Knott (De La Hortúa y Moreno, 2007) o el test del filtro (Genchi *et al*, 2007). La detección de filarias mediante técnicas serológicas son una buena herramienta, sin embargo existe una falta de especificidad por lo que resulta complicado determinar el género y/o la especie del parásito (Orihel y Eberhard, 1998). Por último, PCR es una técnica con mayor sensibilidad que permite discriminar exactamente el género o especie del parásito (Degese *et al*, 2012).

El objetivo del presente trabajo es describir el diagnóstico de Filariasis realizado a un espécimen de mono chichico (*Leontocebus nigricollis graellsii*) hembra, mediante análisis microscópico y serológico.

BASE CONCEPTUAL

En las instalaciones del “Fondo TUERI” ubicadas en el Hospital Docente de Especialidades Veterinarias de la Universidad San Francisco se recibió a un mono chichico (*Leontocebus nigricollis graellsii*) traído por la Unidad de Policía del Medio Ambiente (UPMA). El mono chichico fue entregado de forma voluntaria, sin proporcionar información alguna, por los moradores del Barrio San Martín de Porres ubicado en el Sur de la ciudad de Quito, en una Unidad de Policía Comunitaria (UPC), debido a esto se desconoce el lugar de procedencia del primate y las condiciones en las que se mantenía al animal en cautiverio.

En el Hospital Veterinario se llevó a cabo el protocolo de examinación para establecer el estado de salud del primate, donde se le realizó el examen clínico bajo anestesia inhalatoria (sevofluorano), debido a que siendo un animal silvestre no permitía su manipulación. Se trataba de un mono chichico hembra adulto, el examen clínico no reveló ningún hallazgo macroscópico significativo como lesiones en piel o presencia de parásitos externos. Sin embargo, se observó opacidad en su pelo y zonas alopécicas en su cola, su temperatura oscilaba entre 38,3°C y 38,5° C, además se encontró al animal con una pobre condición corporal ya que su peso no superaba los 180g.

Posteriormente, se procedió a tomar muestras de sangre para realizar exámenes complementarios de laboratorio. En el frotis sanguíneo se observó la presencia parásitos en formas larvarias, cuya estructura coincide con larvas de filarias. Además, para realizar un examen microscópico más exhaustivo se procedió a identificar las larvas mediante el uso de un test de filtración de microfilarias (Difil-Test). En la Figura 1 se observa una microfilaria vista al microscopio con un aumento de 10X en un frotis sanguíneo con tinción Diff Quick.

En el examen coproparasitario que se realizó en el laboratorio también se encontró huevos que corresponden a *Ancylostoma* spp.

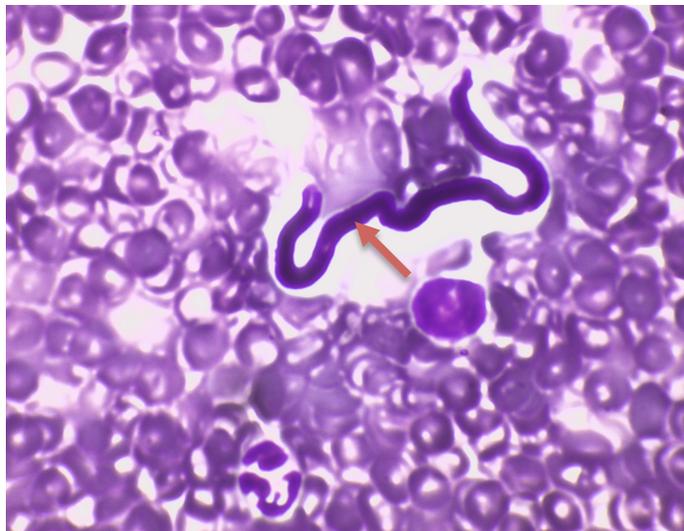


Figura 1: Vista microscópica de una muestra sanguínea en donde se observa la presencia de Microfilaremia en un primate chichico (*Leontocebus nigricollis graellsii*).

() flecha roja muestra una microfilaria vista al microscopio con el lente 10X, en un frotis sanguíneo teñido con el método "Diff Quick".

