



UNIVERSIDAD
NACIONAL
AGRARIA

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
FACULTAD DE CIENCIA ANIMAL
DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINARIA**

Trabajo Graduación

**Prevalencia de *Dirofilaria immitis*,
identificada con el método de gota gruesa, en
pacientes caninos atendidos en Veterinaria
Valverde, Managua, enero-abril 2019.**

Autores:

Br. Daniela María Álvarez Lazo
Br. Lesvin Francisco Kauffman Ramírez

Asesoras:

Dra. Karla Marina Ríos Reyes
Dra. Deborah Valverde Centeno

**Managua, Nicaragua
18 de octubre, 2019**

Este trabajo de graduación fue evaluado y aprobado por el honorable tribunal examinador designado por la Decanatura de **la Facultad de Ciencia Animal** de la Universidad Nacional Agraria, como requisito parcial para optar al título profesional de:

Médico Veterinario
En grado de Licenciatura

Miembros del Tribunal Examinador:

Dr. Mauricio Silva Torres MSc
Presidente

Dra. Freda Ramírez Gutiérrez
Secretaria

18 de octubre del 2019

INDICE DE CONTENIDO

SECCIÓN	PÁGINA
DEDICATORIA	i
AGRADECIMIENTOS	ii
AGRADECIMIENTOS	iii
ÍNDICE DE CUADROS	iv
ÍNDICE DE GRAFICOS	v
INDICE DE FIGURAS	vi
INDICE DE ANEXOS	vii
RESUMEN	viii
ABSTRACT	ix
I. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVOS	3
Objetivo general	3
Objetivos específicos	3
III. METODOLOGIA	4
3.1. Ubicación del área del estudio	4
3.2. Diseño metodológico	4
3.3. Manejo del ensayo	4
3.4. Variables evaluadas	5
3.4.1. Prevalencia	5
3.4.2. Comparación de técnica	6
3.4.3. Efectos a nivel sanguíneo provocados por <i>Dirofilaria immitis</i>	6
3.4.4. Factor trashumancia que favorece la transmisión de la enfermedad	7
3.5. Recolección de datos	7
3.5.1. Fase de campo	7
3.5.1.1. Toma de muestras	8
3.5.2. Fase de laboratorio	8
3.5.2.1. Diagnóstico de <i>Dirofilaria immitis</i>	9
3.5.2.1.1. Pruebas de microfilarias	9
3.5.2.1.2. Examen gota gruesa	9
3.5.2.1.3. Inmunocromatografía	10
3.5.2.1.3.1. Pruebas de antígenos	10
3.5.2.1.3.2. Procedimiento para realizar prueba de Inmunocromatografía	11

3.5.2.1.4. Biometría Hemática Completa (BHC)	11
3.5.2.1.4.1. Técnica Wright	11
3.5.2.1.4.2. Procedimiento para la elaboración de Biometría Hemática Completa	11
3.5.2.1.4.3. Tinción Diff-Quick	12
3.5.2.1.4.4. Procedimiento para la realización de la tinción Diff-Quick	12
3.6. Análisis de datos	12
3.7. Materiales y equipos	13
IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES	14
4.1. Presencia de microfilarias asociadas a <i>Dirofilaria immitis</i> , a través del uso de la técnica de gota gruesa	14
4.2. Prevalencia de <i>Dirofilaria immitis</i> en los caninos atendidos en Veterinaria Valverde, mediante la utilización del método de gota gruesa	16
4.3. Análisis comparativo entre las técnicas de Inmunocromatografía vs frotis sanguíneo	18
4.4. Valoración de las alteraciones provocadas por dirofilariasis, en el tejido sanguíneo a través de exámenes hematológicos (BHC y Plaquetas)	23
4.5. Valoración del factor trashumancia sobre la trasmisión de la enfermedad	26
V. CONCLUSIONES	28
VI. RECOMENDACIONES	29
VII. LITERATURA CITADA	30
VIII. ANEXOS	33

DEDICATORIA

El presente trabajo investigativo lo dedicamos principalmente a Dios, por habernos dado la vida y permitirnos haber llegado hasta este momento tan importante de nuestra formación profesional, por bendecirnos y darnos las fuerzas necesarias para no desfallecer en el proceso.

A nuestros padres que, con su apoyo incondicional, amor y confianza permitieron que lográramos culminar nuestra carrera profesional.

AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi gratitud a Dios, quien con su bendición llena siempre mi vida, a mis padres y hermanos que con su esfuerzo y dedicación me ayudaron a culminar mi carrera universitaria, por brindarme el apoyo suficiente para no decaer cuando todo parecía complicado e imposible, por ser ejemplo de trabajo, honradez y perseverancia, por ser el motor que me impulsa a salir adelante día a día.

A mi asesora Dra. Karla Ríos a quien admiro y respeto mucho por haber sido un gran ejemplo profesional durante mis estudios, y por haber aportado sus conocimientos, tiempo y paciencia en la elaboración de esta tesis; definitivamente sin su ayuda no hubiese sido posible la culminación de ésta.

De manera especial a la Dra. Deborah Valverde por haberme guiado en todo momento, no solo en la elaboración de este trabajo de titulación, sino a lo largo de mi carrera universitaria, haberme brindado el apoyo para desarrollarme profesionalmente y seguir cultivando mis valores profesionales y personales.

A la Dra. Jennifer Martínez por su apoyo incondicional en el área laboratorial, por regalarnos su tiempo y conocimientos que sin duda alguna fueron imprescindibles en el desarrollo de nuestra tesis.

Daniela María Álvarez Lazo

AGRADECIMIENTOS

Mi más sincera gratitud hacia mi Dios, Jehová, quien ha derramado una infinidad de bendiciones en mi vida y una de ellas es el logro de la finalización de este estudio; a mi madre Rosa Ramírez y hermana Jennifer Kauffman quienes con gran sacrificio y dedicación me impulsaron y apoyaron para culminar mis estudios y llegar a profesionalizarme, por aconsejarme y que no desistiera cuando todo se complicaba, por inculcarme valores para ser una persona fuerte y perseverar, ante todo.

A la Dra. Karla Ríos quien fue mi asesora, por quien siento un gran respeto y admiración, por haberme brindado su conocimiento, tiempo y paciencia durante mi tiempo como universitario y elaboración de esta tesis.

A la Dra. Deborah Valverde y Dra. Jennifer Martínez por apoyarnos incondicionalmente en el laboral de esta tesis, por brindarnos su apoyo, experiencia y conocimientos.

