

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA
(UNAN-LEÓN)

ESCUELA DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y MEDICINA VETERINARIA.

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA



Protocolo de investigación para optar al título de:

Médico Veterinario.

Prevalencia de *Dirofilaria immitis* de caninos en la comunidad de Poneloya - Las Peñitas, departamento de León, en el período julio-noviembre del 2016

Autor: Br. Annett Vanessa Flores Reyes.

Br. Imelda María Salazar Palacios.

Tutor: MSc. Erick Lenin Salazar Martínez.

Asesor: MSc. José Luis Bonilla Espinoza.

León, Nicaragua, 2 de Diciembre 2016.

1 Máster en salud pública y epidemiología, Sanidad y Mejora Animal. Médico Veterinario. Profesor adjunto.

2 Máster en enfermedades tropicales, Sanidad y Mejora Animal, Médico Veterinario. Profesor Titular.

“A la libertad por la Universidad”

I. DEDICATORIA

A Dios por siempre guiarme en el camino para poder realizar mis sueños y nunca abandonarme.

A mis padres y hermanos por su amor, apoyo incondicional y consejos en todo momento de mi vida.

A mi esposo Eduardo Selva por brindarme apoyo, amor y consejos para seguir adelante siempre.

Annett Flores

A Dios por darme la oportunidad de realizar mis sueños y alcanzar mis metas.

A mis padres en especial a mi madre Margarita Palacios y mi hermano por su amor y apoyo incondicional.

A mis padrinos Denis Saavedra e Imelda Berríos por siempre guiarme por el buen camino, sus enseñanzas, por su amor y sus consejos.

A esas personas especiales para mí por su cariño y apoyo incondicional que me brindaron en todo momento.

Imelda Salazar

II. AGRADECIMIENTOS

A Dios primeramente por guiarnos en este camino de dificultades, por darnos sabiduría e inteligencia para cumplir nuestros propósitos.

A nuestros padres y hermanos por el apoyo incondicional que hasta este tiempo nos han dado.

A mi esposo Eduardo Selva por su amor y apoyo incondicional. **(Annett Flores)**

A mis padrinos Denis Saavedra e Imelda Berrios por todo el amor y enseñanzas. **(Imelda Salazar)**

A nuestros maestros Dr. Alan Peralta y Dr. Daniel morales por habernos colaborado durante el transcurso de nuestro estudio.

A nuestros tutores Dr. Erick Salazar y Dr. José L. Bonilla por habernos guiado para poder culminar esta etapa de nuestra carrera profesional.

A nuestros colaboradores y amigos Julio Mercado y Maria Elena Villega por su apoyo y enseñanza en nuestro estudio.

III. RESUMEN

Se determinó la Prevalencia de *Dirofilaria immitis* de caninos en la comunidad de Poneloya - Las Peñitas, departamento de León .En el período de julio a noviembre del 2016. Se seleccionó una muestra de 76 animales de una población total de 448, a cada animal se le realizó un examen de sangre en la vena cefálica para determinar la presencia de *D. immitis* en el torrente sanguíneo. De manera general se encontró que el 46% de animales fueron positivos a *D. immitis*, teniendo como vector transmisor el mosquito. Además, se observó que la edad y el peso de los animales no influyen, significativamente, en la infestación por este tipo de parásito.

Palabras claves: prevalencia, *D. immitis*, mosquito.

IV. INDICE

Nº	Descripción	
	Dedicatoria	
	Agradecimientos	
	Resumen	
	Índice	
I.	Introducción	6
II.	Antecedentes	7
III.	Justificación	8
IV.	Planteamiento del problema	9
V.	Objetivos	10
VI.	Marco teórico	11
VII..	Control y profilaxis	20
VIII.	Materiales y métodos	21
IX	Resultados y discusión	27
X.	Conclusiones	30
XI.	Recomendaciones	31
XII.	Bibliografía	32
XIII.	Anexos	34

I.INTRODUCCION

La dirofilariosis es una enfermedad ocasionada por el nematodo *Dirofilaria immitis*, el cual en estado adulto, se encuentra normalmente en la arteria pulmonar y corazón derecho de los caninos; además puede encontrarse en otras partes del cuerpo. Este parásito usualmente afecta a los perros, pero otros mamíferos como: gatos, zorros, coyotes, lobos y hurones son también susceptibles a la infección. Se presenta mayormente en climas cálidos tropicales, subtropicales y en algunos países templados.¹⁰

La *Dirofilaria immitis* tiene como hospedero intermediario a mosquitos hematófagos los cuales al alimentarse transmiten la forma infectiva a un nuevo hospedero.¹⁰

Es una enfermedad de curso generalmente crónico y subclínico, lo que influye en que haya pacientes que no reciban tratamiento oportuno, o que lo reciban solo cuando presentan signos clínicos que hacen sospechar de dirofilariosis. Las interacciones entre salud humana y animal no son una novedad. Pero el alcance, la magnitud y las repercusiones mundiales de las zoonosis que se enfrentan actualmente no tienen precedentes históricos, y se debe tener presente que la lucha contra las zoonosis comienza por la eliminación del agente patógeno en su fuente animal de infección.¹⁰

Este hecho confiere un papel destacado, tanto en el plano nacional como en el internacional, a los servicios veterinarios, los criadores, los responsables de la fauna salvaje y la Oficina Internacional de Epizootias (OIE) (Organización Mundial de Salud Animal).¹⁰

II. ANTECEDENTES

Movilla R, Garcia C, Siebert S, Rouna S, 2016 México. Determino mediante una evaluación serológica que la prevalencia de *Dirofilaria immitis* fue del 8.9%.³

OncelTaraneh, 2005 Istanbul, izmis-Turkey determino por la técnica de ELISA la prevalencia de D. immitis fue del 4.7%.⁴

Fernandez Santos Karla E. 2016. Guayaquil – Ecuador. Determino una prevalencia de D. canina mediante tres métodos de laboratorio la cual obtuvo el 9.5%.⁷

III.JUSTIFICACION

El presente trabajo pretende aportar información que permita conocer la prevalencia de hemoparasitos del género *Dirofilaria immitis* en caninos domésticos en las comunidades de Poneloya- Las Peñitas, el tema nos pareció de interés debido a la ausencia de estudios realizados sobre el tema en la comunidad.

IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

No existe información sobre la prevalencia de *Dirofilaria immitis* en caninos en la comunidad de Ponedoya-Las Peñitas.

¿Cuál es la prevalencia de *Dirofilaria immitis* caninos domésticos en la comunidad de Ponedoya - Las Peñitas, departamento de León?

V. OBJETIVOS

1. Objetivos generales

1.1 Determinar la prevalencia de *Dirofilaria immitis* utilizando las técnicas de *buffy coats* y *snaps* en caninos domésticos en la comunidad de Poneloya - Las Peñitas, departamento de León. En el período de julio-noviembre de 2016.

2. Objetivos específicos

2.1 Identificar la prevalencia de *Dirofilaria immitis* en caninos mediante la técnica de Buffy Coat.

2.2 Confirmar la prevalencia de *Dirofilaria immitis* en muestras positivas a Buffy Coat por Snaps.

2.3 Observar la existencia de dilatación de las cámaras cardíacas en las muestras positivas a *Dirofilaria immitis* mediante rayos x y ecocardiografía.

VI. MARCO TEORICO

INTRODUCCION:

La infección causada por el nematodo *Dirofilaria immitis*, tiene varias denominaciones, como por ejemplo dirofilariosis, verminosis cardiaca, enfermedad por gusanos cardiacos, enfermedad del gusano del corazón o heartworm disease.^{6,1}

La *Dirofilaria immitis* es un nematodo común de los caninos en muchas partes del mundo, cuyo hospedador intermediario es el mosquito, siendo su distribución geográfica de tipo mundial, con mayor prevalencia en zonas tropicales y sub-tropicales. Esta enfermedad es un problema que ocurre en todos los continentes, excepto en la Antártica; es de curso generalmente crónico y subclínico, lo que influye en que haya pacientes que no reciban tratamiento oportuno, o que lo reciban solo cuando presentan signos clínicos que hacen sospechar de dirofilariosis.²

Los principales factores que condicionan la difusión de la enfermedad son ambientales, tales como la temperatura y la humedad; además, depende de la densidad de los mosquitos vectores y de la presencia de los huéspedes definitivos en los que el parásito completa su desarrollo y se reproduce. Hay varios mamíferos, como el gato, el zorro, la rata almizclera, el lobo, la nutria y el lobo marino que sirven como hospederos naturales, y aun el humano como un hospedero ocasional.²

TAXONOMÍA Y MORFOLOGÍA

.6

Clase	orden	suborden	Familia	genero	Especie
Nematoda	spirurida	Spirurina	filarioidea	dirofilaria	Immitis

Dirofilaria immitis es un nematodo filiforme y cilíndrico, de color blanco que posee una cutícula con estriaciones transversales y longitudinales. En su extremo anterior que no se adelgaza se encuentran: apertura oral, pequeña con labios, cápsula bucal rudimentaria sin órganos de fijación, diez pequeñas papilas cefálicas, sin faringe, esófago con porción anterior muscular y posterior glandular no muy bien delimitada. El ano se ubica en posición subterminal. Presentan dimorfismo sexual marcado. ⁶

Hembras	Miden de 13,5 a 30 cm. de largo y de 1 a 1,3 mm, de diámetro.
Machos	Miden 9,5 a 20 cm. de largo, con 0,7 a 0,9 mm, de diámetro.
Microfilaria	Miden alrededor de 308 μm . de largo (con un rango de 295 a 325 μm .) y 5 a 7,5 μm . de ancho

CICLO BIOLÓGICO

Fase larvaria	Tiempo de transformación larvaria	Función
L1 microfilarias		Una vez que el mosquito ingiere las microfilarias (B), estas migran desde el intestino al hemocele, para después desplazarse hacia los túbulos de Malpighi en 24 a 36 horas, donde penetran hacia el citoplasma.
L2	8-10 días primera muda.	Fase donde se forman los órganos.
L3 <i>Dirofilaria</i>	12 a 13 días después de la infección, tras 2 semanas de desarrollo son ya infectantes.	Toman la apariencia de adultos en miniatura. Durante los siguientes 2 a 3 días crecen en longitud.

L4	2 y 12 días después de la inoculación	L4 pueden encontrarse en los tejidos hasta 4 meses antes de mudar a adultos juveniles y entrar en la circulación venosa
L5	50-70 días post inoculación	tiene una gran movilidad y capacidad de penetración en los tejidos, lo que explica las frecuentes localizaciones ectópicas

Suborden Nematóceros, Familia Culicidae. La familia tiene sobre 3.000 especies incluidas en 34 géneros. ⁶

Al menos setenta especies de culícidos de los géneros Aedes, Anopheles y Culex, son receptivos como hospedadores intermediarios y vectores biológicos de *D. immitis*, aunque la capacidad de transmitirlo sólo se ha demostrado en diez especies: siete Aedes, dos Anopheles y un Culex. ⁶ El ciclo de la dirofilariosis requiere de un mosquito hembra (A), que ingiera sangre de un mamífero susceptible a *D. immitis*. ⁶

El tiempo de maduración de la larva en el mosquito depende mucho de la temperatura ambiental; entre 25 y 32° C. y 60 a 90% de humedad se completa el desarrollo de la microfilaria en 10 a 14 días y a 18° C. demora 30 días. En zonas tropicales o en época estival, el proceso sólo demora de 8 a 10 días, con un mínimo de 6 días. Si la temperatura ambiental media es inferior a 14° C. las larvas no maduran. ⁶

La cantidad de microfilarias que los mosquitos pueden transmitir, entre 12 y 68 microfilarias desde sangre, el número de larvas infectante que fue de 1 a 3 larvas. ⁶

En los mosquitos altas cargas pueden destruir los túbulos de Malpighi, dando por resultado la muerte del mosquito.