Por otro lado, con la muestra de sangre se procedió a realizar una prueba serológica de ELISA utilizando el Kit IDEX SNAP 4DX, la misma que sirve para realizar el diagnóstico de distintas enfermedades en caninos, tales como: Dirofilariasis, Anaplasmosis, Ehrlichiosis y Borreliosis. El test de ELISA arrojó un resultado positivo para el antígeno de *Dirofilaria immitis*

Para terminar el proceso de diagnóstico se realizó una ultrasonografía a nivel de tórax en donde se evaluó los espacios ventriculares, válvulas cardíacas y arteria pulmonar, pero no se encontró la presencia de parásitos adultos a este nivel.

Tras el diagnóstico de parasitosis se procedió a administrar fenbendazol a una dosis de 50mg/kg una vez al día por tres días. Debido a la alta carga parasitaria y después de haber

permanecido durante 28 días en hospitalización, el primate murió, por lo que se procedió a realizar la necropsia, en donde se encontraron varias filarias adultas a nivel de cavidad abdominal. La Figura 2 muestra la ubicación de las filarias en la cavidad abdominal, estas se encontraban en el peritoneo sobre las vísceras situadas en la zona epigástrica.

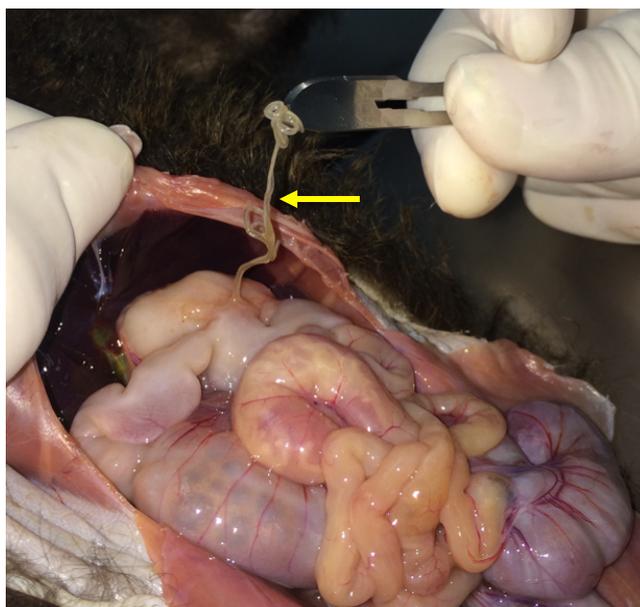


Figura 2: Presencia y ubicación de las filarias en cavidad peritoneal de un mono chichico (*Leontocebus nigricollis graellsii*).

() flecha amarilla muestra una filaria ubicada a nivel de peritoneo, en la zona epigástrica de la cavidad abdominal.

ANÁLISIS CLÍNICO

En el presente estudio se realizó el diagnóstico de *Dirofilariasis* en un mono chichico (*Leontocebus nigricollis graellsii*) mediante dos métodos: microscópico y serológico.

En el examen microscópico de la muestra de sangre, se observó fácilmente la presencia de larvas de filarias, debido a su gran carga parasitaria. El test de concentración de filarias mediante filtro es comúnmente usado en la Medicina Veterinaria por su alta sensibilidad (Genchi *et al*, 2007) y ha resultado ser diagnóstico determinante en estudios cuyos animales han sido administrados medicación preventiva contra *Dirofilaria immitis* (Roth *et al*, 1993), en el presente estudio, al realizar la concentración de microfilarias mediante el test de filtro, aunque se observó con precisión la morfología de las larvas, no se logró determinar la especie de microfilaria, coincidiendo con lo mencionado por Simón *et al* (2012), quien indica que, a pesar que las microfilarias pueden ser identificadas mediante la evaluación de la morfología de las regiones cefálica y caudal, es complicado diferenciar sus características morfológicas lo que dificulta llegar a determinar su especie; además, con este método de concentración se requiere nuevos estándares de medidas para la identificación debido a que la solución que se añade a la sangre reduce el tamaño de las microfilarias (Genchi *et al*, 2007).

En cuanto al examen serológico, el test de ELISA que se utilizó para el diagnóstico es un kit comercial de Laboratorios IDEXX llamado SNAP 4Dx, el mismo que detecta anticuerpos contra *Anaplasma phagocytophilum*, *Anaplasma platys*, *Borrelia burgdorferi*, *Ehrlichia canis* y *Ehrlichia ewingii*. Adicionalmente, la prueba detecta antígenos del tracto reproductivo de *Dirofilaria immitis* hembra (Genchi *et al*, 2007), por lo que es importante mencionar que la

prueba detecta únicamente la presencia de parásitos hembras y en caso que la infestación sea por parásitos machos, al realizar el test pueden existir falsos negativos (Guilarte *et al*, 2011).