Lesvin Francisco Kauffman Ramírez

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO	PAGINA
1. Comparación de técnica de frotis sanguíneo e inmunocromatografía	6
2. Efectos a nivel sanguíneo provocados por <i>Dirofilaria immitis</i>	6
3. Evaluación de la disminución de plaquetas	7
4. Efectos a nivel sanguíneo provocados por <i>Dirofilaria immitis</i>	18
5. Evaluación de la disminución de plaquetas	23
6. Comparación de técnica de frotis sanguíneo e inmunocromatografía	23

ÍNDICE DE GRAFICOS

GRAFICO	PAGINA
1. Prevalencia	16

INDICE DE FIGURAS

FIGURA	PAGINA
1. Microfilarias asociadas a <i>Dirofilaria immitis</i> identificadas a través de examen de gota gruesa	14
2. Resultado del test serológico para el diagnóstico de <i>Dirofilaria immitis</i>	19
3. Microfilarias asociadas a <i>Dirofilaria immitis</i> vistas a través del microscopio con la tinción de Wright a la izquierda y Diff-Quick a la derecha	21
4. Trashumancia	26

INDICE DE ANEXOS

ANEXOS	PAGINA
1. Microfilarias de <i>Dirofilaria immitis</i> a través de examen de gota gruesa	33
2. Microfilarias de <i>Dirofilaria immitis</i> fijadas en tinción de Wrigth, observadas a través del microscopio con objetivos 40x y 100x.	33
3. Anigen Caniv-4Kit y resultados del test serológico para el diagnóstico de <i>Dirofilaria immiti</i> .	34
4. Resultados de Biometría Hemática Completa de paciente Lucy	34
5 Resultados de Biometría Hemática Completa de paciente Lulú	35
6. Resultados de Biometría Hemática Completa de paciente Nick	36
7. Resultados de Biometría Hemática Completa de paciente Terry	37
8. Veterinaria Valverde	38
9. Área de laboratorio clínico Veterinaria Valverde	38
10. Observación de muestra en fresco	39
11. Observación de muestra con técnica de gota gruesa en objetivo 40x	39

RESUMEN

El objetivo de la presente investigación fue evaluar la prevalencia de *Dirofilaria immitis* en los caninos atendidos en Veterinaria Valverde, mediante la utilización del método de gota gruesa. Es un estudio descriptivo transversal no experimental, se muestrearon todos los pacientes con sintomatología asociada a hemoparásitos, llenando sus respectiva ficha clínica y efectuando la observación de la extensión de sangre en fresco (gota gruesa) en todos los pacientes seleccionados, con el fin de determinar la presencia de microfilarias asociadas a *Dirofilaria immitis*, muestreando un total de 113 pacientes, comparando los resultados obtenidos de la técnica de gota gruesa con frotis sanguíneo e inmunocromatografía. Obteniendo la identificación de microfilarias en 4 pacientes a través de la técnica de gota gruesa. La prevalencia de *Dirofilaria immitis* en los caninos atendidos en Veterinaria Valverde fue del 3.54 %. Al comparar el resultado de la técnica de gota gruesa con la técnica de frotis sanguíneo se logró la fijación de las larvas de *Dirofilaria immitis* en los 4 pacientes, confirmando el diagnóstico, pero en el caso de inmunocromatografía los 4 pacientes resultaron negativos. Las principales alteraciones encontradas en la Biometría Hemática Completa y recuento plaquetario, fueron: leucosis, leucopenia, neutrofilia, linfopenia, anemia, linfocitosis, eosinofilia y trombocitopenia. De los pacientes positivos a *Dirofilaria Immitis*, 2 realizaron trashumancia ya que procedían de zonas costeras. Concluyendo que la técnica de gota gruesa permite la identificación de microfilarias de *Dirofilaria immitis*. La prevalencia fue baja (3.54%), en relación a la obtenida por Flores y Salazar (2016) que fue de un 44.7%. El análisis comparativo nos permite corroborar la existencia del agente parasitario, aunque en el caso de la inmunocromatografía el grado de sensibilidad va ligado a la carga de microfilarias y a la presencia de hembras grávidas. A través de la realización del BHC se pueden identificar las alteraciones hematológicas provocadas por dirofilariasis. La trashumancia es uno de los factores que debe ser tomado en cuenta al momento de la sospecha de esta enfermedad.

Palabras claves: Dirofilaria, Inmunocromatografía, Biometría Hemática Completa, Gota Gruesa, microfilaremia.

ABSTRACT

The objective of this research was to evaluate the prevalence of *Dirofilaria immitis* in canines treated at Veterinaria Valverde, through the use of the thick drop method. It is a non-experimental descriptive cross-sectional study, all patients with hemoparasite-associated symptoms were sampled, filling their respective clinical record and observing the extent of fresh blood (thick drop) in all selected patients, in order to determine the presence of microfilariae associated with *Dirofilaria immitis*, sampling a total of 113 patients, comparing the results obtained from the technique of thick gout with blood smear and immunochromatography. Obtaining the identification of microfilariae in 4 patients through the technique of thick gout. The prevalence of *Dirofilaria immitis* in canines treated at Veterinaria Valverde was 3.54%. When comparing the result of the thick gout technique with the blood smear technique, the fixation of *Dirofilaria immitis* larvae was achieved in the 4 patients, confirming the diagnosis, but in the case of immunochromatography the 4 patients were negative. The main alterations found in Complete Blood Count and platelet count were: leukocytosis, leukopenia, neutrophilia, lymphopenia, anaemia, lymphocytosis, eosinophilia and thrombocytopenia. Of the patients positive to *Dirofilaria Immitis*, 2 performed transhumance since they came from coastal areas. Concluding that the thick drop technique allows the identification of microfilariae of *Dirofilaria immitis*. The prevalence was low (3.54%), in relation to that obtained by Flores and Salazar (2016), which was 44.7%. The comparative analysis allows us to corroborate the existence of the parasitic agent, although in the case of immunochromatography the degree of sensitivity is linked to the burden of microfilariae and the presence of gravid females. Through the performance of the CBC, hematological alterations caused by dirofilariasis can be identified. Transhumance is one of the factors that must be taken into account when suspecting this disease.

Key words: *Dirofilaria*, Immunochromatography, Complete Blood Count, Thick Drop, microfilaraemia

I. INTRODUCCIÓN

La dirofilariosis canina también conocida como la enfermedad del gusano del corazón, es una entidad patológica parasitaria producida por *Dirofilaria immitis* que afecta a caninos domésticos y salvajes, así como a felinos y humanos (Echeto, Simoes, Camacho, Vale, Oviedo, 2005). La localización de estos parásitos, principalmente en arterias pulmonares y el corazón de los hospedadores definitivos, causan una enfermedad cardiopulmonar crónica con consecuencias severas para el animal, ocasionalmente puede afectar al hombre. (Ribicich y Cardillo)

Es transmitida por mosquitos de los géneros *Aedes*, *Anopheles*, *Culex* y *Taeniorhynchus* (humanos), 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. (Sánchez, Calvo y Mutis, 2011)

En 1995, el equipo de investigación de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad de Milán dirigido por el Prof. Claudio Genchi, redescubrió la presencia de bacterias endosimbiontes del género *Wolbachia* en las diversas fases evolutivas de *Dirofilaria immitis*. Las investigaciones que han seguido a este importante descubrimiento están aportando datos que evidencian, cada vez con mayor claridad, la participación de *Wolbachia* en procesos clave como la patología inflamatoria y la polarización de la respuesta inmune del hospedador, aspectos que como se señala anteriormente requieren un conocimiento más profundo. (Morchón, 2008)

Morchon (2008) citando a Knight (1995), establece que el diagnóstico de la filariosis cardiopulmonar en el perro se basa en la identificación de antígenos circulantes del parásito adulto y de las microfilarias circulantes en muestras de suero y sangre respectivamente. Posteriores procedimientos diagnósticos son necesarios para determinar la gravedad de la enfermedad y la pauta terapéutica.

