

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA  
FACULTAD DE VETERINARIA**

**DIROFILARIASIS EN CANINOS:  
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA Y ENSAYO DE LA TÉCNICA DE KNOTT MODIFICADA**

**Por**

**Carolina BULANTI**



**TESIS DE GRADO** presentado como uno de los  
requisitos para obtener el título de Doctor en  
Ciencias Veterinarias  
(Orientación Medicina Veterinaria)

**MONTEVIDEO  
URUGUAY  
2005**

036 TG  
Dirofilariasis  
Bulanti, Carolina



FV/26628

TESIS DE GRADO aprobado por:

Presidente de Mesa:

\_\_\_\_\_  
Nombre completo y firma

Segundo Miembro (Tutor):

\_\_\_\_\_  
Nombre completo y firma

Tercer Miembro:

\_\_\_\_\_  
Nombre completo y firma

Fecha:

\_\_\_\_\_

Autor:

*Carolina Bulanti* CAROLINA BULANTI  
\_\_\_\_\_  
Nombre completo y firma

## TABLA DE CONTENIDO

	Página
PÁGINA DE APROBACIÓN .....	II
AGRADECIMIENTOS .....	III
LISTA DE CUADROS Y GRÁFICOS.....	IV
1. <u>RESUMEN</u> .....	1
2. <u>SUMMARY</u> .....	2
3. <u>INTRODUCCIÓN</u> .....	3
4. <u>REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</u> .....	5
4.1 <u>GENERALIDADES</u> .....	5
4.2 <u>EPIDEMIOLOGÍA</u> .....	6
4.2.1 <u>Agente</u> .....	6
4.2.1.1 <u>Distribución geográfica</u> .....	7
4.2.1.2 <u>Ciclo de vida</u> .....	7
4.2.2 <u>Vector</u> .....	8
4.2.3 <u>Huésped</u> .....	8
4.3 <u>SINTOMATOLOGÍA</u> .....	9
4.4 <u>FISIOPATOLOGÍA</u> .....	9
4.5 <u>GRADOS DE LA ENFERMEDAD</u> .....	10
4.6 <u>DIAGNÓSTICO</u> .....	10
4.6.1 <u>Exámen parasitológico: detección de microfilarias</u> .....	10
4.6.2 <u>Pruebas para antígeno de gusano del corazón</u> .....	12
4.6.2.1 <u>Interpretación de la prueba de antígeno</u> .....	12
4.6.2.2 <u>Infecciones ocultas que se detectan mediante pruebas de antígeno</u> .....	13
4.6.3 <u>Pruebas enzimáticas para anticuerpos de gusano del corazón</u> .....	13
4.6.4 <u>Radiología</u> .....	13
4.6.5 <u>Ecocardiografía</u> .....	14
4.6.6 <u>Electrocardiograma</u> .....	14
4.6.7 <u>Hemograma</u> .....	14
4.6.8 <u>Análisis de laboratorio</u> .....	14
4.7 <u>EVALUACIÓN PRETRATAMIENTO</u> .....	15
4.8 <u>TERAPIA</u> .....	15
4.8.1 <u>Tratamiento microfilaricida</u> .....	15
4.8.1.1 <u>Ivermectina</u> .....	15
4.8.2 <u>Tratamiento adulticida</u> .....	15
4.8.2.1 <u>Clorhidrato de melarsomina</u> .....	15
4.8.2.2 <u>Complicaciones de la terapia adulticida en la enfermedad pulmonar tromboembólica</u> .....	17

4.8.2 <u>Tratamiento de la enfermedad por gusanos cardíacos complicada</u> .....	17
4.8.3.1 <u>Complicaciones pulmonares</u> .....	17
4.8.3.2 <u>Insuficiencia cardíaca congestiva derecha</u> .....	18
4.8.3.3 <u>Síndrome de la vena cava</u> .....	18
4.9 <u>PREVENCIÓN</u> .....	18
4.9.1 <u>Quimioprofilaxis</u> .....	18
5. <u>MATERIALES Y MÉTODOS</u> .....	20
5.1 <u>ANÁLISIS ESTADÍSTICO</u> .....	20
6. <u>RESULTADOS</u> .....	21
7. <u>DISCUSIÓN</u> .....	24
8. <u>CONCLUSIONES</u> .....	25
9. <u>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</u> .....	26

## **LISTA DE CUADROS Y FIGURAS**

- Figura I: Porcentaje de hembras y machos de la muestra analizada ..... 22**
- Figura II: Número de perros analizados agrupados en rango de edades .... 22**
- Figura III: Distribución de perros según el barrio al cual pertenecen ..... 23**

## **AGRADECIMIENTOS**

- A mi familia por su apoyo constante durante toda la carrera, en las buenas y en las malas. Arturo que se banco mis momentos de "crisis y malaonda". A mi hermana, por su apoyo y paciencia en la realización del trabajo escrito.
- A las Dras y amigas, Mariana Amoedo, Laura Correa, Daniela Izquierdo por ayudarme a recolectar las muestras de sangre. También a las amigas Stefania Forichi y Analía Michelle porque me apoyaron e incentivaron a terminar.
- Dr. Pedro Martino, tutor del trabajo, por su apoyo, dedicación y paciencia en la realización del trabajo.
- A la doctora Perla Cabrera por el apoyo constante, brindado durante la realización del trabajo escrito.
- Al Dr. Gil por su constante apoyo en los cálculos estadísticos.
- Hospital de pequeños animales, a los docentes y funcionarios, por ayudarme a recolectar muestras de sangre; a la Dra Salas que me brindo los ependorff, al Dr. Hernández por su apoyo en la impresión de unas hojas a último momento.
- Laboratorio de Análisis Clínicos, de la Facultad de Veterinaria, Montevideo. A sus docentes y funcionarios.
- A mis compañeros de trabajo que me dejaron faltar cuando me iba a Montevideo a corregir el trabajo.
- Facultad de Veterinaria. Departamento de Enseñanza-Aprendizaje en el Medio.
- A Leticia Ogando de la Comisión de Tesis de Grado por su buena onda y ayuda en todos los pasos previos a la presentación.

## **1. RESUMEN**

La dirofilariasis afecta considerablemente la salud de los animales además de constituir una zoonosis importante.

El objetivo del presente trabajo es realizar una revisión bibliográfica acerca de la dirofilariasis en caninos y detectar posibles positivos a la enfermedad.

Para ello se lleva a cabo un ensayo de la técnica de Knott modificada en busca de microfilarias en sangre, en perros que concurren al Hospital de Facultad de Veterinaria de Montevideo.

Se toman muestras al azar en 100 animales, sin diferenciación de raza ni sexo, mayores a 6 meses de edad. Se extrae 1 mL de sangre, se coloca en tubo de plástico con anticoagulante, se mezcla con formol al 2% y se centrifuga. El sedimento se tiñe con una cantidad igual de solución de azul de metileno 1:1000, para ser observado posteriormente en un microscopio óptico con aumento 100x.

No se observan muestras positivas. No se puede concluir que Montevideo esté libre de la enfermedad ya que el tamaño de la muestra es muy pequeño.

## **2. SUMMARY**

Dirofilariasis does considerably affect animal health apart from becoming an important zoonosis.

The objective of this report is to carry out a bibliographical review of Dirofilariasis in canines as well as to detect possible positives to the disease itself.

For said reason, a modified Knott technique trial is carried out in search of microfilarias present in blood of dogs that are treated at the Hospital of the School of Veterinary Medicine in Montevideo.

Samples from 100 animals are collected at random, with differentiation neither of race nor of sex and above six months of age. One milliliter (ml) of blood is extracted and placed in a plastic tube with anticoagulant. It is mixed with formol at 2% and centrifuged. The sediment is dyed with the same quantity of a 1:1000 methylene-blue solution in order to be afterwards observed by means of an optical microscope with 100x magnification.

No positive samples are observed. It cannot be concluded that Montevideo is free from this disease since the size of the sample is not representative.



### 3. INTRODUCCIÓN

La *Dirofilariasis* es una enfermedad producida por nematodos del género *Dirofilaria* el cual pertenece a la superfamilia Filarioidea, familia Filaridae (Soulsby, 1988).

Es una parasitosis conocida desde hace mucho tiempo; pero en especial el verme *Dirofilaria immitis* fue identificado por primera vez por la Dra. Leidy en 1856, siendo los animales susceptibles el perro, gato y carnívoros silvestres (Labarthe, 1997).

*Dirofilaria immitis*, usualmente afecta a los perros, y otros mamíferos tales como gatos, zorros, coyotes, lobos, hurones y dingos (Soulsby, 1988; Schrey, 1996). Los humanos, así como también varias otras especies de mamíferos, entre ellos el equino, sirven como huéspedes accidentales en los que el ciclo vital de la *Dirofilaria immitis* no se completa (Leidy, 1856).

Las dos especies de dirofilarias (*D. repens* y *D. immitis*) están presentes en zonas tropicales, subtropicales y en algunos países templados (Leidy, 1856). La *Dirofilaria immitis* se está extendiendo progresivamente desde regiones de clima subtropical a las áreas templadas. En los últimos 20 años, la *Dirofilaria immitis* se ha establecido en las regiones del noreste de Estados Unidos, en parte de Canadá, Italia del norte y en el noreste de Francia (Doby y col., 1986; Slocombe, 1992). *Dirofilaria immitis* es endémica en América, África, Asia, Australia y el sur de Europa (Schrey, 1996). Está presente en los países limítrofes (Brasil y Argentina) en los cuales la prevalencia varía mucho según la región.

La primera comprobación de microfilarias sp. del perro en Uruguay fue realizada por Rodríguez García, investigando la sangre de perros inoculados experimentalmente con *Tripanosoma equinum* (Carballo y col., 1938). En 1938, Carballo y col. reportaron un 8 % de positivos en un total de 50 perros muestreados. Posteriormente, Torquia y Freire describieron el hallazgo de un ejemplar de *Dirofilaria repens* en 1980. En 1982, se hallaron dos hembras y un macho pertenecientes a la especie *D. repens* mediante autopsia por los doctores Ganzo y col. No existen trabajos acerca de la prevalencia de la enfermedad en nuestro país. Posteriormente, en 1983 son testados 60 caninos ingresados al Servicio de Policlínica de la Facultad de Veterinaria, mediante técnica de Knott y sangre fresca, en los cuales se observa una incidencia de 1.6 % (Ganzo y col. 1983b).