. En el momento en que los gusanos alcanzan las arterias pulmonares miden de 20 a 40 mm. de largo. A los 85 a 120 días después de la infección alcanzan longitudes de 3,2 a 11 cm. ⁶

El número de gusanos adultos albergados puede variar de 1 a más de 250 en el perro.
6

EPIDEMIOLOGÍA

Factores de riesgo para la infección relacionados con el hospedador:⁶

Especie, animal, Raza y tamaño, Sexo, Edad, Hábitat, Función realizada

Factores de riesgo para la infección relacionados con el vector:

El alcance geográfico de estas verminosis guarda relación directa con la distribución de los insectos susceptibles, las prevalencias más altas se encuentran en valles de ríos y áreas húmedas, donde están las condiciones ambientales más favorables para la reproducción del vector.⁶

Según Stuardo (1946), en Chile existen los siguientes culícidos: *Culex apicinus*, *C. articularis*, *C. dolosus*, *C. fatigans*, *C. annuliferus*, *C. chilensis*, *C. marmoratus*, *C. serotinus*, *C. variegatus*, *Anopheles pictipennis*, *A. pseudopunctipennis*, *Aedes albifasciatus* y *Ae. Aegypti*.⁶

PREVALENCIA:

País	Especie	Nivel de prevalencia
sur de Francia, norte de Italia y España	Caninos	Más del 30%
España	Coyotes	13-58%
España	Zorros	28-31%
Argentina	Caninos	62.5% machos y 37.5% hembras

SIGNOS CLINICOS

Durante los seis a siete meses de período prepatente no se presenta ningún signo Clínico, la sintomatología se presenta en animales mayores de un año de edad, aunque en general no se hacen evidentes hasta varios años después.⁶

La exploración física en la mayoría de los perros con dirofilariosis clínica es normal. La tos no productiva crónica o con enfermedad cardiopulmonar crónica, posteriormente la tos se acompaña de dificultad respiratoria variable, letargia, apatía, intolerancia al ejercicio, síncope, pérdida de peso y pérdida de masa muscular (caquexia cardiaca), a veces dermatitis, anemia y ascitis con efusión pleural.⁶

La reacción inflamatoria con focos de neumonía, en especial la provocada por los Vermes muertos, se podría relacionar con la congestión venosa pulmonar o con la hipertensión pulmonar.⁶

Hemoptisis y/o epistaxis. La hemorragia puede ser tan acusada que el animal cae en shock hipovolémico y muere.⁶

Respecto a los ruidos pulmonares, se pueden auscultar crujidos difusos bilaterales sobre las áreas de los lóbulos caudales, a veces hay crepitación de fina. No obstante, puede existir una enfermedad pulmonar sin alteraciones en la auscultación, por lo que siempre deben obtenerse radiografías torácicas.

Se puede auscultar un soplo cardiaco sistólico que se oye mejor en al zona apical derecha.⁶

Se presenta pulsación/distensión venosa yugular, hepatomegalia, edema pulmonar, ascitis y efusión pleural (sonidos cardíacos y pulmonares sordos), cuando existe una insuficiencia cardíaca congestiva derecha.⁶

En el síndrome de la vena cava, aparece bruscamente un shock cardiogénico.⁶

Animales con parásitos en la aorta o en las arterias femorales, han presentado alteraciones en las extremidades posteriores como cojera, parestesia, paresia y necrosis tisular.⁵

CONSIDERACIONES DE LA SALUD PÚBLICA

La dirofilariosis debe considerarse como una enfermedad potencialmente zoonótica, aunque se requiera forzosamente del vector, que es el mosquito. Ha sido reportado que la *D. immitis* puede causar infiltrados nodulares pulmonares en humanos, que pueden confundirse radiográficamente con tumores primarios o metastásicos, mientras que otras especies de dirofilaria, como la *D. repens* ha sido aislada de nódulos subcutáneos en humanos.⁹



DIAGNOSTICO

Está basado en los signos clínicos de alteración cardiovascular y la detección de microfilarias en la sangre.⁵

Radiografía torácica .⁵

Angiografía.⁵

Las técnicas inmunodiagnósticas se utilizan para diagnosticar casos que cursan sin microfilaremiás, por ejemplo, hay varias pruebas ELISA .⁵

Buffy Coat

SNAPS

Técnicas de filtración y tinción con azul de metileno.⁵

El diagnóstico postmortem pone de manifiesto las lesiones y la presencia de parásitos adultos y de forma juveniles⁵

TRATAMIENTO

El plan terapéutico general en perros incluye: a) el uso de fármacos que matan los parásitos adultos (adulticidas), b) fármacos que matan las microfilarias (microfilaricidas) tres semanas después de tratamiento adulticida, c) chequeo de microfilaremia a las 2 semanas, d) iniciación de la profilaxis, e) prueba de antígeno 4 a 6 meses post adulticida para evaluar la eficacia del adulticida, f) evaluación del nivel de infección 6 meses a 1 año después. En animales con infecciones patentes, se procede generalmente eliminando los vermes adultos y posteriormente las microfilarias circulantes, pero se ha demostrado que los efectos tóxicos de los fármacos arsenicales son más severos en animales con alta microfilaremia, lo que se previenen casi totalmente invirtiendo el orden.⁶

Evaluación y clasificación de los animales con dirofilariosis: la Food and Drug Administration (FDA), sólo ha aprobado dos tratamientos.⁶

Para poder realizar un tratamiento exitoso, es de vital importancia evaluar y clasificar el grado de afección de los animales por *D. immitis*, ya que de ello depende el tratamiento a realizar.⁶

Los perros de menos de seis meses de edad no necesitan evaluación y se les puede administrar un tratamiento profiláctico desde ese momento.⁶

Clasificación de la dirofilariosis. Según la gravedad y la evolución de la enfermedad, se pueden distinguir las siguientes clases:

Clase 1: enfermedad subclínica suave.⁶

Clase 2: enfermedad clínica moderada.⁶

Clase 3: enfermedad severa.⁶

Clase 4: síndrome de la vena cava. Pronóstico desfavorable.⁶

Productos usados como adulticidas:⁶

Estado larvario	Nombre del fármaco	Dosis	Efectos adversos
Dirofilaria	Tiacetarsemida sódica:	2.2 mg kg cada 12 a intervalos de 8 horas durante 2 días.	Necrosis tisular, escarificación, tumefacción y dolor.
Dirofilaria	Dihidroclorhidrato de Melarsomina:	0.1mlKg	Necrosis tisular, hepatotoxicidad y nefrotoxicidad

Tratamiento contra las microfilarias

Estado larvario	Fármaco	Dosis
Microfilarias	Yoduro de ditiazanina	4.4 a 11 g/kg vía oral durante 7 días a 14 días previo a tratamiento adulticida y hasta 3 a 4 semanas después.
Microfilarias	Ivermectina	6ug/kg inmediato luego de tratamiento adulticida

Microfilarias	milbemicinaoxima	500ug-kg única dosis
---------------	------------------	----------------------

6

Evaluación post microfilaricida: Dos o tres semanas después del tratamiento Microfilaricida, se repite la búsqueda de microfilarias circulantes, si no se detecta ninguna, se puede iniciar el tratamiento profiláctico. Si aún quedan microfilarias, se administra una nueva dosis de avermectinas.⁶

Tratamientos auxiliares.⁶

Fármaco	Dosis
Acido salicico	5 mg./kg. Vía oral durante 7 a 14 días, previo tratamiento adulticidas y hasta 3 a 4 semanas después. ⁶
Prednisona	1 a 2 mg./Kg. vía oral, dividida en 2 veces al día en dosis creciente durante 7 a 14 días
Heparina	50 a 70 UI./Kg. subcutáneo cada 8 horas

6

Extracción quirúrgica de los parásitos:

Esta técnica está indicada en pacientes con síndrome de la vena cava, en aquellos que se ha observado un gran número de parásitos en la arteria pulmonar mediante una ecocardiografía y en los que es posible acceder a los vermes en la aurícula derecha y venas Cavas.⁶

La eliminación de parásitos tiene una efectividad de entre el 80 y el 100%, las lesiones en las estructuras cardiovasculares son mínimos.⁶

VII. Control Y Profilaxis

Durante la exposición de los perros a los mosquitos puede prevenirse el desarrollo del parásito adulto mediante el uso estratégico de microfilaricidas⁸, ya que el control de mosquitos es difícil, por lo que la profilaxis está casi totalmente basada en la medicación de los perros. La dietilcarbamicina ha sido ampliamente utilizada, administrada diariamente a los cachorros por vía oral a partir de los dos o tres meses de edad en la zona endémica. Este fármaco mata las larvas en desarrollo y evita los problemas consecutivos al tratamiento de las infecciones patentes y las microfilaremias. En zonas tropicales se administra durante todo el año mientras que en zonas templadas donde los mosquitos son estacionales el tratamiento se inicia un mes antes de la temporada de mosquito y finaliza dos meses después de que esta haya finalizado. Cuando el programa preventivo vaya a llevarse a cabo en perros adultos o después del tratamiento de un perro infectado, es muy importante asegurar que el perro no tenga microfilarias, puesto que la administración de dietilcarbamicina puede provocar reacciones anafilácticas en perros infectados. Una vez iniciado la profilaxis se debería realizar controles regulares cada 6 meses para descartar la presencia de microfilarias.⁵

Los métodos más recientes de prevención de la dirofilariosis están basados en la administración mensual de ivermectina o milbemicina durante la temporada de mosquitos; estos fármacos están especialmente formulados para perros con esta finalidad.⁵

VIII. MATERIALES Y METODOS

Diseño Metodológico:

Tipo de estudio: descriptivo transversal

Lugar de estudio: comunidades de Poneloya-Las Peñitas.

Universo estudio:

Caninos de Poneloya – Las Peñitas.

Población estudio:

448 caninos de Poneloya-Las peñitas según censo del Ministerio de Salud, centro de salud de Sutiava

Tipo de Muestreo

La unidad a muestrear fueron escogidos aleatoriamente.

Tamaño de la Muestra

Basado en el análisis del cálculo del tamaño de muestra por el programa WinEpiscope 2.0, Calcular proporción, de acuerdo a la información brindada por el centro de salud de Sutiava se estimó un tamaño de población de 448 caninos, con un nivel de confianza del 95% y una proporción esperada 6.2%, con un error absoluto 5% . Obteniendo una muestra 76 caninos de las diferentes comunidades de Poneloya-Las peñitas. Epi info se utilizó para la realización de base de datos. EndNote, utilizado para gestionar referencias bibliográficas.

Factores de inclusión

- ✓ Perros domésticos
- ✓ Mayores de 4 meses
- ✓ Hembras y machos
- ✓ De cualquier raza
- ✓ El propietario acepte realizar la prueba diagnóstica

Factores de exclusión

- ✓ Perros callejeros
- ✓ Perros menores de 4 meses de edad
- ✓ Que el propietario no acepte realizar la prueba diagnóstica.

Métodos

1. Métodos de campo:

Recolección de muestras. Para la recolección de muestras se recomienda seguir el siguiente protocolo: *Manual de la OIE sobre animales terrestres 2008* Toma de muestra en animales vivos.

1.2 Análisis de las muestras

Las muestras recolectadas fueron analizadas en el laboratorio de biopatología de la Escuela Veterinaria UNAN-León.

1.2.1. Frotis periférico: Técnica de los dos portaobjetos.

1.2.2. Técnica de Buffy Coat.

SNAP

Diagnóstico *in vitro* para la detección semicuantitativa del antígeno de *Dirofilaria immitis* (D. immitis) en sangre entera, suero o plasma canino o felino. El dispositivo SNAP es un inmunoensayo enzimático: después de añadir la mezcla de la muestra con el conjugado al pocillo de muestras, se activa el dispositivo, liberando los reactivos almacenados en el mismo. El desarrollo de color en los indicadores de niveles de antígeno es proporcional a la concentración de antígeno presente en la muestra.