La dirofilariosis implica un riesgo para la población animal canina nicaragüense que se estima aproximadamente en 700 mil perros, según el Ministerio de Salud (MINSAL) en el año 2016, población mayormente comprendida por perros callejeros, quienes son los más vulnerables y susceptibles a ser afectados por esta enfermedad. (Radio Ya, 2016)

La consideración que requiere la zoonosis, más allá de la sola propuesta para su valoración en términos de su morbilidad y mortalidad, implica también generar y ofrecer alternativas viables para su atención desde una perspectiva integral, que más allá de una casuística, considere sus determinantes. Esto permitiría, sobre bases más reales, aspirar a alcanzar logros más significativos en cuanto a su control, prevención y erradicación. (Matamoros, Sanín y Santillana, 2000)

Por ser una enfermedad parasitaria con gran impacto en la salud animal y los estudios que demuestran su presencia en Nicaragua, surge la necesidad de evaluar la prevalencia en una zona determinada de Managua, donde se han presentado casos clínicos positivos a Dirofilariosis canina, implementando exámenes complementarios para lograr llegar a un diagnóstico definitivo, aportando información importante para el conocimiento sobre la enfermedad, tratamiento y factores que favorecen la diseminación y presencia de la misma, dirigido principalmente a futuros profesionales, médicos veterinarios, profesionales clínicos de pequeñas especies, así mismo personas interesadas en el tema.

Es importante que los Médicos Veterinarios Nicaragüenses tengamos una mejor percepción de una parasitosis de índole mundial, que además es una zoonosis asintomática y, más aún, con la existencia de ella en el país aumenta la posibilidad de diseminarse en todo el territorio. Igualmente es prioridad como profesional de la salud estar capacitado para enfrentar una enfermedad emergente, saber controlarla y convertirla en un mal menor.

II. OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar la prevalencia de *Dirofilaria immitis* en los caninos atendidos en Veterinaria Valverde, mediante la utilización del método de gota gruesa.

Objetivos específicos

Identificar la presencia de *Dirofilaria immitis*, a través del uso de la técnica de gota gruesa, en los pacientes atendidos.

Comparar los resultados obtenidos entre las técnicas de Inmunocromatografía vs frotis sanguíneo para el diagnóstico confirmativo a dirofilariasis.

Valorar las alteraciones provocadas por dirofilariasis, en el tejido sanguíneo a través de exámenes hematológicos (BHC y Plaquetas).

Valorar la trashumancia como factor que favorece la transmisión de la enfermedad

III. METODOLOGIA

3.1. Ubicación del área del estudio

El estudio se realizó del mes de enero de 2019 a abril 2019, se llevó a cabo en Veterinaria Valverde, ubicada en la ciudad de Managua, Barrio Villa Libertad, terminal de buses 116, 30 varas al oeste, cuya geoposición siguiente es: 12°06'47.4" Norte y 86°12'11.3" Oeste. Fuente: Google maps.

La clínica está ubicada a una altura de 134 msnm, comprendido en zona poblada, con temperatura promedio anual de 27.4° C, con precipitación promedio anual de 1143 mm y humedad relativa más baja de 61% en abril y la más alta de 83% en octubre.

3.2. Diseño metodológico

Se realizó un estudio descriptivo transversal no experimental, en el cual se determinó la prevalencia de *Dirofilaria Immitis* en Clínica Veterinaria Valverde, se muestrearon todos los pacientes con sintomatología asociada a hemoparásitos, posteriormente se realizó el llenado de su respectiva ficha clínica, se procedió a realizar la observación de la extensión de sangre en fresco (gota gruesa) en todos los pacientes seleccionados, siendo un total de 113 pacientes, no obstante, los pacientes en los cuales se observó la presencia de microfilaremia, se procedió a realizar BHC e inmunocromatografía.

3.3. Manejo del ensayo

3.3.1. Condiciones en las que se realizó el estudio

Para el estudio se procedió a trabajar con los caninos en edades de tres meses a ocho años que fueron atendidos en la clínica, se seleccionaron los que presentaban sintomatología compatible con hemoparásitos (epistaxis, ascitis, edema, mucosas pálidas o ictéricas, petequias abdominales, intolerancia al ejercicio), en ellos se realizaron los siguientes procedimientos:

- **Elaboración de fichas de registro para los pacientes**, se incluyeron los datos siguientes: fecha, paciente, raza, edad, sexo, tipo de muestra, propietario.

- **Elaboración de hoja de consentimiento**, se diseñó una hoja de consentimiento que fue firmada por el propietario del canido, para incluir los exámenes del paciente al estudio.
- **Toma de muestra de sangre**, primeramente, se extrajo muestra de la vena cefálica para realizar la prueba de gota gruesa, seguido de una muestra de sangre periférica en los pacientes positivos a microfilaremia, para la realización de frotis sanguíneo (cara externa de la oreja, vena marginal).
- **Procesamiento de muestras**, las muestras obtenidas fueron procesadas en el laboratorio clínico de Veterinaria Valverde por la doctora encargada de dicha área.

3.4. Variables evaluadas

3.4.1. Prevalencia

Prevalencia: proporción de individuos de una población que padecen una enfermedad en un momento o periodo de tiempo determinado. Para su cálculo se utilizó la siguiente fórmula:

Fórmula de Prevalencia

$$P = \frac{\text{Número de casos positivos a microfilaremia}}{\text{Total pacientes muestreados}} \times 100$$

Total pacientes muestreados

(Moreno, López y Corcho, 2000)

Se muestrearon 113 pacientes de los que llegaron a la clínica, excluyendo todos aquellos que no presentaban sintomatología asociada a hemoparásitos, en el período del mes de enero a marzo del 2019.

3.4.2. Comparación de técnica

Se compararon los resultados obtenidos en los diferentes métodos diagnósticos, como son frotis e inmunocromatografía, utilizando simbología de positivo y negativo.

Cuadro 1. Comparación de técnica de frotis sanguíneo e inmunocromatografía

Pacientes positivos Gota gruesa	Frotis		Inmunocromatografía	
	+	-	+	-
Lucy				
Nick				
Lulú				
Terry				

3.4.3. Efectos a nivel sanguíneo provocados por *Dirofilaria immitis*

Se evaluaron las alteraciones encontradas en la Biometría hemática completa (BHC), que normalmente provocan las larvas o microfilarias de *Dirofilaria immitis*.

Cuadro 2. Efectos a nivel sanguíneo provocados por *Dirofilaria immitis*

BHC										
Pacientes	Leucocitos	Hematocrito	Hemoglobina	Eritrocitos	N. segmentado	Linfocitos	Monocitos	Eosinófilos	Basófilos	N. en banda
Lucy										
Nick										
Lulú										
Terry										

Se evaluó la disminución de plaquetas debido a la presencia de la asociación de *Dirofilaria immitis* y *Wolbachia pipientis*.

Cuadro 3. Evaluación de la disminución de plaquetas

Pacientes	Plaquetas	Valores de referencia
Lucy		
Nick		
Lulú		200, 000-500, 000
Terry		

3.4.4. Factor trashumancia que favorece la transmisión de la enfermedad

Historia clínica /anamnesis

3.5. Recolección de datos

Para el procesamiento de la información se diseñó un formato de recolección de datos, el cual incluye los siguientes: fecha, paciente, raza, edad, sexo, tipo de muestra, propietario.