Es una enfermedad que usualmente se presenta sólo en perros adultos, ya que el período prepatente es muy largo (más de 6 meses). Los cambios patológicos en el huésped son consecuencia del daño causado por vermes adultos, microfilarias y larvas migratorias juveniles. Los vermes adultos y/o el antígeno del verme producen lesiones endoteliales, tromboembolismo pulmonar, neumonitis, hipertensión pulmonar, cor pulmonale y finalmente congestión hepática, ascitis y glomerulonefritis debida a inmunocomplejos. Cuando la carga de vermes es alta (mayor a 50 vermes), los vermes migran activamente desde las arterias pulmonares hacia el ventrículo derecho, la aurícula derecha y, raramente, a la vena cava. Esto puede producir un síndrome agudo de la vena cava que se caracteriza por hemólisis intravascular, coagulación intravascular diseminada (CID) y shock. En los felinos, los signos clínicos son diferentes y más graves que en caninos incluso cuando la carga de gusanos es muy pequeña (Slocombe, 1992). Los vermes adultos de *Dirofilaria immitis* pueden ser hallados en la

cámara anterior del ojo, la piel o el sistema nervioso central (Schrey y Trautvetter, 1998).

El diagnóstico se basa en los signos clínicos y en la demostración de microfilarias en sangre. Las microfilarias pueden detectarse mediante un simple examen; colocando una gota de sangre sobre un portaobjetos y observándolas directamente moviéndose activamente. El método de elección es mediante una técnica de concentración como es el test de Knott (Soulsby, 1988). En áreas endémicas la técnica de concentración de Knott para buscar microfilarias de *D. immitis* y *D. repens* debería ser llevado a cabo rutinariamente, aparejado con tests serológicos (Tarello, 2002). Los métodos fidedignos para aislamiento de las microfilarias son la prueba de Knott o las técnicas de filtración con microporos (Chalifoux y Hunt, 1971). Una prueba de aislamiento de microfilarias negativa no descarta la infección. Hasta un 20-30% de perros infectados tienen infecciones ocultas (infecciones en las que está presente el verme adulto pero no se puede demostrar que existen microfilarias). Las infecciones ocultas se deben a infecciones todavía no manifiestas, tratamiento microfilaricida, reacciones de hipersensibilidad contra las microfilarias, infecciones por un mismo sexo, vermes adultos estériles o vermes en localizaciones ectópicas (Schrey y Trautvetter, 1998). La concentración de microfilarias de 1 ml de sangre y la lisis de las células rojas aumentan la posibilidad del diagnóstico de microfilaremia, especialmente en sangre con baja concentración de microfilarias. Las características morfológicas clásicas son basadas en la fijación de las microfilarias mediante formalina (Rawlings, 1986). Las microfilarias oblongadas y teñidas de azul son fácilmente visibles y su longitud y grosor deben determinarse para realizar la identificación de las mismas (Coles, 1989). La diferenciación entre *D. immitis* y *D. repens* es basada principalmente en la morfología y tamaño de las microfilarias. *D. immitis* mide 300 micras o más, es recta, con cola también recta y cabeza cónica (Soulsby, 1988). La cola de *D. repens* es más ancha que la de *D. immitis* (Tarello, 2002). Un método rápido y fiable para diferenciar entre las especies de microfilarias es la tinción histoquímica con fosfatasa ácida (Chalifoux y Hunt, 1971).

## OBJETIVOS

Realizar una revisión bibliográfica acerca de la *Dirofilariasis* en caninos.

Llevar a cabo un ensayo de la técnica de Knott en busca de microfilariasis en sangre, en perros que concurren al Hospital de Facultad de Veterinaria de Montevideo y establecer la especie de dirofilaria (*D. repens* o *D. immitis*).

## 4. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 4.1 GENERALIDADES

La Filariosis canina es una enfermedad parasitaria, producida por parásitos filariformes, de los cuales se han descrito 6 especies que afectan a los perros y dentro de las que se encuentra *Dirofilaria immitis*, *Filaroide hirthei*, *Filaroide milksi*, *Filaria osleri*, *Dipetalonema reconditum* y *Dirofilaria repens*. *Dirofilaria immitis* es el agente causal de la Dirofilariosis canina ó también llamada enfermedad del gusano del corazón. (Clearence, 1993).

Se han diagnosticado unos 80 casos de Filariosis pulmonar en humanos, causados por *Dirofilaria immitis*, la mayoría de ellos en el sudeste de los Estados Unidos, 20 casos se han detectado en Australia y 10 casos en el Japón. La mayor parte de los infestados son asintomáticos y la lesión pulmonar se descubre al practicarse un examen radiológico por diferentes motivos o por lobectomía pulmonar realizadas al sospecharse de un tumor maligno. En los casos sintomáticos se observa tos y dolor torácico durante un mes o más y en ocasiones, hemoptisis, fiebre, malestar, escalofríos y mialgias, en el examen radiológico se observa una lesión nodular redonda y circunscrita (forma de moneda) de 1 a 4 cm de diámetro, rara vez se comprueba eosinofilia (Kirk y Bistner, 1994). En solo 2 pacientes se ha encontrado el parásito en el corazón (lado derecho), mientras que en casi todos los demás casos la dirofilaria se aloja en un lóbulo derecho del pulmón. En todos los casos pulmonares se encuentran parásitos muertos y casi en estado de degeneración. Las infestaciones humanas son causadas por un solo parásito y de modo excepcional por dos y la transmisión se realiza por mosquitos infectados y donde el hombre solo se infesta de modo accidental. Después que una persona es inoculada por un mosquito con larvas del tercer estadio, la mayoría de ellas muere en el tejido subcutáneo, sin embargo alguna puede escaparse del tejido subcutáneo, sobre todo en infestaciones repetidas, seguir su desarrollo y migrar hacia los pulmones (Benenson, 1994).

Del gran número de Filarias que existen en la naturaleza, solo 8 especies se han adaptado al hombre y su transmisión es interhumana a través de insectos hematófagos que son sus huéspedes intermediarios. (Pérez y col., 1990). Las otras especies de Filarias son propias de los animales y afectan al hombre de modo ocasional sin constituir un problema de Salud Pública (Benenson, 1994). Las Filarias que afectan al hombre con mayor frecuencia son *Wuchereria bancrofti*, *Brugia malayi*, *Onchocerca volvulus*, *Manzonella perstans* y *Loa loa* (Botero y Restrepo, 1992; Clearence, 1993). Muchos de estos nemátodos tienen como hospederos intermediarios a mosquitos de los géneros *Aedes*, *Anopheles* y *Culex*, al igual que *Dirofilaria immitis*. Esta enfermedad está distribuida por todo el mundo, reportándose una mayor incidencia en el norte de América.

*Dirofilaria repens* es una filaria que reside en el tejido conectivo subcutáneo, y ha sido reportada en 782 casos en humanos de 30 países. En el hombre, huésped poco común, la microfilariasis es rara y el parásito adulto causa edema asociado con prurito, urticaria y lesiones dolorosas. Perros, gatos, zorros y otros carnívoros salvajes son los huéspedes definitivos, y al igual que para *Dirofilaria immitis*, los mosquitos son los huéspedes intermediarios (Pampiglione y col., 1995; Pampiglione y Rivasi, 2000; Pampiglione y col., 2001). Ha sido comunicada por primera vez como responsable de infecciones humanas por Skrjabin y col. en 1930 (Ganzo y col., 1983c). En perros, produce dermatitis prurítica, eritema, pápulas, alopecia focal o multifocal y nódulos subcutáneos en cualquier parte del cuerpo (Leidy 1856). En humanos causa edema o quistes subcutáneos asociados a la migración del parásito adulto. El parásito puede localizarse en el ojo y puede verse moviéndose a través de la conjuntiva ocular o formar un quiste subconjuntival o alojarse en el párpado. Otras localizaciones han sido observadas, incluyendo escroto, cavidad peritoneal, cavidad pulmonar (Hoover y col., 1994).

La infección por gusano del corazón es menos común en felinos que en caninos. La prevalencia en felinos es alrededor del 5 al 20 % de la que se observa en caninos, en un área geográfica determinada.

El diagnóstico se oculta porque: 1) los felinos son con frecuencia amicrofilarémicos; 2) las pruebas serológicas (la valoración de inmunoabsorbancia ligada a enzimas [ELISA] y las pruebas de antígeno y anticuerpo) carecen de sensibilidad o especificidad en felinos; 3) las cargas de gusanos son pequeñas; 4) los sitios aberrantes son más comunes que en perros; y 5) los signos clínicos son por lo general inespecíficos y diferentes de los que se observan en caninos (Atkins y Ryan, 2001).

## 4.2 EPIDEMIOLOGÍA

### 4.2.1 Agente

*Dirofilaria immitis* es un onchocercidae delgado de color blanco, que puede medir más de 30 cm de longitud. Presenta estriaciones transversales y longitudinales en la cutícula, boca pequeña y con labios, cápsula bucal rudimentaria sin faringe y esófago con una porción anterior muscular y post. glandular no muy bien delimitadas. El ano tanto en hembras como machos está en posición subterminal.

Los machos se distinguen de las hembras por su menor tamaño y porque su extremo post. termina en espiral, miden de 120-200 mm de longitud x 0.7-0.9 mm de ancho, presentan aletas caudales pequeñas y papilas que varían en número y localización. Las espículas son desiguales en forma y tamaño; la derecha es corta y roma, y mide 175-229 um de longitud y la izquierda es larga 300-375 um y afilada.

Las hembras miden de 250-310 mm x 1.0-1.3 mm de anchura. La vulva se encuentra detrás del esófago, el extremo caudal es redondeado y no está desarrollado

y no está enrollado en espiral. Son ovovivíparas y eliminan a la circulación larvas (microfilarias) de 218-340  $\mu\text{m}$  x 4.5-7.3  $\mu\text{m}$ , sin vaina, fusiformes con el extremo cefálico más estrecho que el cuerpo y el caudal largo, puntiagudo y recto.

El macho y la hembra adultos se localizan en las arterias pulmonares y corazón derecho (Leidy 1856; Newton, 1968). El período reproductivo del parásito comprende entre 2 a 5 años y el período de vida es de 5 a 7 años (Santhome, 2001).