Procedimiento de análisis

1. Si las muestras se han almacenado en frigorífico, dejar que todos los componentes alcancen la temperatura ambiente (15–25°C) durante 30 minutos. No calentar.
2. Utilizando la pipeta facilitada, introduzca 3 gotas de muestra en un nuevo tubo de muestra.
3. Manteniendo el frasco en posición vertical, añada 4 gotas de conjugado al tubo de muestra.
4. Tape el tubo de muestra y mézclelo bien invirtiéndolo 3–5 veces.
5. Coloque el dispositivo sobre una superficie horizontal. Añada todo el contenido del tubo de muestra en el pocillo de muestra, teniendo cuidado de que el contenido no salpique fuera del pocillo.

La muestra fluirá a través de la ventana de resultado hasta alcanzar el círculo de activación en 30–60 segundos. Parte de la muestra puede quedar en el pocillo de muestra.

6. En cuanto la muestra empiece a aparecer en el círculo de activación, pulse el botón activador con firmeza hasta que quede alineado con el cuerpo del dispositivo.
7. Lea el resultado del análisis al cabo de ocho minutos.

Resultado Positivo

La aparición de color en los puntos de la muestra indica un resultado positivo. La intensidad del color es proporcional a la concentración de antígeno de filaria en la muestra.

Niveles bajos de antígeno

Una cruz bien pronunciada

Niveles elevados de antígeno

Cuando presenta mas de dos cruces

Resultado Negativo

Sólo el punto del control positivo desarrolla color.

Resultados no válidos

1. Control negativo (garantía frente a falsos positivos) — Si el color en el punto del control negativo es igual o más oscuro al color en los puntos de muestra, el resultado es nulo y la muestra debe analizarse de nuevo.
2. No hay color — Si el control positivo no se colorea, repita el análisis.
3. Fondo — Si la muestra fluye más allá del círculo de activación, puede aparecer un color de fondo. Cierta color de fondo es normal. Sin embargo, si este color de fondo impidever claramente los resultados del análisis, repita el análisis.

Análisis comparativo	Tamaño de la muestra del Kit/Referencia					Tipo de Muestra	Sensibilidad y especificad relativas (Límite de confianza del 95%)		Estadística Kappa
	+/+	-/+	+/-	-/-	total		Sen.	de	
PetChek*Filaria	152	03	0	0103	0208	Suero/Plasma/ Sangre entera	98% (LC 95%)	94–100%)	0,98
							100% (LC 95%)	96–100%)	

Los valores de sensibilidad para filaria que se muestran en esta tabla se obtuvieron a partir de una población con distintos niveles de infestación. La sensibilidad en muestras de perros con infestaciones muy leves (≤ 2 filarias, $n=24$) fue del 91,7%; la sensibilidad analizada en muestras de perros con una carga >2 filarias fue del 99,2%.

Buffy Coat

El Buffy Coat cuantitativo es otra prueba directa y rápida para el diagnóstico de *D. immitis*. Se basa en tinción con naranja de acridina de muestras de sangre periférica centrifugada en un tubo de microhematocrito (QBC) y examen bajo fuente de luz UV (microscopía de fluorescencia).

Sistema de prueba QBC

La naranja de acridina mancha todas las células que contienen ácido nucleico y la fluorescencia asociada es observable bajo luz azul-violeta a través de un microscopio.

QBC se establece como una herramienta eficaz para diagnosticar parásitos de la sangre que causan la malaria, la filariasis y la leishmaniasis visceral.

Principio:

Los núcleos de los parásitos emiten fluorescencia verde amarillento mientras que el citoplasma exhibe fluorescencia roja brillante. Los glóbulos rojos no se tiñen por el colorante, por lo tanto permanecen discretos bajo luz fluorescente (fondo oscuro) mientras que los parásitos fluorescentes brillantes se ven fácilmente. Los contornos de los parásitos manchados están bien conservados y la morfología general es similar a la de los especímenes teñidos por la mancha de Giemsa.

Recolección de muestras: La muestra de sangre se puede recoger en pinchazo capilar o flebotomía en un frasco de etilendiamina (EDTA).

Acerca del tubo QBC:

El tubo capilar de vidrio QBC (Becton Dickinson) tiene 75 mm de longitud y 1,677 mm de diámetro. Los tubos se recubren internamente con EDTA y heparina en el extremo de llenado y con tinción de naranja de acridina y oxalato de potasio en el otro extremo.

Procedimiento:

1. Dibujar muestras de sangre (55 μ l) en el tubo QBC por acción capilar.

2. Girar los tubos durante 10 segundos para disolver los residuos contenidos en la sangre.
3. Inserte un inserto cilíndrico o un flotador de plástico que tenga una gravedad específica (1,055), es decir, a medio camino entre el plasma (1,028) y los glóbulos rojos (1,090) dentro de un tubo capilar recubierto de naranja de acridina.
4. Centrifugar los tubos a 12.000 g durante 5 minutos.

Después de la centrifugación, los componentes sanguíneos y los parásitos de la *D. immitis* se separan según la densidad y se concentran en capas distintas.

Nota: El flotador en virtud de su densidad se deposita sobre los glóbulos rojos concentrados centrifugados. Ocupa 90% del área de la sección transversal del tubo que ayuda a la expansión de las capas de células separadas por centrifugación. Está rodeada por tres capas discernibles y ahora medibles de la capa leucocitaria.

5. Inserte la prueba de *D. immitis* QBC centrifugada en el Paraviewer. Coloque el tubo de modo que el extremo del cierre se extienda sobre el área deprimida del soporte.
6. El área que rodea el flotador justo debajo de la capa leucocitaria se examinó bajo inmersión en aceite. Las células individuales dentro de esta capa se veían fácilmente por microscopía; Los parásitos de *D. immitis* se tiñen de verde (ADN) y naranja (ARN) bajo la luz azul-violeta.

IX. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De un total de 76 muestras recolectadas y analizadas, 34 resultaron positivas a *dirofilaria immitis spp* mediante la técnica de buffy coat (44.7%) Los casos positivos realizados por la técnica de buffy coat que posee una sensibilidad de 54%,

Tabla # 1.