3.5.1. Fase de campo

Se seleccionaron pacientes de los que acuden a la clínica a pasar consulta, con signos aparentes asociados a hemoparásitos (epistaxis, ascitis, edema, mucosas pálidas o ictericas, petequias abdominales, intolerancia al ejercicio), se ingresaron los datos en las fichas clínicas diseñadas para este fin y posteriormente se procedió a la extracción de la muestra sanguínea periférica.

3.5.1.1.Toma de muestras

Se colectaron muestras de sangre de los caninos seleccionados, sin distinción de sexo o raza y cuyas edades varíen desde 3 meses a 8 años. Se extrajo 1 ml de sangre periférica con jeringas estériles de insulina para posteriormente depositarlo en vacutainers con anticoagulante, las muestras se procesaron en el Laboratorio Clínico de Veterinaria Valverde.

Gota gruesa (vena marginal): Se procedió a realizar depilación del área con máquina eléctrica, usado cuchilla número 40, se desinfectó el área con alcohol al 70% y algodón, se extrajo de 2-4 gotas de sangre de muestra, cara externa de la oreja.

Gota gruesa (vena cefálica): Se procedió a realizar depilación del área con máquina eléctrica, usado cuchilla número 40, se desinfectó el área con algodón y alcohol al 70%, se realizó la extracción de muestra de sangre periférica (1ml), utilizando jeringas de insulina, se depositó la muestra recolectada en un tubo vacutainers con EDTA, se identificó la muestra y posteriormente se llevó a refrigeración para posteriormente realizar prueba de gota gruesa.

3.5.2. Fase de laboratorio

Los pacientes positivos a microfilaremia fueron citados nuevamente, para posteriormente tomar una nueva muestra de sangre de circulación central (vena cefálica), Se procedió a realizar depilación del área con máquina eléctrica, usado cuchilla número 40, se desinfectó el área con algodón y alcohol al 70%, se colocó el torniquete y posteriormente se extrajo la muestra con jeringa de insulina y se depositó el contenido en vacutainers estériles, identificación de la muestra para remitirla al laboratorio.

3.5.2.1. Diagnóstico de *Dirofilaria immitis*

3.5.2.1.1. Pruebas de microfilarias

AMERICAN HEARTWORM SOCIETY (2014), menciona que Rawlings (1986), indico que la mayoría de los perros microfilarémicos pueden detectarse examinando con el microscopio una gota de sangre fresca bajo un cubreobjetos en busca de microfilarias. Y que Georgi & Georgi (1992), afirman que estos son métodos de pruebas no sensibles cuando hay presentes bajos números (50–100/mL) de microfilarias; dichos pacientes presentan un riesgo menor de reacción grave tras la administración de un microfilaricida y es menos probable que supongan amenaza de convertirse en reservorios de la infección.

Es efectivo en los casos en que haya más de 1.000 microfilarias por mililitro de sangre (Rodriguez, 1990). Todos los perros deberían ser sometidos a pruebas de microfilarias. La microfilaremia da validez a los resultados serológicos, diagnostica si se deben administrar a un perro complejos de antígenos anticuerpos (sin antígenos detectados en las pruebas de antígenos), identifica al paciente como reservorio de la infección y alerta al veterinario de una alta carga de microfilarias, que pueden precipitar una reacción grave tras la administración de un microfilaricida. (AMERICAN HEARTWORM SOCIETY, 2014)

3.5.2.1.2. Examen gota gruesa

Se depositó una gota de sangre fresca (con anticoagulante) entre el porta y el cubre objetos, examinándose al microscopio con luz poco intensa. La existencia de microfilarias (larvas tipo 1) es observada por los activos movimientos de estas entre los elementos formes. (Orozco, Arango y Cardona, 2006)

3.5.2.1.3. Inmunocromatografía

3.5.2.1.3.1. Pruebas de antígenos

AMERICAN HEARTWORM SOCIETY (2014), citando a Atkins (2003); Courtney y Zeng, (2001); Lee, Bowman, Lucio-Foster, Beall... (2011); McCall, Carmichael, Dicosy, y Mansour, (2001), mencionan que las técnicas de inmunocromatografía, son un sistema disponible utilizado para detectar antígenos de *Dirofilaria immitis* en circulación sanguínea, identifica la mayoría de infecciones “ocultas” (presencia de gusanos adultos, pero sin microfilarias en circulación), consistentes en, como mínimo, un gusano hembra maduro, y son precisas casi al 100%. Existen diferencias en la sensibilidad especialmente en casos con bajas cargas de gusanos y/o baja antigenemia.

Para obtener resultados fiables, las pruebas de antígenos deben realizarse en estricto cumplimiento con las instrucciones del fabricante. La precisión de todas las pruebas de dirofilaria en condiciones sobre el terreno se ve influenciada por el cumplimiento de las instrucciones y el almacenamiento y manejo del kit de pruebas y las muestras. Los resultados falso-negativo en las pruebas suceden con más frecuencia cuando las infecciones son leves, los gusanos hembra son aún inmaduros, únicamente hay gusanos macho presentes. (AMERICAN HEARTWORM SOCIETY, 2014)

AMERICAN HEARTWORM SOCIETY (2014), menciona que Velásquez, Blagburn, Duncan-Decoq, Johnson... (2014), afirman que se han documentado casos de complejos antígenos-anticuerpos interfiriendo con las pruebas de antígenos, dando como resultado pruebas falso negativo. Estudios realizados en laboratorio han demostrado que calentar suero descompone estos complejos, libera antígenos y dan como resultado unos resultados más precisos.

3.5.2.1.3.2. Procedimiento para realizar prueba de Inmunocromatografía

- Colección y preparación de la muestra, se extrajo 0.5 ml de sangre de la vena cefálica anterior con instrumentos estériles tales como vacutainers con anticoagulante (EDTA).
- Adición y carga de la muestra: se colocaron 2 gotas pequeñas de sangre sin sobrecargar la muestra.
- Se esperó una completa absorción de la muestra.
- Lectura e interpretación de los resultados 10 minutos posteriores a la adición de la muestra.

3.5.2.1.4. Biometría Hemática Completa (BHC)

3.5.2.1.4.1. Técnica Wright

Denominada tipo Romanowsky, se basa en el uso combinado de los colorantes eosina y azul de metileno, es ideal para evaluar la morfología celular de los hematíes leucocitos y plaquetas y es muy buena para la identificación de los gránulos citoplasmáticos. (Pérez, Estepa y Mendoza, 2011)

3.5.2.1.4.2. Procedimiento para la elaboración de Biometría Hemática Completa

Fijación de la muestra: La fijación de la muestra se realiza agregando unas gotas de metanol y se deja secar durante 3 minutos.