Los nematodos adultos se encuentran primariamente en las arterias pulmonares en animales con baja carga (< 50 vermes). En las infestaciones con alta carga de vermes (> 50 vermes) pueden encontrarse en el ventrículo derecho, la aurícula derecha y, ocasionalmente, en la vena cava. Los vermes hembra son ovíparas y eliminan microfilarias en la corriente sanguínea, en donde circulan hasta unos 2,5 años o hasta que son captados por culicidas chupadores de sangre cuando estos se alimentan con sangre. Las microfilarias que se han transmitido por vía trasplacentaria o por transfusión sanguínea no se pueden transformar en vermes adultos (Newton, 1968).

#### 4.2.1.1 Distribución geográfica

La *Dirofilaria immitis* se está extendiendo progresivamente desde regiones de clima subtropical a las áreas templadas (Doby y col. 1986). *Dirofilaria immitis* es endémica en América, África, Asia, Australia y el sur de Europa (Schrey, 1996).

#### 4.2.1.2 Ciclo de vida

El ciclo de vida de la dirofilaria, comienza cuando la hembra de un mosquito pica a un perro infectado que tiene en su sangre las formas más pequeñas y jóvenes del parásito llamadas microfilarias. Estas ingresan al mosquito y experimentan un proceso de maduración donde atraviesan diferentes estados larvarios (de larva 1 a 3) (Meneses y col., 2003). Las microfilarias (L1) una vez ingeridas por el vector, migran al intestino y a los túbulos de Malpighi para desarrollar el segundo estado juvenil (L2) (Santhome, 2001). Luego de 2 a 2.5 semanas se desarrolla la larva infectiva (L3) (Nelson y Couto, 2005). Cuando el mosquito ingiere sangre, la larva penetra en el hospedero final por el sitio de la picadura para completar su desarrollo. Nueve a 12 días después se desarrolla el cuarto estadio larvario en los tejidos (L4). Una vez que el parásito alcanza el estadio de larva 3 se transforma en infectante, es decir que tiene capacidad para contagiar a otros animales y, en raras ocasiones, también al hombre. A partir de entonces, si el mosquito pica a otro perro, considerado como hospedador final porque en él se reproduce, le transmite las larvas y el parásito continúa su evolución, que dura varios meses, hasta alcanzar el estadio adulto (Santhome, 2001). Los gusanos jóvenes ingresan en el sistema vascular aproximadamente 100 días después de la infección, con migración preferencial hacia las arterias pulmonares periféricas de los lóbulos pulmonares caudales (Nelson y Couto, 2005). El desarrollo de los parásitos adultos toma un período de tiempo de 174 a 223 días (Santhome, 2001). Un mínimo de 5 meses, y por lo usual más de 6, deben transcurrir antes que la infección se vuelva patente y las hembras grávidas liberen las microfilarias. Por ello, un cachorro menor de 6 meses con microfilarias circulantes, probablemente las haya recibido por ruta

trasplacentaria y no experimentará la enfermedad patente. Para que las larvas L1 maduren hacia el estadio infeccioso dentro del mosquito, la temperatura diaria promedio debe superar los 17,6 C durante casi 1 mes (Nelson y Couto, 2005). En esta etapa la *Dirofilaria* se aloja en el corazón y en las arterias pulmonares. Allí se reproduce y libera a la sangre las microfilarias que dan comienzo a un nuevo ciclo de transmisión. El parásito adulto vive alrededor de cinco años.

La microfilaremia alcanza su nivel más alto a los seis meses y medio después de la infección pudiendo vivir las microfilarias arriba de los tres años en la sangre del perro. El período reproductivo del parásito comprende entre 2 a 5 años y el período de vida es de 5 a 7 años (Santhome, 2001).

#### 4.2.2 Vector

La transmisión de este parásito ocurre indirectamente a través de mosquitos de los géneros *Culex*, *Anopheles* y *Aedes* los cuales constituyen sus hospederos intermediarios y sin los cuales las microfilarias no pueden desarrollarse (Labarthe y col. 1997). No se conoce que otro vector pueda participar en el ciclo de vida de este nemátodo, por lo que la prevalencia de la enfermedad depende directamente de la densidad de mosquitos transmisores, del número de picadas que ellos puedan efectuar y de las condiciones de vida que tengan los animales, ya que los perros que viven en zonas de riesgo tienen mayor probabilidad de contraer la enfermedad (Roger y col. 1994).

En 1938, Carballo y col. investigaron en las pulgas (*Ctenocephalus canis*) pensando en que fueran trasmisoras de las microfilarias, pero fueron negativas.

#### 4.2.3 Huésped

*Dirofilaria immitis*, usualmente afecta a los perros, y otros mamíferos tales como gatos, zorros, coyotes, lobos, hurones y dingos (Soulsby, 1988; Schrey, 1996). Los humanos, así como también varias otras especies de mamíferos, entre ellos el equino, sirven como huéspedes accidentales en los que el ciclo vital de la *Dirofilaria immitis* no se completa (Leidy, 1856).

El perro es el principal reservorio de la infección, pero la mayoría de los caninos salvajes son igualmente susceptibles. Las razas más expuestas como son Pastor Alsaciano, Pointer inglés, Setter, Retrievers y Beagle son infectados con más asiduidad (Rawlings y Calver, 1997). Nelson y Couto (2005) al igual que Rawlings y Calvert que se afectan 2 a 4 veces más los machos que las hembras. La mayoría de los afectados tiene entre 4 y 8 años de edad y las razas grandes y los ejemplares que viven sobre todo en exteriores, tienen mucho mayor riesgo de infección que las razas pequeñas o perros caseros. El largo del pelaje no parece afectar el riesgo de la infección (Nelson y Couto, 2005; Rawlings y Calvert, 1997). En 1938, Carballo y col. notan que los perros positivos son animales en mal estado general, vagabundos, recogidos por la perrera municipal, y de pelo corto.

Los filariosos adquieren cierto grado de inmunidad relativa (premonición) que los hace resistir a las inoculaciones y algunos caninos tienen una verdadera inmunidad natural contra estos parásitos y los mantiene indemnes en regiones afectadas (Kirk y Bistner, 1994).

### 4.3 SINTOMATOLOGÍA

Los signos clínicos son un reflejo del número de parásitos infectantes, la duración de la enfermedad y la respuesta del hospedero.

En general los pacientes son asintomáticos; tos y disnea son las manifestaciones más comunes (Santhome, 2001).

### 4.4 FISIOPATOLOGÍA

La enfermedad por gusanos cardíacos es una etiología importante de hipertensión pulmonar (cor pulmonale) (Nelson y Couto, 2005).

Los cambios patológicos en el sistema del huésped son consecuencia del daño causado por *vermes adultos*, *microfilarias* y *larvas migratorias juveniles*. Los *vermes adultos* y/o el antígeno del verme producen lesiones endoteliales, tromboembolismo pulmonar, neumonitis, hipertensión pulmonar, cor pulmonale y finalmente congestión hepática, ascitis y glomerulonefritis debida a inmunocomplejos. En casos raros, puede haber *vermes* individuales enroscados alrededor de la válvula tricúspide o de las cuerdas tendinosas. Cuando la carga de *vermes* es alta (> 50 *vermes*), los mismos migran activamente desde las arterias pulmonares hacia el ventrículo derecho, la aurícula derecha y, raramente, a la vena cava. Esto puede producir un síndrome agudo de la vena cava que se caracteriza por hemólisis intravascular, coagulación intravascular diseminada (CID) y shock (Noyes, 1978). La proliferación vellosa de la mioíntima en las arterias pulmonares que contienen a los gusanos cardíacos constituye la lesión característica. Las anomalías inducidas por los gusanos comienzan con la tumefacción celular endotelial, ensanchamiento de las uniones intercelulares, incremento de la permeabilidad endotelial y desarrollo del edema periarterial.

El esfacelamiento endotelial redundante en la adherencia de glóbulos blancos y plaquetas activadas. Diversos factores tróficos estimulan la migración y proliferación de las células del músculo liso dentro de las capas media e íntima. La proliferación vellosa de la íntima se presenta hacia las 3 a 4 semanas después de la llegada de los gusanos adultos. Estas proliferaciones, consistentes en músculo liso y colágeno con una cobertura del tipo endotelial, ocasionan el estrechamiento luminal de las arterias pulmonares más pequeñas. El daño endotelial conduce al desarrollo de la trombosis, así como también a la reacción tisular perivascular. El edema periarterial puede tener suficiente magnitud para inducir infiltrados intersticiales y alveolares, reconocibles en las placas radiográficas. En algunos animales se desarrolla la consolidación pulmonar parcial. Los gusanos muertos parecen incitar una respuesta más pronunciada del hospedero, exacerbando la enfermedad pulmonar. La proliferación vellosa (y distribución de los gusanos) es más llamativa en las arterias de los lóbulos caudal y accesorio. El ventrículo derecho se dilata y luego se hipertrofia, a medida que se

requieren presiones sistólicas más elevadas. La hipertensión pulmonar crónica puede ocasionar insuficiencia del miocardio ventricular derecho y signos de insuficiencia congestiva derecha, especialmente junto con la incompetencia tricuspídea secundaria. La congestión hepática crónica secundaria a la enfermedad por gusanos del corazón puede ocasionar daño hepático permanente y cirrosis. Los complejos inmunes circulantes, o posiblemente los antígenos microfilariales, pueden provocar glomerulonefritis. (Nelson y Couto, 2005).

Ocasionalmente se han descrito infecciones ectópicas. Los vermes adultos pueden ser hallados en la cámara anterior del ojo, la piel o el sistema nervioso central (SNC). Durante la migración somática aberrante, las larvas juveniles pueden ser atrapadas en estos sitios y crecer hasta el estado adulto. La mayoría están muertas en el momento de la disección (Noyes, 1978).

Si bien las grandes cargas verminosas pueden asociarse con enfermedad seria, la interacción huésped-parásito parece ser más importante que el número de gusanos en la emergencia de las alteraciones clínicas. Las cargas verminosas reducidas pueden ocasionar lesión pulmonar sustancial y mayor incremento de la resistencia vascular pulmonar, si el volumen minuto es elevado. La actividad física exacerba la condición patológica vascular pulmonar, debido al incremento asociado del flujo sanguíneo local (Nelson y Couto, 2005).