El test de ELISA utilizado en el presente estudio se ha empleado en diferentes especies de hospedadores, sean estos: caninos, felinos, primates y equinos (Chandrashekar *et al*, 2008; Gamble *et al*, 1998) para diagnosticar filariasis y otras enfermedades que detecta el kit. En cuando a filariasis específicamente, el Kit Snap 4Dx detecta antígenos del tracto reproductivo del parásito hembra por lo tanto es aún más confiable utilizar el test como herramienta de diagnóstico de *Dirofilaria immitis* en primates y en otras especies (Gamble *et al*, 1998).

En Ecuador no existen reportes de infecciones parasitarias por filarias en primates, ya que generalmente los animales enfermos por infestación de filarias son asintomáticos y el diagnóstico se realiza por hallazgo accidental de microfilarias en sangre (De La Hortúa y Moreno, 2007). Sin embargo, en cuanto a la enfermedad en sí, existe un estudio realizado en Guayaquil y Manta, en el que se buscó la presencia de *Dirofilaria immitis* en caninos, pero no existieron resultados positivos (McCown *et al*, 2011). Adicionalmente, se realizó un estudio: una tesis en el valle de Cumbayá – Quito – Ecuador, la misma que indica tres casos de Dirofilariosis en caninos de un total de 148 caninos muestreados. Por lo que el presente estudio refiere al primer reporte en Ecuador de un caso de infección por *Dirofilaria immitis* en un mono chichico (*Leontocebus nigricollis graellsii*) que pertenece al grupo de primates del nuevo mundo.

Es importante mencionar que la Dirofilariasis, al ser una enfermedad zoonótica (Genchi *et al* 2007; Simón *et al*, 2012), debe ser estudiada con mayor énfasis en países como el nuestro donde el riesgo es inminente debido a la presencia de mosquitos transmisores de la enfermedad por ser un área tropical (CVBD, 2013; Cancrini y Gabrielli, 2007; López *et al*, 2012). En varias regiones de Europa, más son los interesados en realizar investigaciones sobre este tema por la severidad de la enfermedad en casos de dirofilarias ocular en humanos y para mantener la correcta vigilancia de esta patología (Simón *et al*, 2012). Adicionalmente en Ecuador continental, los primates son las segunda especie víctima del tráfico ilegal, según un estudio realizado por el Ministerio del Ambiente (2013); por lo que es relevante realizar más estudios enfocados en determinar la prevalencia de *Dirofilaria immitis* en primates e informar a las personas sobre lo negativo de fomentar el tráfico ilegal en las especies silvestres del Ecuador.

Dentro de la familia *Filaridae* existen varios géneros de filarias que afectan a animales y/o a humanos, entre los que se encuentran: *Wuchereria*, *Onchocerca*, *Brugia*, *Loa*, *Mansonella*, *Dirofilaria*, entre otras (Díaz-Méndez *et al*, 2011). De La Hortúa y Moreno (2007), reportan una serie de filarias que pueden infestar a primates no humanos del nuevo mundo, todas estas pertenecen al género *Mansonella*, además, los mismos autores nombran a *Dipetalonema perstans* como patógenos filariformes relacionados con el tipo de primates anteriormente mencionados. Por otro lado, en un estudio, realizado por Gamble *et al* (1998), se presenta el diagnóstico de *Dirofilaria immitis* en un espécimen comúnmente conocido como mono saki (*Pithecia pithecia*) utilizando el mismo test serológico del presente caso clínico (Snap 4Dx). Finalmente, en cuanto a dirofilariasis en primates del viejo

mundo, existe un reporte de *Dirofilaria immitis* en un en un espécimen comúnmente conocido como mono rhesus (*Macaca mulatta*) (Baskin y Eberhard, 1982).

En humanos, caninos y felinos, *Dirofilaria immitis* generalmente se ubica a nivel cardiaco, arterial y pulmonar, lo que provoca signos clínicos de enfermedad vascular y respiratoria en todos los casos (Grandi *et al*, 2007). A diferencia de lo mencionado anteriormente, en nuestro estudio, a la necropsia se observó que los parásitos se encontraron en cavidad abdominal. Existen casos en los que *Dirofilaria immitis* puede encontrarse en el cerebro, hígado, ojos y cavidad abdominal en caninos. Para el caso de humanos se ha encontrado la presencia del parásito en en tejido adiposo mesentérico, hepático, ocular y craneal, arterias testiculares y tejidos conjuntivales (Simón *et al*, 2012).