Tinción de la muestra: Tinción con el reactivo de Wright

- Agregar la tinción de forma homogénea hasta cubrir la muestra por completo
- Luego con una piceta se agrega 1ml agua destilada y se homogeniza
- Dejar reposar la muestra con la tinción durante 5 minutos.
- Aclarar la muestra con 3ml de agua destilada
- Secar la muestra al aire libre
- Observar al microscopio con objetivo 100X en aceite de inmersión
- (Protocolo Laboratorio Clínico Veterinaria Valverde, 2018)

3.5.2.1.4.3. Tinción Diff-Quick

Tinción tipo Romanowsky, método práctico y rápido y muy usado como colorante eficaz de glóbulos rojos y células epiteliales. Además, permite que las muestras sean fijadas y guardadas para un estudio posterior, esta técnica aporta un buen detalle celular, buena diferenciación de organelas citoplasmáticas y un detalle nuclear aceptable (Universidad de Córdoba). La técnica de Diff-Quick®, consiste en tres soluciones: un fijador alcohol metilo, una solución acuosa de eosina y una solución acuosa de azul metileno. (Fernández, Fernández, López, Sainz y Barrero, 2009)

3.5.2.1.4.4. Procedimiento para la realización de la tinción Diff-Quick

- Disponer los colorantes en recipientes debidamente identificados: N°1, N°2 y N°3
- Sumergir la muestra durante 5 segundos (5 inmersiones de 1 segundo cada una) en el recipiente N°1(Fijador)
- Sumergir, a continuación, otros 5 segundos (5 inmersiones de 1 segundo cada una) en el recipiente N°2(Eosina)
- Sumergir, finalmente, 5 segundos (5 inmersiones de 1 segundo cada una) en el recipiente N°3(Azul de metileno)
- Aclarar la muestra con agua destilada o con agua del grifo
- Secar la muestra al aire libre
- Observar al microscopio con objetivo 100X en aceite de inmersión

(Fernández, Fernández, López, Sainz y Barrero, 2009)

3.6. Análisis de datos

De los datos que serán recolectados se realizará un análisis estadístico descriptivo porcentual, mediante la utilización de tablas de contingencia, elaborando base de datos en hojas electrónicas Excel, para su posterior análisis sobre la prevalencia del hemoparásito.

3.7. Materiales y equipos

- Recolección de datos: Lapicero, tablas de campo, fichas de identificación.
- Toma de muestra: rasuradora, guantes, jeringa, bozal, liga para torniquete, alcohol, algodón y vacutainers (EDTA).
- Procesamiento de muestreo para la extensión de sangre en fresco (gota gruesa): Guantes, cubre ojos, microscopio, porta objetos, pipeta automática y puntas de pipeta.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES

4.1. Presencia de microfilarias asociadas a *Dirofilaria immitis*, a través del uso de la técnica de gota gruesa

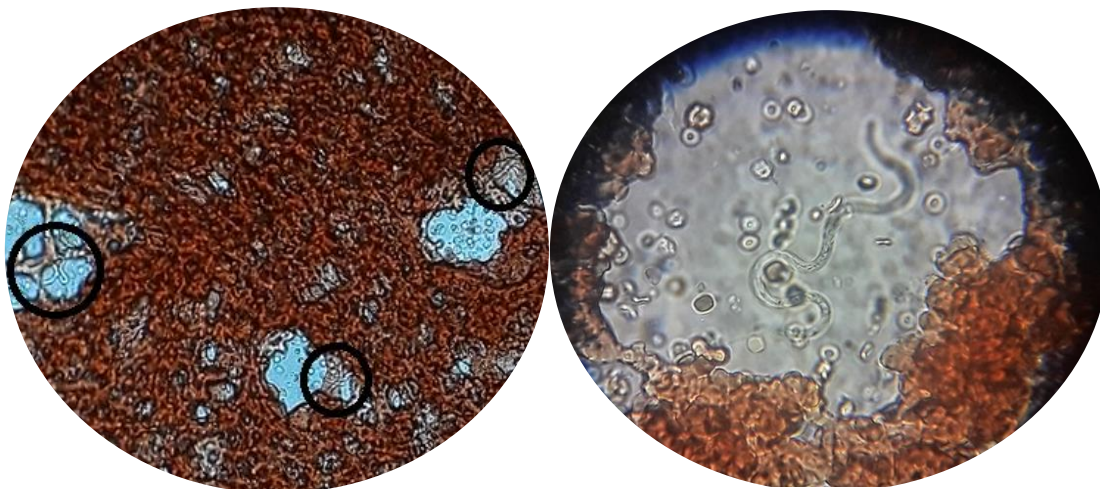


Figura 1. Microfilarias asociadas a *Dirofilaria immitis*, identificadas a través de examen de gota gruesa

Fuente: Autores

En la figura 1. Observamos microfilarias (larvas de primer estadio L1), de *Dirofilaria immitis* vistas a través del microscopio, con la técnica de Gota Gruesa, utilizando objetivo 10X y 40X respectivamente.

A la visualización al microscopio, logramos observar la presencia de microfilarias asociadas a *Dirofilaria immitis*, las cuales cumplen con los criterios de identificación de las larvas, caracterizando por sus movimientos ondulatorios y no progresivos.

Muñoz (2003), menciona que Boch y Supperer (1982); Bowman y Lynn (1999); Georgi y Georgi (1994). Explican que las microfilarias de *Dirofilaria immitis* se caracterizan por movimientos bruscos y rápidos en un mismo sitio, su extremo anterior se adelgaza gradualmente hacia su punta redondeada (un cono coronado por una semiesfera), el cuerpo es estirado y el extremo posterior recto. También menciona que Bowman y Lynn (1999); Georgi y Georgi (1994); Kittleson y Kienle (2000), Afirman que, con el método de filtración, las microfilarias de *Dirofilaria immitis* mide 6 a 7 μm . de diámetro aproximadamente, al igual que los eritrocitos que lo rodean y una longitud de entre 135 y 185 μm .; con la prueba de Knott, tienen el mismo ancho y una longitud de 290 μm .

En vista de que al hacer el examen de gota gruesa podemos encontrar varios tipos de filarias, entre ellas el *Dipetalanema reconditum* que es transmitido por pulgas; y en este caso las características de su movimiento y tamaño nos permitirá hacer la diferenciación.

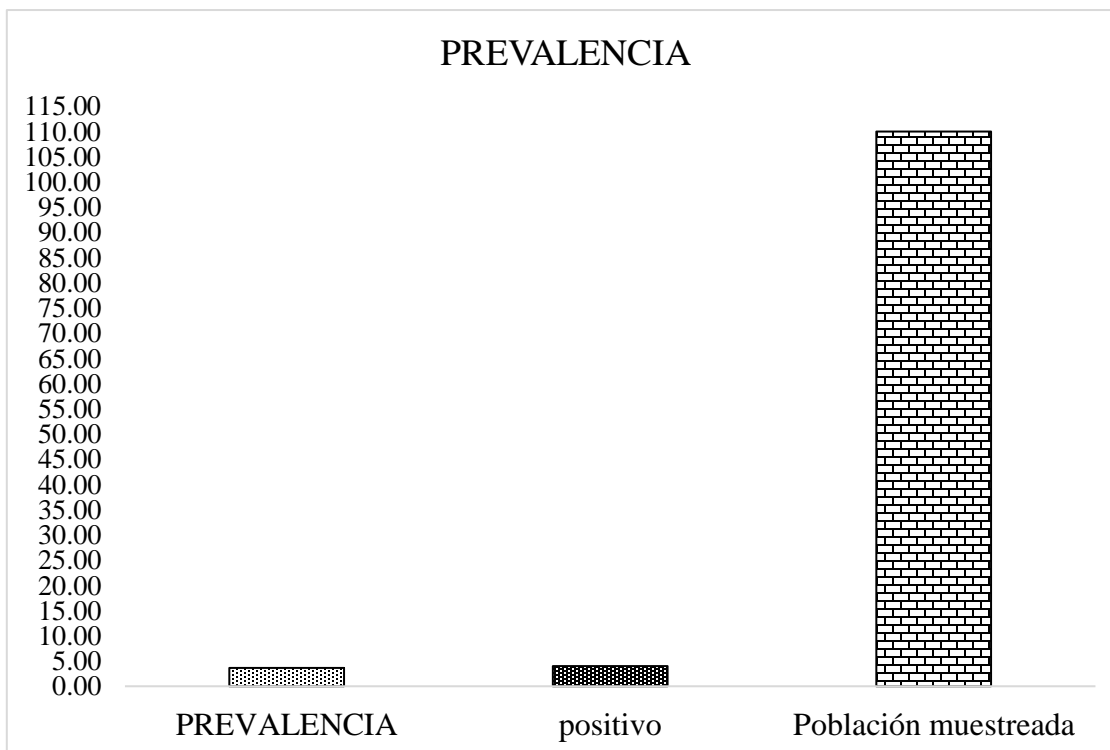
Muñoz (2003), citando a Boch y Supperer (1982); Bowman y Lynn (1999). expresan que el *Dipetalanema. reconditum* se desplaza con movimientos ondulantes lentos y uniformes. El extremo anterior mantiene el mismo diámetro a lo largo del cuerpo, tienen el extremo anterior romo, cuerpo curvado en forma de media luna y extremo posterior curvado como gancho. Del mismo modo expresa que Georgi y Georg (1994); Bowman y Lynn (1999); Kittleson y Kienle (2000), con el método de filtración, *Dipetalonema reconditum* mide menos de 5,6 μm . de diámetro y entre 215 y 240 μm . de longitud; con la prueba de Knott tiene el mismo diámetro y menos de 275 μm . de longitud.