#### 4.5 GRADOS DE LA ENFERMEDAD

Para poder instaurar el tratamiento con dosis única o alternada, los animales afectados con *Dirofilaria* deben ser clasificados. Para ello se tienen en cuenta los síntomas manifestados y los hallazgos de las pruebas complementarias. Las clases establecidas son:

**Grado 1:** enfermedad subclínica, asintomática. Se puede observar leve pérdida de peso y agitación al ejercicio. La radiografía no muestra alteraciones.

**Grado 2:** enfermedad moderada. Hay signos radiográficos, ligero engrosamiento de la arteria pulmonar y/o aumento circunscripto de la densidad perivascular. Anemia, pérdida de estado general, fatiga durante el ejercicio, tos.

**Clase 3:** enfermedad severa. Pronóstico reservado. La radiografía muestra severo aumento de tamaño de las arterias pulmonares y dilatación auricular y ventricular derecha. Fatiga constante, tos persistente, presentan insuficiencia cardiaca. Anemia grave y proteinuria. Estos pacientes deben ser estabilizados antes de instaurar el tratamiento adulticida.

**Clase 4:** síndrome de vena cava. Pronóstico muy grave. Presencia de gran cantidad de vermes que se han desplazado hasta las venas cavas. Debería realizarse tratamiento quirúrgico con remoción de los parásitos (Hoskins, 1996).

#### 4.6 DIAGNÓSTICO

##### 4.6.1 Exámen parasitológico: detección de microfilarias



La primera línea de diagnóstico para la infección se basa en los signos clínicos y el examen parasitológico, el cual consiste en la observación de las microfilarias en sangre periférica, como el test de Knott modificado. Dentro de las limitaciones de esta prueba tenemos la dificultad en cuanto a la diferenciación de las larvas de *Dirofilaria immitis* de las de *Dirofilaria repens*, *Dipetalonema reconditum* y *Dipetalonema dracunculoides* (Schrey y Trautvetter, 1998; Santhome, 2001). Los métodos fidedignos para el aislamiento de las microfilarias y diagnóstico definitivo son la prueba de Knott o las técnicas de filtración con microporos, así como el frotis directo de sangre periférica. (Noyes, 1978; Atkins y Ryan, 2001). Las pruebas de concentración (prueba de Knott o técnica de filtración con microporos), lisan los glóbulos rojos y fijan cualquier microfilaria existente (Nelson y Couto, 2005). Cuando hay gran número de microfilarias, éstas pueden verse en los frotis directos de sangre o en los frotis de la capa leucocitaria del tubo de hematocrito. Sin embargo, no hay correlación entre la densidad de microfilarias y el número de vermes hembra en reproducción (Otto, 1978).

Estas pruebas de detección de microfilarias pueden ser utilizadas para confirmar una enfermedad por gusanos del corazón en algunos casos antígeno-positivos y para establecer si hay necesidad de terapia microfilaricida (Nelson y Couto, 2005).

Las pruebas de microfilaria son muy útiles cuando se inicia o reanuda la quimioprofilaxis con dietilcarbamacina ya que este medicamento puede ser peligroso para perros microfilarémicos (Knight, 2001).

Parecería que no hay una variación estacional o diaria del número de microfilarias; por lo tanto, se puede examinar en busca de microfilarias en cualquier momento (Chalifoux y Hunt, 1971).

Según Atkins y Ryan la extracción de muestras por la tarde o la noche suele aumentar la eficiencia diagnóstica de las pruebas que dependen de microfilarias (Atkins y Ryan, 2001). En un muestreo realizado por Ganzo y col. en el año 1983, comprobaron una marcada periodicidad, con un incremento en horas de la noche de hasta un 50% por sobre los valores mínimos hallados durante el día (Ganzo y col., 1983c).

Las microfilarias son capaces de persistir en la circulación incluso después de la muerte del verme adulto, hasta unos 2,5 años.

Incluso después de la infección perinatal las microfilarias no son halladas hasta que ha pasado un período de 6,5 meses antes de hacerse patente la infección. Por lo tanto, si se aíslan microfilarias en cachorros menores de 7 meses de edad, éstas han sido adquiridas en el útero. Una prueba de aislamiento de microfilarias negativa no descarta la infección. Hasta un 20-30 % de perros infectados tienen infecciones ocultas (infecciones en las que está presente el verme adulto pero no se puede demostrar que existen microfilarias). Las infecciones ocultas se deben a infecciones todavía no manifiestas, tratamiento microfilaricida, reacciones de hipersensibilidad contra las microfilarias, infecciones por un mismo sexo, vermes adultos estériles o vermes en localizaciones ectópicas. La profilaxis de la Dirofilariosis con preparados basados en ivermectina o milbemicina es una causa común de infección oculta en los perros que viven en zonas endémicas. La administración de medicación preventiva de dirofilariosis a un perro infectado producirá una muerte gradual de las microfilarias durante un período de aproximadamente 6 meses. Los vermes adultos no son exterminados. Una vez que se han aislado las microfilarias, es imperativo diferenciarlas a nivel de especie, ya que sólo *Dirofilaria immitis* es muy patógena. La *Dipetalonema reconditum*, la *Dipetalonema dracunculoides* y la *Dipetalonema grac* no son patógenas. La *D. repens*

es sólo levemente patógena. Un método rápido y fiable para diferenciar entre especies de microfilarias es la tinción histoquímica con fosfatasa ácida. Mediante ésta técnica se utiliza metanol para la fijación de las microfilarias y las mismas se diferencian según aspectos morfológicos y posición del poro excretor y poro anal (Schalm, 1965; Chalifoux y Hunt, 1971).

#### 4.6.2 Pruebas para antígeno de gusano del corazón

Desde 1992, la American Heartworm Society recomienda las pruebas de antígeno como la principal modalidad de diagnóstico para infección por gusano del corazón (Hoover y col., 1994; Knight, 2001; Nelson y Couto, 2005). Estos kits para Ag son bastante precisos y proporcionan mayor sensibilidad global que los análisis para microfilarias. Estas pruebas en general son muy específicas y poseen buena sensibilidad. Los resultados positivos son constantes en presencia, como mínimo, de 3 hembras de 7 a 8 meses o más adultas. La mayoría de los kits no detectan infecciones menores de 5 meses de antigüedad ni tampoco gusanos machos (Nelson y Couto, 2005). En los caninos que tienen microfilarias circulantes, por lo general también se detecta antigenemia. Esta situación suele ser una fase pasajera en casos de infección ligera y es alrededor de 6.5 meses después de la infección cuando comienzan a aparecer las microfilarias. La mayor parte de estos caninos se torna antigenémico para el momento en que se programa una nueva prueba. Sin embargo, con frecuencia no existen microfilarias en perros antigenémicos y tal vez en el 20 a 25 % de los casos se pasa por alto el diagnóstico de enfermedad del corazón si se basa por completo en hallazgos parasitológicos. La infección por gusano del corazón en caninos sin microfilaremia se denomina "oculta" (Knight, 2001).

Los endectocidas macrólidos como ivermectina y milbemicina suprimen la producción de microfilarias y son microfilaricidas a dosis profilácticas.

Por último, las infecciones prepatentes son una categoría importante de infección oculta por gusano de corazón porque también suelen ser negativas a antígeno además de amicrofilarémicas (Knight, 2001).

Los tests antigénicos como DiroCHEK (Synbiotics Corporation, San Diego, Calif.) y CITE Semi-quant (Idess Laboratories, Westbrook, Maine) son significativamente mayores en cuanto a sensibilidad. La diferencia en sensibilidad entre las pruebas antigénicas y el test de Knott son mayores cuanto menor es la carga parasitaria (Zens y col, 1991).

Cualquier cachorro que nace durante la estación de transmisión debe tener como edad mínima siete meses antes de realizar pruebas o valoraciones (Knight, 2001).

Perros en tratamiento con ivermectina o milbemicina van a ser amicrofilarémicos por 6 a 9 meses. (Hoover y col, 1994)

##### 4.6.2.1 Interpretación de los resultados de la prueba de antígeno

La seguridad de estas pruebas no se basa en su capacidad para identificar a la mayor parte de los caninos infectados (sensibilidad), sino en su capacidad para evitar diagnósticos erróneos en perros sin infección (especificidad). Este índice bajo de pruebas positivas falsas es críticamente importante porque en muchas comunidades la

prevalencia de infección por gusano del corazón es menor del 5 % y puede ser mucho más baja del 1% en poblaciones clínicas en las que se promueve y practica la profilaxis.

Siempre deben verificarse los resultados positivos de la prueba de antígeno, en especial si sólo es positiva débil. Cuando se encuentran microfilarias de *Dirofilaria immitis* en la sangre se confirma el diagnóstico.

Si el resultado de la prueba antigénica no se corresponde con la preponderancia de la prueba clínica, debe considerarse sospechoso el diagnóstico (Knight, 2001).

#### 4.6.2.2 Infecciones ocultas que se detectan mediante pruebas de antígeno

Ninguno de los equipos comerciales para prueba de antígeno es capaz de detectar infecciones que se constituyan sólo por gusanos machos. No obstante, todos tienen una sensibilidad alta para infecciones que incluyen gusanos hembra. Las infecciones prepatentes producen a menudo una cantidad insuficiente de antígeno hasta unos 5.5 a 6 meses después de la infección. Empero, cabe anticipar ciertos resultados negativos falsos de las pruebas hasta que los gusanos hembra alcanzan la madurez alrededor de siete meses después de la infección (Knight, 2001).

#### 4.6.3 Pruebas enzimáticas para anticuerpo de gusano del corazón

La prueba serológica se desarrolló en el inicio para identificar caninos negativos a microfilarias que presentaran hipersensibilidad de mediación inmunitaria a las mismas (Knight, 2001).