En primates, de los casos reportados por Baskin y Eberhard (1982) y por Gamble *et al* (1998) sobre *Dirofilaria immitis*, los parásitos se han encontrado ubicados a nivel cardiaco; en el primer estudio, la ubicación de los parásitos se diagnosticaron mediante ecocardiografía y en el segundo, los parásitos adultos fueron encontrados durante la necropsia. En el presente caso clínico del mono chichico no se encontraron parásitos adultos en el corazón pre y post-mortem, ya que en la ecocardiografía realizada ante-mortem no se reveló presencia de formas adultas a nivel cardiaco y durante la necropsia realizada se determinó la presencia de *Dirofilaria immitis* en cavidad abdominal. Lo mencionado anteriormente permitiría asegurar que se descarta la posibilidad de migración de los parásitos hacia abdomen tras la muerte del animal, además que no se encontró ningún tipo de lesión a nivel cardiaco. Otro órgano blanco de ubicación de los parásitos son los pulmones, ya que pueden formar nódulos a este nivel (Simón *et al*, 2012), en el presente

caso clínico durante la necropsia no se encontraron nódulos y ningún tipo de lesión provocado por los parásitos en pulmones.

La ubicación de los parásitos a nivel de cavidad abdominal en el mono chichico (*Leontocebus nigricollis graellsii*) podría representar un caso de ubicación ectópica de los parásitos o a su vez podría decirse que en esta especie de primate, en particular, la *Dirofilaria immitis* se ubica en cavidad abdominal. Sin embargo se necesitan más estudios para determinar si efectivamente la *Dirofilaria immitis* se ubica nivel abdominal en monos chichicos (*Leontocebus nigricollis graellsii*) o a nivel cardíaco.

Conclusiones

- El presente estudio es el primer reporte de *Dirofilariasis* en un mono chichico (*Leontocebus nigricollis graellsii*) en el Ecuador.
- La ubicación de *Dirofilaria immitis* en el presente clínico del mono chichico fue ectópica, por lo que este sería el primer caso de distribución del parásito a nivel de cavidad abdominal en un primate.
- Por medio de este reporte se confirma la presencia de *Dirofilaria* en Ecuador y dado que es una enfermedad zoonótica se debe prestar mayor atención y realizar más investigaciones en este campo para llegar a generar estrategias de prevención a futuro.
- Dado que esta enfermedad puede llegar a ser asintomática es necesario realizar exámenes sanguíneos complementarios que faciliten su diagnóstico a las especies animales mas susceptibles.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Baskin, GB., Eberhard, ML. (1982). *Dirofilaria immitis* infection in a rhesus monkey (Macaca mulatta). *Lab Anim Sci.* 32(4), 401 – 402.
- Bowman, D., Atkins, C. (2009). Heartworm Biology, Treatment, and Control. *Vet Clin Small Anim.* 39, 1127 – 1158. doi:10.1016/j.cvsm.2009.06.003
- Cancrini, G., Gabrielli, S. (2007). Vectors of *Dirofilaria* nematodes: biology, behaviour and host/parasite relationships. *First European Dirofilaria Days - 2007, Croatia*. Recuperado de <http://www.ivis.org/proceedings/dirofilaria/2007/cancrini1.pdf>
- Chandrashekar, R., Daniluk, D., Moffitt, S., Lorentzen, L., Williams, J. (2008). Serologic Diagnosis of Equine Borreliosis: Evaluation of an In-Clinic Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (SNAP® 4Dx®). *Intern J Appl Res Vet Med.* 6(3), 145 – 150.
- CVBD Companion Vector-Borne Diseases. (2013). *Ocurrence Maps: Heartworm Disease*. Recuperado de <http://www.cvbd.org/en/occurrence-maps/world-map/>
- Dantas-Torres, F., Otranto, D. (2013). Dirofilariosis in the Americas: a more virulent *Dirofilaria immitis*. *Parasites & Vectors.* 6, 1-9. doi:10.1186/1756-3305-6-288
- De La Hortúa, R. L., Moreno, M. I. (2007). Prevalencia de *Microfilaria* spp en primates de zoológicos colombianos. *Revista de Medicina Veterinaria.* 13, 83 – 94. Recuperado de <http://www.redalyc.org/pdf/951/95101309.pdf>
- Degese, M., Cabrera, M., Krivokapich, S., Irazu, L., Rodríguez, M., Guarnera, E. (2012). Aporte de la técnica de PCR en el diagnóstico de *Mansonella ozzardi* en zonas endémicas de la Argentina. *Revista Argentina de Microbiología.* 44, 97 – 100.
- Díaz-Méndez, M., Norman, F., Monge-Maillo, B., Pérez-Molina, J., López-Vélez, R. (2011). Las filariasis en la práctica clínica. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 25(Supl 5), 27-37.
- Gamble, K. C., Fried, J. J., Rubin, G. J. (1998). Presumptive Dirofilariases in a Pale-Headed Saki Monkey (*Pithecia pithecia*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine.* 29(1), 50 – 54.
- Genchi, C., Venco, L., Genchi, M. (2007). Guideline for the laboratory diagnosis of canine and feline *Dirofilaria* infections. *First European Dirofilaria Days - 2007, Croatia*. Recuperado de <http://www.ivis.org/proceedings/dirofilaria/2007/genchi1.pdf>
- Grandi, G., Zivicnjak, T., Relja, B. (2007). Pathogenesis of *Dirofilaria* spp. Infections. *First European Dirofilaria Days - 2007, Croatia*. Recuperado de <http://www.ivis.org/proceedings/dirofilaria/2007/grandi1.pdf>