AMERICAN HEARTWORM SOCIETY (2014), citando a Rawlings (1986) quien establece que la mayoría de los perros microfilarémicos pueden detectarse examinando con el microscopio una gota de sangre fresca bajo un cubreobjetos en busca de microfilarias. Y que Georgi y Georgi (1992); Knott (1939). afirman que estos son métodos de pruebas no sensibles cuando hay presentes bajos números (50–100/ml) de microfilarias.

La técnica de gota gruesa es efectiva, en los casos en que haya más de 1.000 microfilarias por mililitro de sangre (Rodríguez, 1990). Todos los perros deberían ser sometidos a pruebas de microfilarias. La microfilaremia da validez a los resultados serológicos, diagnostica si se deben administrar a un perro complejos de antígenos anticuerpos (sin antígenos detectados en las pruebas de antígenos), identifica al paciente como reservorio de la infección y alerta al veterinario de una alta carga de microfilarias, que pueden precipitar una reacción grave tras la administración de un microfilaricida. (AMERICAN HEARTWORM SOCIETY, 2014)

En los pacientes evaluados en el estudio, se lograron observar de 3-5 larvas por campo. Muñoz (1994) menciona que Boch y Supperer (1982); Bowman y Lynn (1999); Georgi y Georgi (1994), explican que las microfilarias revelan su presencia agitando los eritrocitos en su vecindad inmediata, permaneciendo más o menos en el mismo lugar y alejando gradualmente a los eritrocitos, por lo que terminan localizadas en zonas claras de plasma.

4.2. Prevalencia de *Dirofilaria immitis* en los caninos atendidos en Veterinaria Valverde, mediante la utilización del método de gota gruesa



De un total de 113 muestras, recolectadas y analizadas, 4 resultaron positivas a *Dirofilaria immitis*, mediante la técnica de gota gruesa y frotis sanguíneo, con una prevalencia de 3.54%, aunque estos mismos 4 casos resultaron negativos en la prueba de inmunocromatografía.

Un estudio realizado por Aguirre (2014) en 3 barrios del municipio de Granada con una muestra de 108 perros obtuvo una prevalencia de 0.92%, en cambio Flores y Salazar (2016) en un estudio realizado en la comunidad de PoneLOYA- Las peñitas, departamento de León con un total de muestras de 76 perros, obtuvieron un 44.7% de prevalencia.

Aguirre (2014), establece que según IVSA (International Veterinary Students Association), se empezaron a encontrar casos positivos de la enfermedad en Nicaragua, específicamente en la Isla de Ometepe, de manera fluctuante a partir del 2008; en este año se encontró la prevalencia de la enfermedad del 2%, en el año 2009 de 5.6%, en el 2010 disminuyó a un 4%, en el 2011 aumento significativamente a un 6% y finalmente en el 2012 disminuyó a 5%.

En un estudio epidemiológico sobre *Dirofilaria immitis* realizado en la ciudad de México, se obtuvieron los siguientes resultados: municipio de Cuauhtépec 15.68% y en Acapulco de Juárez el 7.44% de caninos positivos a microfilarias, utilizando el método de Gota gruesa y Técnica de Knott. (Romero et al, 2019)

Acuña y Chávez (2002) mencionan que los primeros estudios de prevalencia de dirofilariosis en perros de Lima fueron realizados por Arnao en 1945 según Hernández (1958). También menciona que estudios posteriores reportaron prevalencias de 6 y 10.5% Acha (1952), 1.1 y 8.8% Hernández (1958), y 2.0% Bellido (1995), mediante la observación de las formas adultas o la detección de microfilarias en sangre. Los primeros reportes serológicos de esta enfermedad fueron realizados por Bravo (2001) y Chipana (2001) quienes detectaron el 7.0 y 3% en los distritos ribereños de Lurín y Chillón, respectivamente.

En el Área Metropolitana del Valle de Aburrá, Colombia, se llevó a cabo un estudio realizado por Orozco, Arango y Cardona (2006), quienes muestrearon a 285 pacientes obteniendo un resultado positivo a la presencia de antígenos mediante la técnica de inmunocromatografía de flujo lateral, encontrando una prevalencia de 0.35%.

En España la dirofilariasis no ha sido estudiada en todas las provincias, pero se han hecho varios estudios epidemiológicos que han demostrado la presencia de dirofilariasis canina en varias regiones, las prevalencias más elevadas se encuentran en el sur de la península ibérica, en las zonas de regadío y cercanías de grandes ríos (como la ribera del Tormes en Salamanca o el delta del Ebro). Las prevalencias más elevadas se han observado en las Islas Canarias, siendo la isla de Gran Canaria donde llegó a alcanzar un 67% en el año 1994, estando actualmente por debajo del 20%, gracias a la implementación de tratamientos preventivos. (Carretón, Morchón y Montoya-Alonso, 2013)

4.3. Análisis comparativo entre las técnicas de Inmunocromatografía vs frotis sanguíneo

Cuadro 4. Comparación de técnica de frotis sanguíneo e inmunocromatografía

Pacientes positivos Gota gruesa	Frotis		Inmunocromatografía	
	+	-	+	-
Lucy	+			-
Nick	+			-
Lulú	+			-
Terry	+			-

Al realizar el frotis sanguíneo a los pacientes positivos a *Dirofilaria immitis*, mediante el método de gota gruesa, estos 4 pacientes, también resultaron positivos, al confirmarse la presencia de las microfilarias fijadas en el frotis, mientras que la inmunocromatografía arrojó resultados falsos negativos.