Las pruebas de Ac proporcionan mayor sensibilidad que las de Ag, porque las larvas de ambos sexos pueden provocar respuesta inmune en el huésped. La especificidad de las pruebas de Ac para la dirofilariasis es de cierta preocupación porque los Ac séricos contra los vermes inmaduros y adultos son detectados después de los 60 días después de la infección. La concentración de Ac no parece correlacionarse con la cantidad de gusanos presentes, ni con la magnitud de la enfermedad clínica o signos radiológicos. Se desconoce cuánto tiempo se mantiene el Ac circulante luego de eliminarse la infección. Las pruebas de Ac negativas falsas también se presentan con bastante frecuencia (un 3 % a 14 % de los casos), por lo usual en asociación con un solo gusano. Por lo tanto, una prueba de Ac negativa sugiere una de las siguientes posibilidades: 1) ausencia de dirofilariasis, 2) infección no mayor a 60 días o 3) la concentración de IgG contra el Ag utilizado en la prueba es demasiado reducida para ser detectada (Nelson y Couto, 2005).

Actualmente contamos en el mercado con la prueba enzimática de ELISA la cual es específica para diagnosticar la enfermedad y no presenta reacción cruzada con otros parásitos lo cual nos brinda un diagnóstico rápido y certero de la enfermedad (Santhome, 2001).

#### 4.6.4 Radiología

Los signos radiográficos típicos de la enfermedad incluyen agrandamiento del ventrículo derecho, dilatación de la arteria pulmonar principal en el borde craneal

izquierdo de la silueta cardiaca ventrodorsal, dilatación de las arterias lobares y obstrucción de las arterias pulmonares (Santhome, 2001).

Las arterias de los lóbulos caudales, las cuales suelen afectarse con mayor intensidad, se evalúan mejor en las incidencias dorsoventrales; bajo condiciones normales el ancho de estos vasos no es mayor que el de la novena costilla (en la intersección costilla-vasos). La dilatación de las arterias lobares (sin la concurrente distensión venosa) es fuertemente sugestiva de enfermedad por gusanos cardíacos. Asimismo, es habitual la observación de infiltrados intersticiales o alveolares en manchas sugestivos de infartación, edema, neumonía o fibrosis. La insuficiencia cardíaca derecha secundaria se puede expresar con efusiones pleurales o pericárdicas, o ascitis (Nelson y Couto, 2005).

#### 4.6.5 Ecocardiografía

Es posible observar los gusanos en la arteria pulmonar principal y los extremos proximales de sus ramas interlobares mediante ecocardiografía bidimensional. Es muy poco probable la utilidad de dicho procedimiento en caninos con una infección ligera (Atkins y Ryan, 2001).

Las alteraciones ecocardiográficas en los cuadros avanzados de la verminosis cardíaca comprenden dilatación atrial y ventricular derecha, hipertrofia ventricular derecha, movimiento septal paradójico, corazón izquierdo pequeño y dilatación de la arteria pulmonar (Nelson y Couto, 2005).

#### 4.6.6 Electrocardiograma

Por lo usual es normal, pero la enfermedad avanzada puede inducir desvío del eje a la derecha o arritmia (por el agrandamiento ventricular derecho) (Nelson y Couto, 2005).

#### 4.6.7 Hemograma

La eosinofilia, basofilia y monocitosis son alteraciones irregulares en el hemograma completo; menos del 50 % de los casos presentan eosinofilia. La anemia regenerativa leve se reconoce en menos del 30 % de los pacientes y se la considera de origen hemolítico. La trombocitopenia puede ser secundaria al consumo plaquetario en el sistema arterial pulmonar, especialmente después del tratamiento adulticida; la CID también puede aparecer en pacientes con enfermedad avanzada (Nelson y Couto, 2005).

#### 4.6.8 Análisis de laboratorio

Puede haber incremento leve a moderado de la actividad enzimática hepática y en ocasiones azotemia. La proteinuria se presenta en el 20 a 30 % de los perros afectados, en especial en aquellos con enfermedad avanzada. La hipoalbuminemia puede desarrollarse en los pacientes con enfermedad pronunciada (Nelson y Couto, 2005).

## 4.7 EVALUACIÓN PRETRATAMIENTO

Las radiografías del tórax brindan la mejor valoración global del estado arterial y parenquimatoso del pulmón y son de provecho para estimar el pronóstico. El riesgo de tromboembolismo pulmonar postratamiento adulticida se incrementa en los pacientes con signos clínicos y radiológicos preexistentes de enfermedad vascular pulmonar intensa, sobre todo en aquellos con insuficiencia cardíaca derecha o con elevadas cargas verminosas. (Nelson y Couto, 2005).

## 4.8 TERAPIA

### 4.8.1 Tratamiento microfilaricida

#### 4.8.1.1 Ivermectina

La terapia de la filariosis debe ser, en cualquier caso, monitoreada de cerca por médicos veterinarios con ayuda de herramientas diagnósticas y de laboratorio, debido a las reacciones adversas que pueden ocurrir en caso de muerte masiva de los parásitos y su efecto negativo sobre el aparato circulatorio. Normalmente una sola dosis de Ivermectina (500 microgramos por kilogramo de peso vivo), es suficiente para eliminar los parásitos del organismo (Hoskins, 1996). El tratamiento para las microfilarias por lo general se administra 3 a 4 semanas después de la terapia adulticida (Nelson y Couto, 2005).

El monitoreo debe enfocarse en la detección de signos como hipersalivación, mucosas pálidas, vómito, depresión, midriasis, pulso rápido y respiración acelerada, ataxia y coma. Normalmente estos efectos son provocados por la muerte súbita de las microfilarias y no por efecto de la Ivermectina (Hoskins, 1996).

Sin embargo los perros con elevadas concentraciones de dirofilarias circulantes, en ocasiones experimentan colapso circulatorio que responde a la corticoterapia (por ej. Dexametasona 1 mg/kg, EV) (Nelson y Couto, 2005).

Una semana después del tratamiento se debe realizar un nuevo examen de laboratorio para comprobar el descenso de la carga parasitaria. Si este recuento persiste, se debe repetir el tratamiento con Ivermectina en forma similar al anterior (Hoskins, 1996).

### 4.8.2 Tratamiento adulticida

El tratamiento de parásitos adultos se realiza luego de haber establecido un diagnóstico firme y seguro de la enfermedad (Santhome, 2001).

El éxito del tratamiento radica en la eliminación en primer lugar de los parásitos adultos (clorhidrato de melarsomina) y luego de 4 a 6 semanas se realiza el tratamiento para las microfilarias con drogas de baja toxicidad (ivermectina) y evitar las complicaciones ocasionadas por la muerte de los parásitos (Nelson y Couto, 2005).

#### 4.8.2.1 Clorhidrato de melarsomina

Los compuestos arsenicales orgánicos melarsomina clorhidrato y tiacetarsamida son los únicos adulticidas eficaces (Nelson y Couto, 2005).

El clorhidrato de melarsomina se aprobó en septiembre de 1995 y sustituyó a la tiacetarsamida para destruir gusanos del corazón adultos. Las ventajas de la melarsomina son toxicidad hepática y renal mínimas, mayor eficacia para destruir gusanos del corazón inmaduros y adultos, y la opción de una dosificación alternativa que disminuye la tromboembolia que provoca el medicamento en dos períodos en lugar de concentrarse después de una serie aislada de tratamientos. La aceptación de la melarsomina es uniforme porque su desempeño en el tratamiento de la enfermedad por gusano del corazón es esencialmente el mismo que la tiacetarsamida.

El nombre comercial del clorhidrato de melarsomina es Immiticide, un producto que desarrolló Rhone-Merieux. La melarsomina es una tioarsenita trivalente. La dosis que se recomienda es de 2,5 mg/kg por vía intramuscular, que se administra 2 veces con 24 horas de diferencia (Rawlings y McCall, 2001).

Es efectiva contra los gusanos cardíacos inmaduros y maduros; los machos se destruyen con mayor facilidad (Nelson y Couto, 2005).

Es esencial valorar de manera muy meticulosa a los pacientes antes del tratamiento con la melarsomina, porque la muerte de los parásitos produce tromboembolia y esta aumenta la afección pulmonar (Rawlings y McCall, 2001).

Se debe implementar reposo estricto durante 4 a 6 semanas después de la terapia adulticida para reducir las secuelas del efecto vermífida y tromboembolismo pulmonar (Nelson y Couto, 2005).

Antes de cualquier tratamiento para gusano del corazón, el clínico debe realizar un interrogatorio cuidadoso y un examen físico completo, y valorar una prueba de concentración microfilarial, una prueba para antígeno de corazón, radiografías de tórax, un análisis de orina, y una cuenta sanguínea completa. Se desarrolló un sistema de clasificación para ajustar el tratamiento con melarsomina. Los caninos clase 1 son asintomáticos o tienen signos clínicos leves; los de clase 2 presentan signos moderados que suelen incluir tos, prueba radiológica de afección pulmonar, anemia leve o proteinuria ligera. Los pacientes clase 3 tienen disfunción pulmonar o cardíaca grave, es decir, disnea o ascitis. Los caninos de clase 4 tienen síndrome caval y deben operarse para eliminar los gusanos del corazón. Los pacientes clases 1 y 2 se tratan con las inyecciones intramusculares de 2.5 mg/kg en días consecutivos, en tanto que los caninos de la clase 3 sólo reciben una inyección inicial. Uno a dos meses después de la inyección inicial única de melarsomina, estos últimos pacientes reciben las 2 inyecciones estándar que es un método de régimen alterno. Es necesario limitar el ejercicio y esfuerzos durante las cuatro semanas posteriores a cada tratamiento con melarsomina. Los caninos enfermos pueden tratarse en forma sintomática antes o después de proporcionar la melarsomina. Son útiles cursos cortos de alrededor de una semana, con prednisona en dosis antiinflamatorias (0.5 mg/kg una o dos veces al día) para controlar las complicaciones pulmonares de la enfermedad por gusano del corazón (por ejemplo neumonitis) antes del tratamiento con melarsomina o durante el mismo. Pueden considerarse medicamentos pulmonares, incluyendo broncodilatadores y antitusivos, en el raro caso de que no respondan con corticoides (Rawlings y McCall, 2001).

La medicación debe administrarse mediante inyección IM profunda dentro de los músculos lumbares epaxiales (región L3 a L5). Esta musculatura tiene buena vascularidad y drenaje linfático con mínimos planos fasciales (Nelson y Couto, 2005).

Un mes después de la administración de melarsomina, debe administrarse un microfilaricida como la ivermectina o la milbemicina a la dosis recomendada más adelante en el capítulo de prevención. Debe realizarse una prueba de concentración microfilarial tres semanas después de este tratamiento.