Técnica Buffy Coat	Frecuencia	%	Porcentaje acumulado
No	42	55,26%	55,26%
Si	34	44,74%	100,00%
Total	76	100,00%	100,00%

Nuestro estudio no concuerda con lo citado ^(3,4 y 7) en los que se describió una prevalencia menor del 9.5%.

En la siguiente tabla se reflejan las 6 muestras a las que se realizó Buffy Coat y Snap, en la cual el resultado no es concluyente ya que el número de muestras es muy pequeño ya que las muestras se realizaron por conveniencia debido la falta de recursos económicos

Tabla # 2.

Positivas

Negativas

Snap	Buffy Coat	Snap	Buffy Coat
5	5	1	1

De las cinco pruebas realizadas que resultaron positivas al test Snap, tres de estas muestras resultaron con una carga positiva de antígeno alta, uno carga positiva media y uno con carga positiva baja. Ver imágenes en anexos (5)

Rayos x

En las tablas número #4 y #5 logramos observar que del total que se realizo la radiografía y ecografía los 3 presentaron miocardiopatías y 2/3 presentaron hipertrofia e insuficiencia cardiaca derecha.

Tabla #4	Diagnostico Radiográfico	
Casos	Vista Dorso Ventral	Vista Latero Lateral Izquierda
1.Rambo	-Aumento leve del ventrículo izquierdo.	-Aumento leve de la aurícula derecha. -Aumento leve del ventrículo izquierdo.
2.Neron	-Aumento leve del ventrículo izquierdo.	-Aumento leve del ventrículo derecho.
3.Pirata	-Aumento leve del ventrículo izquierdo.	-hay mayor contacto de la silueta cardiaca con el esternón. -Aumento leve del ventrículo izquierdo y derecho.

Según método de Buchanan (ver Anexos) (1). Observar imágenes en anexos (7)

Ecográfica.

Tabla#5

Casos	Diagnostico ecográfico
1.Rambo	-Disminución en el grosor de la pared libre del ventrículo izquierdo y derecho. -Disminución de la contractibilidad. -Disminución del septo interventricular derecho.

2.Neron	<ul style="list-style-type: none">-Aumento de la pared libre del ventrículo izquierdo.-Disminución del septo interventricular izquierdo.-Dilatación del ventrículo derecho.-Disminución de la contractibilidad en el ventrículo izquierdo y derecho.
3.Pirata	<ul style="list-style-type: none">-Aumento de la pared libre del ventrículo izquierdo.-Disminución del septo interventricular izquierdo.-Dilatación del ventrículo derecho.-Disminución de la contractibilidad en el ventrículo izquierdo y derecho.

Para mayor información observar las imágenes descritas en los anexos. (2). Observar imágenes en anexos (3) (4).

X. CONCLUSION:

La situación actual de *Dirofilariosis (Dirofilaria immitis)* en los perros de la comunidad Poneloya-Las Peñitas departamento de león fue significativa, arrojando una prevalencia del 44.7%; alta en comparación a lo descrito por otros autores.^{5, 6, 7, 9, 10}

Los casos positivos realizados por la técnica de Buffy Coat (sensibilidad 54%), obtuvo como resultado 34 muestras positivas, y cinco de estas muestras fueron tomados por conveniencias económicas y confirmadas por la prueba de Snap que posee el 95% de sensibilidad y especificidad a formas adultas de *D. immitis*.

Al realizar los métodos diagnósticos de radiografía y ultrasonido se encontró que todos tienen un aumento leve del ventrículo izquierdo y derecho asociado a la infección de *dirofilaria immitis* provocando hipertrofia e insuficiencia cardiaca derecha.

XI. RECOMENDACIONES:

Se recomiendan tanto al MINSA como a la UNAN-León realizar campañas profilácticas y terapéuticas contra la Dirofilariosis en los perros de zonas endémicas; previa realización de pruebas diagnósticas cuando se sospeche de la enfermedad.

Realizar campañas masivas de concientización e información sobre las implicaciones de la enfermedad a propietarios de mascotas.

A los médicos veterinario seguir el protocolo para eliminación de los parásitos en forma permanente e intensiva.

A la población disminuir las poblaciones de insectos vectores mediante la aplicación de agentes químicos, biológicos y físicos.

Difusión del saneamiento básico entre la población para disminuir así el contacto con vectores, tomar en cuenta medidas preventivas en el medio ambiente como la eliminación de depósitos de agua, control de los estadios inmaduros de los mosquitos por medio de tratamientos con larvicidas, control dentro de los hogares.

Utilizar tratamientos endoctecidas preventivos para las mascotas.

En este proyecto de investigación, no pretendemos complicar el diagnóstico, sino ajustarlo a la realidad existente y sobre todo hacer pensar al veterinario sobre la seguridad, que haciendo una sola prueba no existe diagnóstico exacto, hay que hacer pruebas complementarias como las antes mencionadas.

XII. BIBLIOGRAFIA

1. GONZÁLEZ-MORTEO, C., DE LA CRUZ-MORENO, O., ÁLVAREZ-GUERRERO, C., PEÑA-PARRA, B. & BORRAYO-GONZÁLEZ, J. 2015. *Dirofilaria immitis* prevalence in 11 municipalities of NAYARIT prevalencia de *Dirofilaria immitis* en 11 municipios de NAYARIT. *Abanico Veterinario*, 5, 42-48.
2. 2016a. *Dirofilaria immitis*: una zoonosis presente en el mundo :<http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:1RvIUFGwieEJ:www.scielo.org.co/pdf/rmv/n22/n22a07.pdf+&cd=1&hl=es&ct=clnk&gl=es>.
3. MOVILLA, R., GARCÍA, C., SIEBERT, S. & ROURA, X. 2016. Countrywide serological evaluation of canine prevalence for *Anaplasma* spp., *Borrelia burgdorferi* (sensu lato), *Dirofilaria immitis* and *Ehrlichia canis* in Mexico. *Parasites & Vectors*, 9, 421.
4. ÖNCEL, T. & VURAL, G. 2005. Seroprevalence of *Dirofilaria immitis* in stray dogs in Istanbul and Izmir. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 29, 785-789.
5. ALEXANDER 2016. *Parasitología Veterinaria Cordero.tif*.
6. GAJARDO, M.P.A.Z.M. *Dirofilaria immitis* enfermedad del gusano del corazón.
7. FERNÁNDEZ SANTOS, K. E. 2016. Diagnóstico de dirofilariosis en perros (*Canis familiaris*) de la ciudad de Guayaquil, a través de tres métodos de laboratorio.