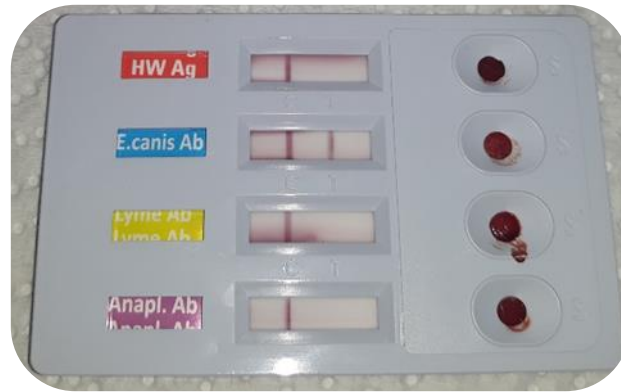


Figura 2: Resultados del test serológico para diagnóstico de *Dirofilaria Immitis*, (CaniV-4 kit Bionote)

Fuente: Autores

Figura 2. Resultados del test serológico (CaniV-4 kit) para el diagnóstico de hemoparásitos, el cual muestra resultados negativos para: antígeno de *Dirofilaria immitis*, anticuerpos de *Borrelia burgdorferi* (Lyme), anticuerpos de *Anaplasma phagocytophilum/ Anaplasma platys* y positivo para anticuerpos de *Ehrlichia canis*.

En este estudio los cuatro pacientes evaluados, dieron resultados negativos al realizarles el test de inmunocromatografía, pudiendo ser los factores predeterminantes: ausencia de parásitos adultos, cachorros infectados vía transplacentaria, ausencia de hembras grávidas, muerte de parásitos adultos inducida por reacción inmunomediada o por drogas.

Orozco, Arango y Cardona (2006), realizaron un estudio con el fin de detectar antígenos de *Dirofilaria immitis* en caninos del Valle de Aburrá Colombia, solamente en uno de los 285 pacientes se obtuvo un resultado positivo a la presencia de antígenos mediante la técnica de inmunocromatografía de flujo lateral.

La reacción antigénica se detecta 6-8 meses post-infección. Su sensibilidad es muy elevada pero los falsos negativos pueden darse en los casos en los que no se haya cumplido el periodo de incubación, en infecciones bajas o cuando la infección está causada sólo por vermes machos. Los métodos diagnósticos que detectan anticuerpos frente a filarias no son específicos y por tanto no tienen valor diagnóstico en perros. (ESCCAP, 2012)

El examen inmunocromatológico Anigen CaniV-4 kit detecta el antígeno KDa 14 de *Dirofilaria immitis*. El Antígeno KDa 14 es un antígeno común de microfilarias circulantes y de gusanos adultos hembras y machos, este es detectado por el Anigen CaniV-4 kit. Pero, a pesar de que el kit utiliza anticuerpos monoclonales contra el antígeno kDa 14, las concentraciones de este antígeno en microfilarias L3, L4 y L5 son muy bajas, por lo tanto, los resultados positivos para estos estadios son difíciles de obtener. (Bionote, 2013)

Muñoz (2003), menciona que Hoover, Fox, Claypool, Gregory, Campbell y Mullins (1996); Gómez, Rojo y Guerrero (1999); Kittleson y Kienle (2000), establecen que la sensibilidad de las pruebas de antígeno para detectar infección por parásitos adultos depende de varios factores. En perros con infecciones patentes con tres o más adultos presentes, las pruebas son positivas prácticamente en el 100% de los perros. En perros con infecciones ocultas secundarias a la destrucción inmunológica de las microfilarias, la sensibilidad es de alrededor del 90%. Cuando existen sólo una o dos hembras grávidas o en infecciones recientes (menos de 10 a 12 meses).

La sensibilidad de la prueba Anigen CaniV-4 kit es de un 94% contra hallazgos de necropsia y una especificidad de Anigen CaniV-4 kit es del 98,2% a 100%. Ya que la prueba detecta los metabolitos del antígeno, el resultado no se puede confundir con *Dipetalonema canina* debido a que, el Anigen CaniV-4 detecta el antígeno KDa 14 de *Dirofilaria immitis* en la muestra de sangre, de esta manera no tiene reacción cruzada con *Dipetalonema canino*. (Bionote. 2013)

Muñoz (2003), menciona que Georgi y Georgi (1994); Bowman y Lynn (1999), expresan que el criterio diferencial morfométrico más rápido, fácil y fiable, es el gancho cefálico mucho mayor en *Dipetalonema. reconditum*, el cual es claramente visible en preparaciones obtenidas por la técnica de Knott a un aumento x 40 de cualquier microscopio moderno normal

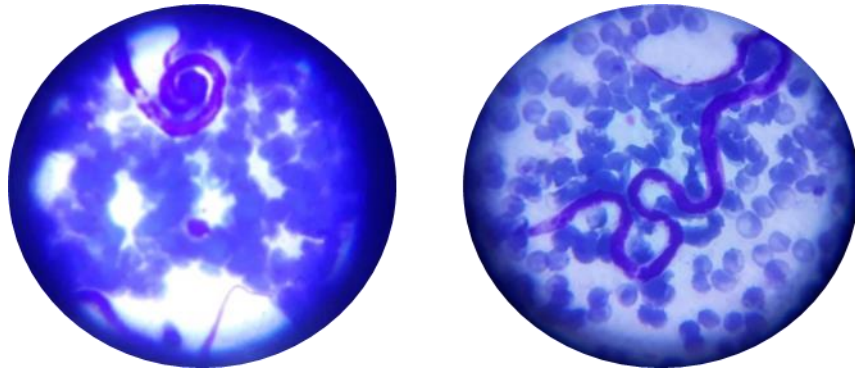


Figura 3 Microfilarias asociadas a *Dirofilaria immitis* vistas a través del microscopio, fijadas con la tinción de Wright a la izquierda y diff bv vv quick a la derecha, en objetivo 100X y 40X

Fuente: Autores

Al comparar el resultado de la técnica de gota gruesa con la técnica de frotis sanguíneo se logró la fijación de las larvas de *Dirofilaria immitis* en los 4 pacientes, (Véase figura 3), confirmando el diagnóstico, pero en el caso de inmunocromatografía los 4 pacientes resultaron negativos, (Véase figura 2).

La técnica de tinción de frotis sanguíneo es utilizada para evaluar la morfología celular y reconocer con facilidad la misma a través del microscopio, así mismo es utilizada para el diagnóstico de parásitos sanguíneos. (Atlas de Hematología Clínica, 2014)

Landino (2005), menciona que Fernández, Ayora y Muñoz (2017), utilizaron la técnica de frotis sanguíneo para establecer diagnóstico de *Dirofilaria immitis* en la ciudad de Guayaquil., obteniendo los siguientes resultados: Giemsa con el 100%.

Muñoz (2003), citando a Blagburn, (1994); Gómez, Rojo y Guerrero (1999); Kittleson y Kienle (2000); Urquhart, Armour, Duncan, Dunn y Jennings (2001), quienes establecen que en promedio miden alrededor de 308 μm . de largo (con un rango de 295 a 325 μm .) y 5 a 7,5 μm . de ancho, fusiformes, el extremo cefálico es ahusado y el extremo caudal puntiagudo y recto, no poseen vaina

Un estudio realizado por (Bautista, Arroyo, Velasco y Canto, 2001), Se observó que de las 94 muestras de perros de la ciudad de México su totalidad fue negativa a microfilarias de *Dirofilaria immitis* por medio de Frotis Sanguíneo; 12 muestras proveniente de Puebla, 10 positivas que representa (32.3%), 11 muestras de perros de Tabasco, 9 fueron positivas que son (60%), Al considerar todas las muestras de las tres áreas geográficas, la sensibilidad fue de 82.6% en frotis sanguíneo; mientras que la especificidad fue de 100%. Tomando en cuenta solamente las muestras de Tabasco, los valores de sensibilidad fue 81.8%. En otro estudio se demostró que de 99 perros infectados con *D. Immitis*, 39.4% fueron detectados por medio de frotis sanguíneo.