El signo característico de caninos con sobredosificación es jadeo. La dosis tóxica de melarsomina es 2.5 a 3 veces la que se recomienda y los signos tóxicos se relacionan con edema pulmonar no cardiogénico. El dimercaprol intramuscular (3 mg/kg) revierte la toxicidad si se administra temprano (Rawlings y McCall, 2001).

El análisis del Ag verminoso se debería repetir a los 3-4 meses después de la terapia adulticida.

La enfermedad arterial pulmonar empeora desde los 5 hasta los 30 días después de la terapia adulticida, y es especialmente pronunciada en los paciente previamente sintomáticos. Los cruídos pulmonares auscultables provienen de la inflamación y colecta intersticiales y alveolares (Nelson y Couto, 2005).

#### 4.8.2.2 Complicaciones de la terapia adulticida en la enfermedad pulmonar tromboembólica

La enfermedad arterial pulmonar empeora desde los 5 hasta los 30 días después de la terapia adulticida, y es especialmente pronunciada en los pacientes previamente sintomáticos. Los gusanos muertos y agonizantes inducen trombosis y obstrucción arterial pulmonar, con exacerbación de la adherencia plaquetaria, proliferación de mioíntima, hipertrofia vellosa, arteritis granulomatosa, edema perivascular y hemorragia. La hipoperfusión pulmonar, vasoconstricción y broncoconstricción hipóxicas, inflamación del pulmón y acumulación de líquidos, pueden fomentar el surgimiento de marcadas alteraciones en la proporción ventilación/perfusión. La tromboembolización pulmonar grave es más probable que suceda entre los 7 y 17 días después de la terapia adulticida.

El tratamiento del tromboembolismo pulmonar comprende reposo estricto (*confinamiento en jaula*) y corticosteroides para reducir la inflamación pulmonar (prednisona, 1- 2 mg/kg/día inicialmente para luego reducirla en forma gradual). También se recomiendan broncodilatadores y fluidoterapia en caso de ser necesario (Nelson y Couto, 2005).

#### 4.8.3 Tratamiento de la enfermedad por gusanos cardíacos complicada

##### 4.8.3.1 Complicaciones pulmonares

La neumonitis inmunomediada se presenta en algunos perros, porque las células inflamatorias rodean a las microfilarias atrapadas en el tejido pulmonar. La neumonitis alérgica o eosinofílica se descubrió en el 10 a 15 % de los perros con enfermedad oculta. Las manifestaciones clínicas de la neumonitis incluyen accesos tusivos de

intensidad progresiva, crujidos auscultables y taquipnea o disnea; en ocasiones hay cianosis, pérdida de peso y anorexia.

La granulomatosis eosinofílica pulmonar es un síndrome poco común que se ha relacionado con la enfermedad por gusanos cardíacos, aunque algunos perros afectados no tienen la verminosis. La terapia inicial recomendada es con prednisona (1-2 mg/kg/12 horas).

La enfermedad arterial pulmonar grave es probable en los pacientes con verminosis crónicas, en aquellos con muchos gusanos adultos y en los perros activos. La prednisona en dosis bajas (por ej. 0.5 mg/kg) y días alternos debería tener efectos antiinflamatorios beneficiosos, si bien las dosis altas y crónicas de un corticosteroide pueden reducir el flujo sanguíneo pulmonar, aumentar el riesgo de tromboembolismo pulmonar e inhibir la resolución de la enfermedad pulmonar (Nelson y Couto, 2005).

#### 4.8.3.2 Insuficiencia cardíaca congestiva derecha

La enfermedad arterial e hipertensión pulmonares pronunciadas pueden ocasionar insuficiencia ventricular derecha. Se presentan las manifestaciones típicas de la insuficiencia congestiva derecha incluyendo distensión o pulsaciones yugulares, ascitis, accesos sincopales, intolerancia al esfuerzo y arritmias. Se puede desarrollar la efusión pleural o pericárdica. El tratamiento es con furosemide (1 a 2 mg/kg/día) y enalapril (inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina (Nelson y Couto, 2005).

#### 4.8.3.3 Síndrome de la vena cava

Se presenta cuando la entrada venosa al corazón está obstruida por una masa de gusanos. Es más probable que ocurra en pacientes que viven en regiones geográficas donde la enfermedad tiene rasgos enzoóticos. Se calculó que esta complicación se reconoce en el 15 a 20 % de los perros con enfermedad por gusanos cardíacos (Nelson y Couto, 2005).

### 4.9 PREVENCIÓN

#### 4.9.1 Quimioprofilaxis

Es fácil prevenirla y cara y difícil tratarla, por lo tanto es necesario fomentar la quimioprofilaxis siempre que exista una posibilidad razonable de infección (Knight, 2001). Varios macrólidos se encuentran disponibles en la actualidad para implementar la profilaxis de la dirofilariasis: las avermectinas (Ivermectina, selamectina) y milbemicinas (oxima de milbemicina, moxidectina) (Nelson y Couto, 2005). Los endectocidas macrólidos, ivermectín y milbemicina oxima, son en la actualidad las elecciones más populares (Knight, 2001). Las avermectinas y milbemicinas inducen parálisis neuromuscular y muerte de los parásitos nematodos y artrópodos (Nelson y Couto, 2005). Si bien el derivado de la piperacina, dietilcarbamacina, de administración diaria fue con anterioridad el fármaco fundamental de la quimioprofilaxis para gusano del corazón, se sustituyó en gran parte por los endectocidas macrólidos. La quimioprofilaxis con citrato de dietilcarbamacina en anticipación de la exposición a mosquitos infecciosos depende de manera crítica de la administración diaria exacta (6.6



mg/kg) y de la continuación durante 2 meses después de terminar la estación de transmisión.

Las dosis profilácticas tanto de ivermectín (6 a 12 microgramo/kg como de milbemicina oxima (0.5 a 1.0 mg/kg) mensualmente no son tóxicas incluso en perros Collie que son sensibles a dosis altas (Knight, 2001; Nelson y Couto, 2005 ).

Si bien estas dosis reducidas bloquean la maduración de larvas L3 y L4 la droga carece de eficacia contra los gusanos adultos. Brindan protección completa contra la infección si la terapia se inicia dentro de los 2 a 3 meses de la potencial exposición a los mosquitos infectados (Nelson y Couto, 2005).

## **5. MATERIALES Y MÉTODOS**

Se tomaron muestras al azar de 100 perros domésticos, sin diferenciación de raza y sexo, mayores a 6 meses de edad.

Las muestras fueron tomadas en el Hospital de la Facultad de Veterinaria dentro del horario de atención del mismo (8:00-11:00 y 13:00-16:00 aprox.).

Se extrajo 1 mL de sangre de la vena cefálica anterior de cada animal con instrumentos estériles (mariposa de calibre adecuado para cada paciente) y luego se colocó en tubo con una gota de EDTA (Ácidetilendiaminotetraacético).

Posteriormente fueron analizadas en el Laboratorio de Análisis Clínicos de la Facultad de Veterinaria, mediante la técnica mencionada anteriormente y descrita a continuación:

Reactivos utilizados:

- EDTA (Ácidetilendiaminotetraacético)
- Formalina (2%)
- Azul de Metileno (solución 1:1000)

Materiales utilizados:

Mariposas de calibre 18 y 21 G

Jeringas de 3cc

Agujas de calibre 21 G

Banda elástica para compresión y hemostática

Tubos de plástico con tapa (ependom)

Tubos de vidrio para centrifuga

Centrífuga: Marca Rolco (Industria Argentina)

Portatubos

Portaobjetos

Cubreobjetos

Microscopio marca Nikon (Industria Japonesa)

Procedimiento Técnica de Knott Modificada: según Coles (1989):

Se depositan 10 ml de formol al 2% en un tubo de centrifuga de fondo cónico, al cuál se le agrega 1 ml de sangre y se mezcla ligeramente invirtiendo el tubo cerrado dos veces. Se centrifuga a 1500 rpm (revoluciones por minuto) durante 5-8 minutos y se elimina el sobrenadante haciendo una cuidadosa inversión del tubo. El sedimento se tiñe con una cantidad igual de solución de azul de metileno 1:1000. Posteriormente se toma una gota del fondo con una pipeta y se deposita en un portaobjeto al cual se le coloca un cubreobjeto. Por último se observa en un microscopio óptico con aumento 100x.

Como análisis estadístico se realizó la estimación de la prevalencia máxima según Cochram (1977).

### **5.1 ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Se realizó la estimación del límite de confianza superior a un nivel de 95% para la prevalencia cuando esta es 0 en el muestreo. Esta es la prevalencia máxima que se podría detectar con la muestra extraída a un nivel de confianza de  $1 - \alpha$  (Cochran, 1977).

Se utilizó la siguiente fórmula:  $P_u = \frac{A}{N}$

donde:

$$A = (N-u) - \sqrt[n]{\alpha(N-n)}$$

siendo:

$n$  = tamaño de la muestra

$a$  = número de positivos en la muestra

$A$  = número de positivos en la población.  $A$  es un valor desconocido que se estima.

$N$  = tamaño de la población (estimado). Total de perros registrados en Montevideo por la Comisión de Hidatidosis en el año 2003: 72.467 + 15% (que asumimos nosotros como perros no registrados por la Comisión y perros no declarados por los propietarios)

$u = \frac{n-1}{2}$  No tiene significado en si mismo, es un cociente.

## 6. RESULTADOS

Las muestras tomadas para realizar el test de Knott fueron extraídas de 63 hembras y 37 machos (Figura I). El rango de edad de los caninos fue de 6 meses a 15 años (Figura II). Como se muestra en el Figura III los perros pertenecían a diferentes barrios de Montevideo, en su mayoría cercanos a la Facultad de Veterinaria. Las 100 muestras analizadas fueron negativas en un 100%.

## Distribución por sexo

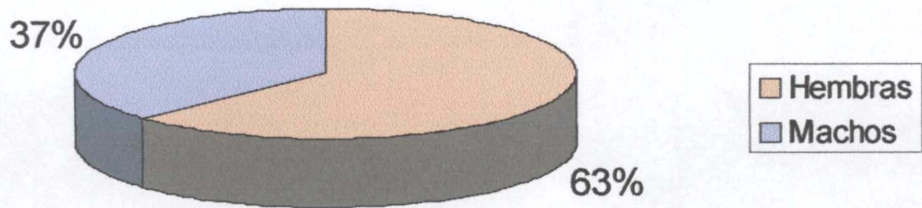


Figura I: Porcentaje de hembras y machos de la muestra analizada.