8. GAJARDO, M. P. A. Z. M. *Dirofilaria immitis* ENFERMEDAD DEL GUSANO DEL CORAZÓN. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.

9. 2016a.

DIROFILARIA:http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:c2ohgQKiX_8J:www.norvet.com.mx/Memorias2011/DIROFILARIOSIS.doc+&cd=1&hl=es&ct=clnk&gl=ni.

10.2016b. Introducción la dirofilaria:
https://www.google.com.ni/?gws_rd=ssl#q=introduccion+la+dirofilaria+es+un+a+enfermedad+ocasionada+por+el.

XIII. ANEXOS

(1). Método de Buchanan: Se mide la distancia entre el borde ventral de la Carina y el vértice cardíaco (b) y se traslada a la columna vertebral, al límite craneal de la 4ª vértebra torácica, calculando a cuantos cuerpos vertebrales corresponde. Sobre el eje mayor del corazón que conformaba la anterior medida, se toma la perpendicular buscand el mayor eje transversal. Esta medida se traslada también, de igual forma, a la 4ª vértebra torácica. Se sumaran los valores de los correspondientes cuerpos vertebrales. Valores de referencia: 9.7 +/- 0.5.

(2).

Paciente	Ventrículo izquierdo del diámetro	Ventrículo izquierdo en sístole	Fracción de acortamiento	Interventricular en diástole	Interventricular en sístole	FWLVD	Pared libre de ventriculo izquierdo en sístole
Rambo	35,3	22,77	35,28	8,85	12,90	8,37	12,20
Nerón	22,00	32,83	29,94	8,93	10,40	10,80	16,57
Pirata	30,67	8.93	9,75	16,03	18,27
Referencia	44 , 1	32 , 5	25 , 3	10 , 6	13 , 4	12 , 13	15 , 3

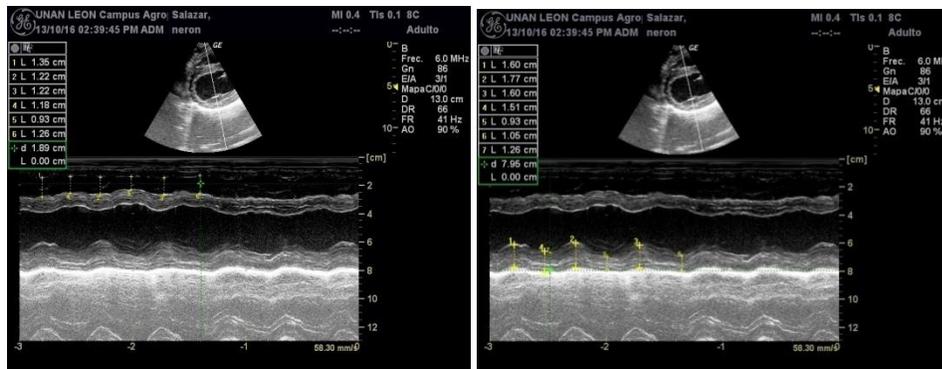
(3)



LVDd (mm)	LVDs (mm)	%FS	IVSd (mm)	IVSs (mm)	FWLVd (mm)	FWLVs (mm)
35.03	22.67	35.28	8.85	12.90	8.37	12.20

LVDd: diámetro del ventrículo izquierdo en diástole. LVDs: diámetro del ventrículo izquierdo en sístole. %FS: Fracción de acortamiento. IVSd: Septo interventricular en diástole. IVSs: Septo interventricular en sístole. FWLVd: Pared libre del ventrículo izquierdo en diástole. FWLVs (Pared libre del ventrículo izquierdo en sístole.

Rambo.



LVDd (mm)	LVDs (mm)	%FS	IVSd (mm)	IVSs (mm)	FWLVd (mm)	FWLVs (mm)
23.00	32.83	29.94	8.93	10.40	10.80	16.57

LVDd: diámetro del ventrículo izquierdo en diástole. LVDs: diámetro del ventrículo izquierdo en sístole. %FS: Fracción de acortamiento. IVSd: Septo interventricular en diástole. IVSs: Septo interventricular en sístole. FWLVd : Pared libre del ventrículo izquierdo en diástole. FWLVs (Pared libre del ventrículo izquierdo en sístole.

Pirata.



IVSd (mm)	IVSs (mm)	FWLVd (mm)	FWLVs (mm)
8.93	9.75	16.03	18.27

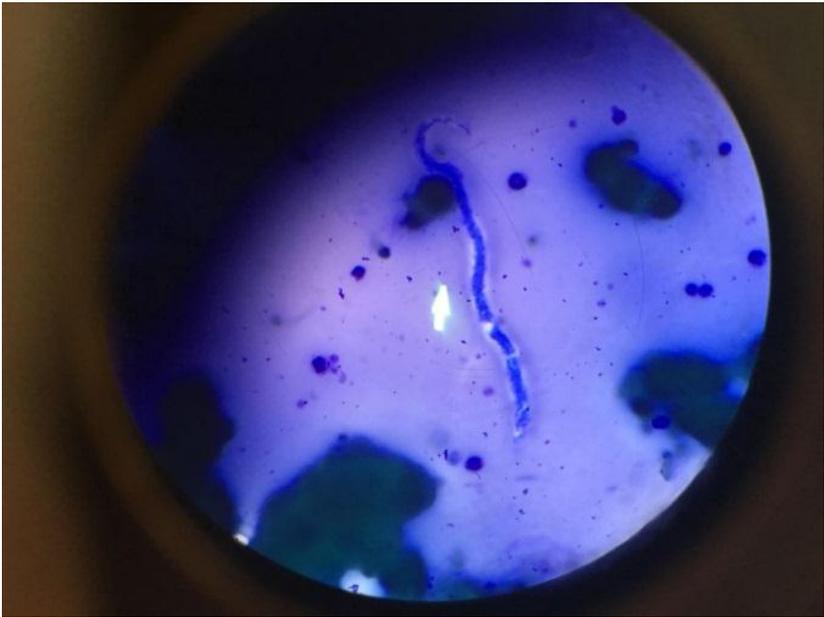
LVDd: diámetro del ventrículo izquierdo en diástole. LVDs: diámetro del ventrículo izquierdo en sístole. %FS: Fracción de acortamiento. IVSd: Septo interventricular en diástole. IVSs: Septo interventricular en sístole. FWLVd : Pared libre del ventrículo izquierdo en diástole. FWLVs (Pared libre del ventrículo izquierdo en sístole.