- Guilarte, D., Gómez, E., El Hen, F., Guzman, R., Blondell, D., Díaz, M., Santiago, J. (2011). Diagnóstico de *Dirofilaria immitis* en el municipio Sucre, estado Sucre, Venezuela. *Bol. Mal. Salud Amb.* LI(1), 51-58.
- Levy, J. K., Crawford, P. C., Lappin, M. R., Dubovi, E. J., Levy M. G., Alleman, R., Tucker, S. J., Clifford, E. L. (2008). Infectious diseases of dogs and cats on Isabela Island, Galapagos. *J Vet Intern Med.* 22(1), 60 – 65. doi: 10.1111/j.1939-1676.2007.0034.x.
- López, J., Valiente-Echeverría, F., Carrasco, M., Mercado, R., Abarca, K. (2012). Identificación morfológica y molecular de filarias caninas en una comuna semi-rural de la Región Metropolitana, Chile. *Rev Chilena Infectol.* (29)3, 284-289.
- McCown, M., Monterroso, V.H., Grzeszak, B. (2011). Surveillance of zoonotic and infectious diseases in Ecuador: implications for special operations forces medical operations, personnel, and canines. *J Spec Oper Med.* 11(3). 61-65. Recuperado de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22173599>
- Ministerio del Ambiente. (2013). Informe del tráfico ilegal de especies en el Ecuador Continental en el año 2013. Recuperado de <http://suia.ambiente.gob.ec/documents/10179/346527/Informe+de+tr%C3%A1fico+ilegal+2013.pdf/eb6c3141-4f34-4cf5-b138-710575667aab>
- Orihel, T., Eberhard, M. (1998). Zoonotic Filariasis. *Clinical Microbiology Reviews.* 11(2), 366 – 381.
- Roth, L., Brown, L., Brum, S., Foster, L., Nelson, M., Reczeck, D., von Schantz, D. (1993). Comparison of three diagnostic tests for *Dirofilaria immitis* in a low-incidence area. *J Vet Diagn Invest.* 5, 647-648.
- Segovia, W. (2015). Principales medidas de morbilidad de hemoparásitos en perros (*Canis familiaris*) a través del Snap 4Dx de Idexx desde el año 2011 al 2015 en el Hospital Docente Veterinario de la Universidad San Francisco de Quito. (Tesis de pregrado, Universidad Católica de Santiago de Guayaquil). Recuperado de <http://repositorio.ucsg.edu.ec:8080/bitstream/123456789/4497/1/T-UCSG-PRE-TEC-CMV-4.pdf>
- Simón, F., Siles-Lucas, M., Morchón, R., González-Miguel, J., Mellado, I., Carretón, E., Montoya-Alonso, J. (2012). Human and Animal Dirofilariasis: the Emergence of a Zoonotic Mosaic. *Clinical Microbiology Reviews.* 25(3), 507-544.