## Distribución por edades

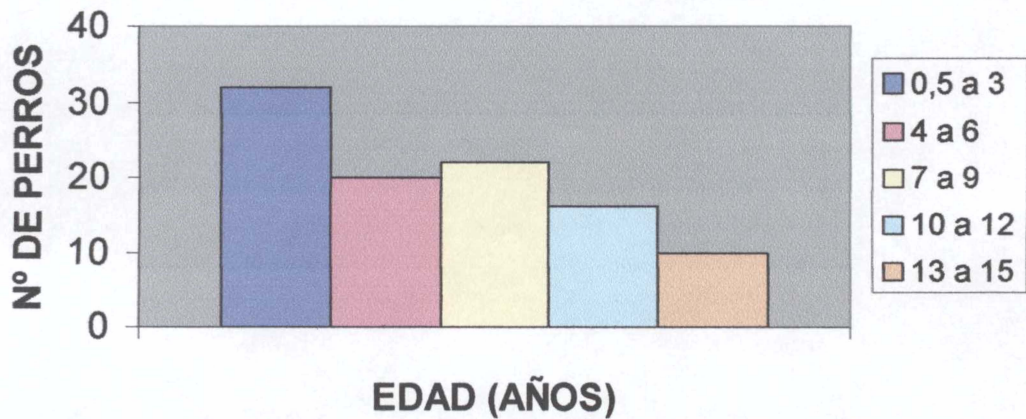


Figura II: Número de perros analizados agrupados en rango de edades.

## Distribución de perros por barrios

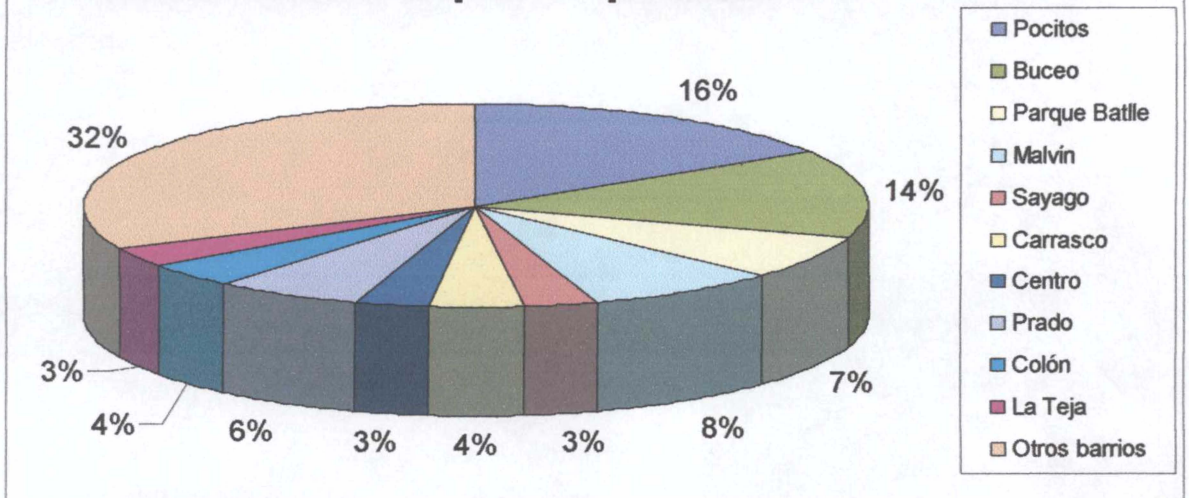


Figura III: Distribución de perros según el barrio al cual pertenecen.

En el presente trabajo:  $n = 100$ ;  $a = 0$ ;  $N = 83337$ . Calculando el valor de  $A$  se obtuvo un resultado de 2507 caninos.

$$P_u = 0.03 = 3 \%$$

## **7. DISCUSIÓN**

Buscamos la presencia de microfilarias en sangre en 100 perros que concurren a consulta al Hospital de Facultad de Veterinaria y se observó que el 100% fue negativo.

Que no se hallan detectado perros positivos a la prueba de Knott no significa que esos perros estudiados sean negativos, ya que pueden existir muchos perros infectados con infección oculta (hasta un 20-30%). Las causas pueden haber sido las siguientes:

1. Infecciones todavía no manifiestas: la microfilaremia alcanza su nivel más alto a los seis meses y medio después de la infección.
2. Tratamiento microfilaricida (con endectocidas macrólidos)
3. Reacciones de hipersensibilidad contra las microfilarias
4. Infecciones por un mismo sexo
5. Vermes adultos estériles
6. Vermes en localizaciones ectópicas

Si bien no se utilizaron kits serológicos (ELISA), que son más sensibles y específicos para diagnosticar *D. immitis*, no está descrito que diagnostiquen *D. repens*, cuya presencia también nos interesa documentar. Por lo tanto el test empleado (Test de Knott) es hoy el más adecuado para nuestro objetivo, sin perjuicio de que puedan ser utilizados conjuntamente. Además son métodos muy costosos y no están disponibles en nuestro país.

Es de hacer notar, la mayor incidencia encontrada en el Instituto Antirábico por Carballo y col. en 1938 que por Ganzo y col. en 1983 en el Servicio de Policlínica ya que fue mayor para los perros sin dueño (del Instituto Antirábico) y por lo tanto con inadecuada sanidad. En el presente trabajo, en el cual las muestras provienen del servicio de policlínica de Facultad de Veterinaria, podría estar sucediendo lo mismo que en el ensayo realizado por Ganzo en el año 1983, en donde los animales tienen mayores probabilidades de estar en condiciones sanitarias adecuadas.

## **8. CONCLUSIONES**

No se detectaron perros positivos a la dirofilariasis mediante la prueba de Knott, lo que no significa que esos perros estudiados sean negativos, ya que pueden existir muchas causas por las cuales no circulen microfilarias en la sangre en el momento de toma de muestra.

Si bien los datos son negativos, no significa que la población de perros de Montevideo sea negativa ya que la muestra no es representativa.

Con un 95% de confianza se puede asegurar que si existe *Dirofilaria* es con una prevalencia de menos de 3 %.

En un próximo proyecto, deberían evaluarse muestras provenientes de zonas limítrofes con los países vecinos, como puede ser Rivera y Artigas (por su proximidad geográfica y contacto socioeconómico con Brasil), y Paysandú (por su proximidad con Colón, Provincia de Entre Ríos-Argentina). Deberían tomarse cerca de nichos biológicos para los mosquitos como pueden ser zonas húmedas (áreas forestadas, bañados).

Además se podrían hacer muestreos en Policlínica de Barrios Unidos y en animales que llegan a refugios o a organizaciones protectoras de animales, ya que las posibilidades de sanidad son menores.

También se podrían tomar las muestras en horas de la tarde ya que está documentado que debido a la periodicidad de las microfilarias existe un incremento de las mismas en horas de la noche.

Además se podría realizar la prueba de la fosfatasa ácida para diferenciar con mayor certeza los distintos tipos de microfilarias.

## 9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- (1) Atkins CE, Ryan WG. (2001). Diagnóstico y prevención de la enfermedad por gusanos del corazón en felinos. En: Kirk-Bonagura. *Terapéutica veterinaria de pequeños animales*. 13ª ed, España, Ed. Bonagura JD, pp. 836-841.
- (2) Benenson SA. (1994). Filariasis. En: Organización Panamericana de la Salud. *Manual para el Control de las Enfermedades Transmisibles*. Nº 546. 16ª ed. En: Meneses A, Pérez MC, Morales A, Martínez del Pino A, Machado Y, Espinosa B, Castro Y, Espinosa R, Rodríguez J, China R, Pérez C. (2003). Incidencia de *Dirofilaria immitis* en perros: epidemiología, tratamiento y comparación de dos técnicas diagnósticas en : [http://www.laboratoriosprovet.com.co/inftecnica/PARA SITOLOGIA/DIROFILARIASIS%20EN%20PERROS.asp](http://www.laboratoriosprovet.com.co/inftecnica/PARA_SITOLOGIA/DIROFILARIASIS%20EN%20PERROS.asp). (29 agosto 2003).
- (3) Botero D, Restrepo M. (1992). Parasitosis Humana. 2ª ed. Medellín, Colombia. pp. 261-264. En: Meneses A, Pérez MC, Morales A, Martínez del Pino A, Machado Y, Espinosa B, Castro Y, Espinosa R, Rodríguez J, China R, Pérez C. (2003). Incidencia de *Dirofilaria immitis* en perros: epidemiología, tratamiento y comparación de dos técnicas diagnósticas en: <http://www.laboratoriosprovet.com.co/inftecnica/PARASITOLOGIA/DIROFILARIASIS%20EN%20PERROS.as> (29 agosto 2003)
- (4) Carballo M, Viera O, Calzado V, Rodríguez García JA. (1938). Primera comprobación de microfilarias en el perro en el Uruguay. *Anales Facultad de Veterinaria, Montevideo*, 3 (4): pp. 355-358.
- (5) Chalifoux L, Hunt RD. (1971). Histochemical differentiation of *Dirofilaria immitis* and *Dipetalinema reconditum*. *Journal of the American Veterinary Medical Association*; 158 (5): 601-605. En: Schrey CF, Trautvetter E. (1998). *Dirofilariosis canina y felina-diagnóstico y tratamiento*. *Waltham Focus*. 8(2):23-30.
- (6) Clarence MF (1993). *Infecciones por Gusanos del Corazón Canino*. *Dirofilariosis*. *El Manual Merk de Veterinaria*. 4ª ed, España. En: <http://www.laboratoriosprovet.com.co/inftecnica/PARASITOLOGIA/DIROFILARIASIS%20EN%20PERROS.asp>.(29 agosto 2003).
- (7) Cochran WG. (1977). *Sampling Techniques*. Third Edition. New York. Ed. John Wiley & Sons. 428 páginas.
- (8) Coles EH. (1989). *Diagnóstico y patología veterinaria*. 4ª ed. Interamericana, México. 396 p.
- (9) Cordero del Campillo, M (1999). *Parasitología veterinaria*. Ed. Mc Graw-Hill. Interamericana. España.