(4).



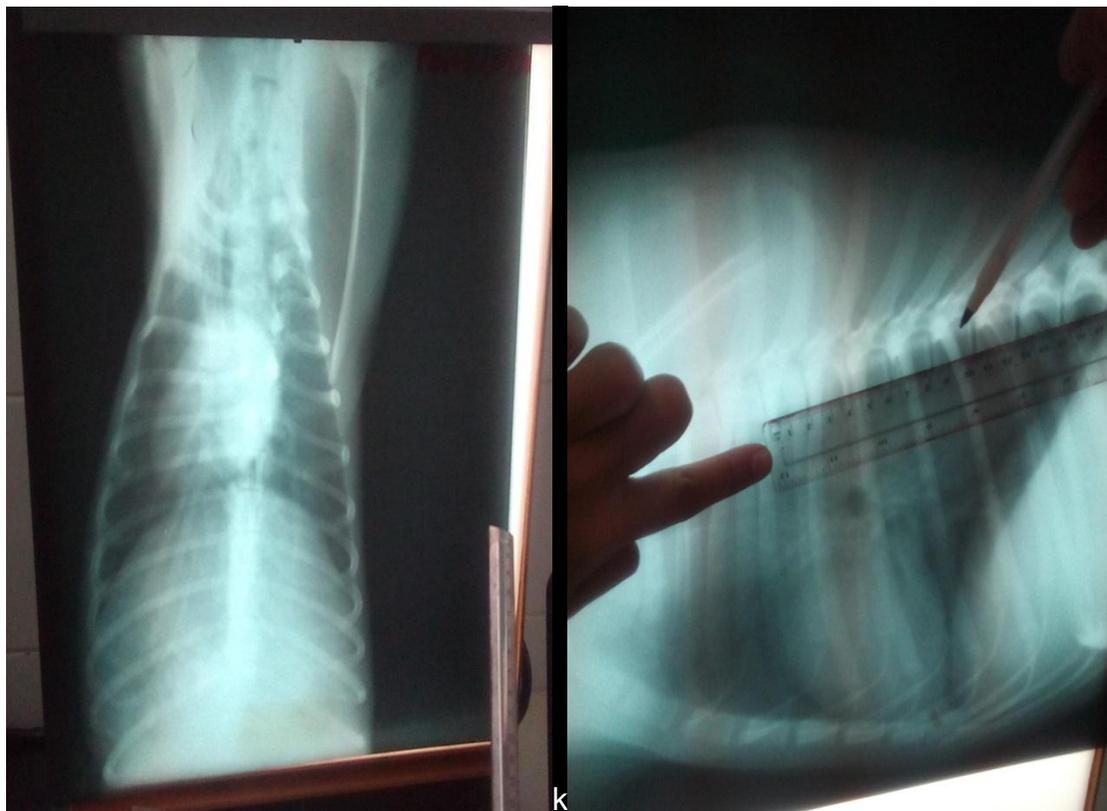


(5)

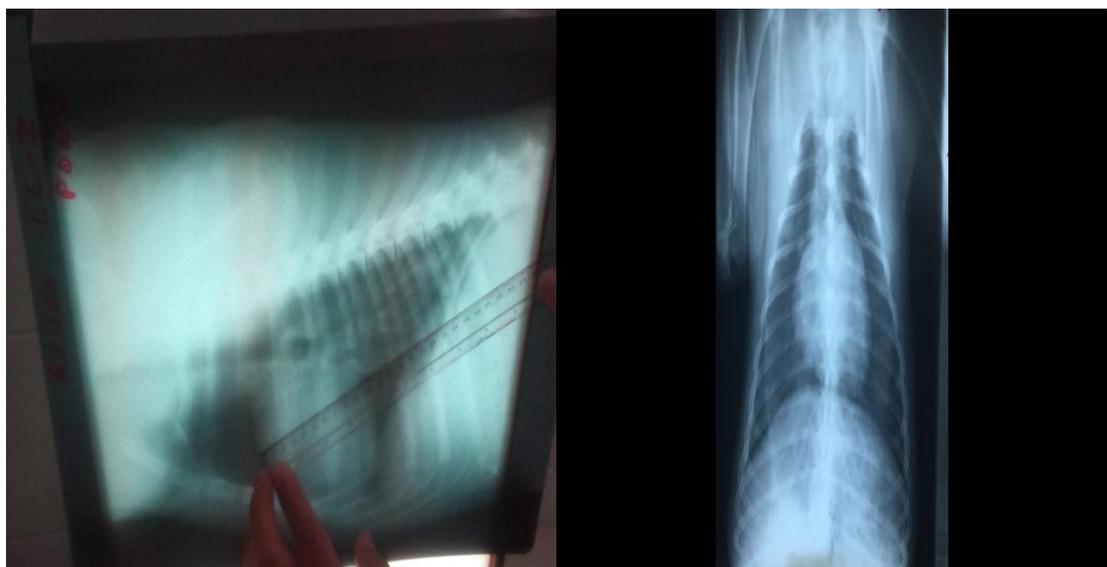


(6)

(7).vista dorso ventral y latero lateral izquierdo, nerón.



Vista dorso ventral y latero lateral izquierdo, Rambo.



Vista dorso ventral y latero lateral izquierdo