- (10) Doby JM, Guiguen C, Lefeuvre R. (1986). Présence de *Dirofilaria immitis* (Leidy, 1856) chez le chien en Bretagne. Bulletin Société Française de Parasitologie; 4: 51-54. En: Schrey CF, Trautvetter E.(1998). *Dirofilariosis canina y felina-diagnóstico y tratamiento*. Waltham Focus. 8(2): pp. 23-30 .
- (11) Ganzo L, De Miquelerena M, Freyre A, Martino P, Feldman B.(1983). *Dirofilariosis repens*: estudio de un caso asintomático en canino. Revista de las primeras jornadas técnicas de la Facultad de Veterinaria, Uruguay. pp. 27-28 En: Torquia JC, Freyre A.(1980). *Dirofilaria repens*: hallazgo en un canino. An. Fac. Vet. Montevideo 17(1); pp. 61-66.
- (12) Ganzo L, Taroco J, Brussa I, Berreta C. (1983). *Microfilariosis en caninos ingresados al servicio de policlínica de la Facultad de Veterinaria. Primeras Jornadas Técnicas de la Facultad de Veterinaria. Montevideo. Uruguay. pp: 31.*
- (13) Ganzo L, Berreta C, Ramos A, Araujo C. (1983). Estudio de la periodicidad de las microfilarias de *Dirofilaria repens*. Primeras Jornadas Técnicas de la Facultad de Veterinaria. Montevideo. Uruguay. pp: 29-30.
- (14) Hoover J P, Campbell G A, Fox J C, Claypool P L, Mullins S B (1996). Comparison of eight diagnostic blood test for Heartworm infection in dogs. Canine Practice. Vol. 21, number 1, pp: 11-19.
- (15) Hoskins JD. Canine Heartworm disease. Small Animal Parsitology. Compendium on Continuing Education for the practicing veterinarian. 18 (4), 1996.
- (16) Kirk WR, Bistner IS. (1994). *Dirofilariosis ( Filariosis Zoonótica )*. En: Kirk WR, Bistner IS. *Manual de Urgencias en Veterinaria*. 3ª ed. España. Salvat. pp. 765 - 770. En: Meneses A, Pérez MC, Morales A, Martínez del Pino A, Machado Y, Espinosa B, Castro Y, Espinosa R, Rodríguez J, China R, Pérez C. (2003). *Incidencia de *Dirofilaria immitis* en perros: epidemiología, tratamiento y comparación de dos técnicas diagnósticas*. En: <http://www.laboratoriosprovet.com.co/inftecnica/PARASITOLOGIA/DIROFILARIASIS%20EN%20PERROS>. (29 agosto 2003)
- (17) Kirk-Bonagura (2001). *Terapéutica veterinaria de pequeños animales*. 13ª ed., España, Ed. Bonagura JD , pp. 1347.
- (18) Knight DH (2001). Pruebas para gusano del corazón y prevención en caninos. En: *Terapéutica veterinaria de pequeños animales*, 13ª ed., España, Ed. Bonagura JD, pp: 830-835.
- (19) Labarthe N, Ferreira AM, Guerrero J, Newcomb K. (1997). Survey of *Dirofilaria immitis* ( Leidy 1856 ) in Random Source Cats in Metropolitan Río de Janeiro, Brazil, with descriptions of lesions. *Veterinary Parasitology*. 71(4): 301-306, en

- (20) Leidy. (1856). En: Soulsby E.J.L. (1988), *Parasitología y enfermedades parasitarias en los animales domésticos*. 7ª ed. México, Ed. Interamericana, 307 p.
- (21) Meneses A, Pérez M C, Morales A, Martínez del Pino A, Machado Y, Espinosa B, Castro Y, Espinosa R, Rodríguez J, China R, Pérez C. Incidencia de *Dirofilaria immitis* en perros: epidemiología, tratamiento y comparación de dos técnicas diagnósticas. En: <http://www.laboratoriosprovet.com.co/inftecnica/PARASITOLOGIA/DIROFILARIASIS%20EN%20PERROS.asp>. (29 agosto 2003).
- (22) Nelson RW, Couto CG. (2002). *Medicina interna de animales pequeños*. 3ª ed. Argentina, Intermedica, Ed. Fathman EM. 2002. pp 1409.
- (23) Newton WL. (1968). Longevity of an experimental infection with *Dirofilaria immitis* in a dog. *Journal of Parasitology*; 54: 187-188. En: Schrey CF, Trautvetter E. (1998). *Dirofilariosis canina y felina-diagnóstico y tratamiento*. *Waltham Focus*. 8(2):23-30.
- (24) Noyes JD. (1978). Comparison of knott and filter techniques. In: Otto GF. *Proceedings of the Heartworm Symposium '77*. *Veterinary Medicine Publishing Co., Bonner Springs, KS*: 34-37. En: Schrey CF, Trautvetter E. (1998). *Dirofilariosis canina y felina-diagnóstico y tratamiento*. *Waltham Focus*. 8(2):23-30.
- (25) Otto GF. (1978). The significance of microfilaremia in the diagnosis of heartworm infection. In: Otto GF. *Proceedings of the Heartworm Symposium '74*. *Veterinary Medicine Publishing Co., Bonner Springs, KS*, 1978: 6-13, en Schrey CF; Trautvetter E.(1998). *Dirofilariosis canina y felina-diagnóstico y tratamiento*. *Waltham Focus*. 8(2):23-30.
- (26) Pampiglione S, Rivasi F, Angeli G.(2001). *Dirofilariosis due to *Dirofilaria repens* in Italy, an emergent zoonosis. Report of 60 new cases*. *Histopathology* 2001; 38: 344-354. En: Tarello W. (2002). *Cutaneous lesions in dogs with *Dirofilaria (Nochtiella) repens* infestation and concurrent tick-borne transmitted diseases*. *Veterinary Dermatology*, 13: 267-274.
- (27) Pampiglione S, Rivasi F. (2000). *Human *Dirofilariosis* due to *Dirofilaria (Nochtiella) repens*: an update of world literature from 1995 to 2000*. *Parassitologia* 2000; 42: 231-254. En: Tarello W. (2002). *Cutaneous lesions in dogs with *Dirofilaria (Nochtiella) repens* infestation and concurrent tick-borne transmitted diseases*. *Veterinary Dermatology*, 13: 267-274.

- (28) Pampiglione S, Canestri-Trotti G, Rivasi F. (1995). Human *Dirofilariasis* due to *Dirofilaria* (*Nochtiella*) *repens*. A review of world literature. *Parassitologia* 1995; 37: 149-193. En: *Veterinary Dermatology* 2002, 13: 267-274.
- (29) Pérez O, Gnemi G, Manso HG. Inmunofluorescencia Indirecta en Filariosis III. Comparación de la Microfilaremia y el Tratamiento. *Revista CubanadeMedicinaTropical*.1990;42(1):6976<http://www.laboratoriosprovet.com.co/inftecnic/PARASITOLOGIA/DIROFILARIASIS%20EN%20PERROS.asp>.(29 agosto 2003).
- (30) Rawlings CA, Calvert CA (1997). *Dirofilariosis Canina*. En: Ettinger SJ y Feldman EC. *Tratado de Medicina Interna Veterinaria. Enfermedades del Perro y el Gato*. 7ª ed., Argentina, Ed. Intermedica. pp:1263-1288.
- (31) Rawlings CA, McCall JW (1995). Usos actuales y peligros de la melarsomina. En: Kirk-Bonagura (2001). *Terapéutica veterinaria de pequeños animales*. 13ª ed, España, Ed. Bonagura JD, pp: 841-844.
- (32) Rawlings CA. (1986). *Heartworm disease in dogs and cats*. Ed. W. B. Saunderscompany, Philadelphia, pp. 212-213.
- (33) Roger IR, Domínguez JL, Solis FA, Cob L.A. (1994). Prevalencia de *Dirofilaria immitis* en perros callejeros de la Ciudad de Mérida, Yucatán, México. *VeterinariaMéxico*.18(2).en:<http://www.laboratoriosprovet.com.co/inftecnic/PARASITOLOGIA/DIROFILARIASIS%20EN%20PERROS.asp>.(29 agosto 2003).
- (34) Santhome V (2001). *Dirofilariosis*. En:<http://www.visionveterinaria.com/articulos/29.htm>.
- (35) Schalm OW. (1965). *Veterinary Hematology*. Philadelphia. 1965: 121. En: Chalifoux L, Hunt RD. (1971). Histochemical differentiation of *Dirofilaria immitis* and *Dipetalinema reconditum*. *Journal of the American Veterinary Medical Association*; 158 (5): 601-605.
- (36) Schrey CF, Trautvetter E, (1998). *Dirofilariosis canina y felina-diagnóstico y tratamiento*. *Waltham Focus*. 8(2):23-30.
- (37) Schrey CF. (1996). *Epidemiologische Fallanalyse der kardiovaskulären Dirofilariose (Herzwurmerkrankung) bei Hunden in Deutschland*. Dissertation for the Degree of Doctor of Veterinary Medicine, der Freien Universität Berlin,. En: Schrey CF. Trautvetter, (1998). *Dirofilariosis canina y felina-diagnóstico y tratamiento*. *Waltham Focus*. 8(2):23-30.
- (38) Slocombe JO. (1992), *Reflections of Heartworm surveys in Canada over 15 years*. In: Soll MD. *Proceedings of the Heartworm Symposium '92*. American Heartworm Society, Batavia, Ill, 1992: 21-30.

- (39) Soulsby E.J.L. (1988). *Parasitología y enfermedades parasitarias en los animales domésticos*. 7ª ed, México, Ed. Interamericana, pp. 307-312.
- (40) Tarello W. (2002). *Cutaneous lesions in dogs with *Dirofilaria (Nochtiella) repens* infestation and concurrent tick-borne transmitted diseases*. *Veterinary Dermatology*, 13: 267-274.
- (41) Zens QY, MacKinnon BR, Courtney CH. (1993). *Comparison of two antigen tests and the modified Knott's test for detection of canine Heartworm at different worm burdens*. *Canine Practice*. 18 (3): 5-7.