Otro estudio realizado en Ecuador, específicamente en la ciudad de Guayaquil De acuerdo a datos proporcionados por el Ministerio de Salud de la ciudad de Guayaquil, en el área seleccionada, se cuenta con una población total de 2700 caninos; Considerándose un tamaño muestral de 126 animales. Dando como resultado 12 caninos positivos que representan una prevalencia del 83.3%. (Fernández, Ayora y Muñoz, 2017)

Al contrario de los exámenes inmunocromatográficos, en el extendido de sangre periférica o frotis sanguíneo encontramos microfilarias asociadas a *Dirofilaria immitis* al identificarse su morfología, y tipos de movimientos los cual fueron anteriormente descritos.

4.4 Valoración de las alteraciones provocadas por dirofilariasis, en el tejido sanguíneo a través de exámenes hematológicos (BHC y Plaquetas)

Cuadro 5. Efectos a nivel sanguíneo provocados por *Dirofilaria immitis*

BHC										
Pacientes	Leucocitos	Hematocrito	Hemoglobina	Eritrocitos	N. segmentado	Linfocitos	Monocitos	Eosinófilos	Basófilos	N. en banda
Lucy	14,650	44	14.7	4,620,000	71	16	05	08	00	00
Nick	12,500	32	10.7	3,360,000	71	10	09	18	00	00
Lulú	4,000	18	6.0	1,890,000	84	03	11	02	00	00
Terry	9,350	20	6.7	2,100,000	50	44	03	22	00	01

Resultados obtenidos en los exámenes de Biometría hemática completa, realizado a cada paciente positivo a microfilaremia mediante el método de gota gruesa; los valores color rojo, son aquellos que se encuentran fuera de los parámetros normales.

Cuadro 6. Evaluación de la disminución de plaquetas

Pacientes	Plaquetas	Valores de referencia
Lucy	117.000	
Nick	55.000	
Lulú	68.000	200, 000-500, 000
Terry	93.000	

Las alteraciones más importantes encontradas en los pacientes evaluados en este estudio fueron las siguientes: leucocitosis, leucopenia, neutrofilia, linfopenia, anemia, trombocitopenia, linfocitosis y eosinofilia. Estas alteraciones encontradas en la biometría hemática completa nos reflejan el daño ocasionado en los pacientes que están cursando la enfermedad, de las cuales no todos sufren el mismo nivel de daño, esto se debe al estadio del agente hemoparasitario y al estado de cada paciente, ya que los daños se ven exacerbados en aquellos que están en la etapa más avanzada de la misma.

Bastidas (2009) menciona que Kaewthamasorn, Assarasakorn, y Niwetpathomwat (2008), establecen que las microfilarias son larvas migratorias de *Dirofilaria immitis*, un grupo de vermes delgados, los cuales en su fase adulta se alojan en órganos del aparato cardiovascular-respiratorio, ocasionando graves problemas de salud e inclusive la muerte.

Orozco, Arango y Cardona (2006), citando a Adcock (1961); Rawlings y Tackett (1990); Rawlings y Calvert (1997); Rawlings (2002) quienes mencionan que, las dirofilarias vivas inducen, en primera instancia, una reacción arterial endotelial. En la superficie de este endotelio alterado se adhieren macrófagos y neutrófilos que penetran en las uniones intercelulares dejando al descubierto el subendotelio. Esto provoca la activación y adherencia de plaquetas e hiperpermeabilidad, permitiendo el paso de albúmina y otros líquidos hacia el intersticio, causando edematización de las arterias.

Orozco, Arango y Cardona (2006), citando a Adcock (1961); Kittleson y Kienle (2000); Rawlings y Calvert (1997) mencionan que las plaquetas y los leucocitos adheridos a los sitios arteriales dañados, liberan factores tróficos, como el factor de crecimiento o PDGF derivado de las plaquetas, que estimulan una rápida proliferación de las células musculares lisas de la túnica media, rompiendo la lámina elástica interna y proyectándose hacia la luz de la arteria, hasta la íntima.

Muñoz (2003), citando a Gómez, Rojo y Guerrero (1999); Rawlings (1980); Rawlings, Dawe, McCall, Keith y Prestwood (1982); Rawlings y Calvert (1997) describen que, la neumonitis eosinofílica o alérgica, es un síndrome provocado por la hipersensibilización del hospedador a los antígenos de microfilarias, que inducen la destrucción inmunomediada de microfilarias por medio de anticuerpos. El exceso de anticuerpos antimicrofilarias (IgG), adhiere los leucocitos a las microfilarias, causando su secuestro e inmovilización en la microcirculación del pulmón. Las microfilarias muertas son rodeadas por inflamación eosinofílica granulomatosa, con una eosinofilia inusualmente alta (“síndrome de infiltración eosinofílica pulmonar”). En esta intensa reacción inflamatoria están implicados neutrófilos, eosinófilos y macrófagos.

Orozco, Arango y Cardona (2006), citando a Atkins (1994); Gómez, Rojo y Guerrero (1999); Kittleson y Kienle (2000) explican que, la hemólisis intravascular, es característica del síndrome de la vena cava, los eritrocitos acumulan colesterol libre en su pared y se vuelven muy frágiles. La eritrolisis es secundaria al impacto que reciben los glóbulos rojos, al verse obligados a pasar a gran velocidad entre vermes que ocluyen parcialmente las venas cavas, además del paso a través de fibrina en capilares cuando ya hay CID.

Orozco, Arango y Cardona (2006), citando a Atkins (1994); Gómez, Rojo y Guerrero (1999); Kittleson y Kienle (2000) explican que, la eritrolisis intravascular es constante y el hígado no alcanza a metabolizar toda la hemoglobina, produciéndose rápidamente hemoglobinemia y hemoglobinuria. Esta última suele ser marcada, dando a la orina un color entre marrón oscuro y negro. La anemia hemolítica normocítica y normocrómica generada, se agrava por la anorexia.

4.5. Valoración del factor trashumancia sobre la trasmisión de la enfermedad



Figura 4 Ejemplificando el movimiento de dos caninos (Terry que realizó trashumancia de Masachapa a Managua y Lulú de Bluefields a Managua), favoreciendo la diseminación de la enfermedad.

En este estudio, dos de los pacientes positivos a microfilariasis, cuentan con historial de trashumancia, ambos procedentes de zonas costeras con todos los factores favorables para la transmisión de la enfermedad.

La dirofilariasis es una enfermedad cosmopolita y de distribución mundial, que se localiza en zonas con elevada temperatura y humedad durante, al menos, una parte del año. Estas condiciones ambientales favorecen el desarrollo y mantenimiento de abundantes poblaciones de mosquitos vectores. Por lo tanto, en zonas más cálidas la trasmisión se produce en todo el año, radicando así la importancia de enfatizar la trashumancia a la que son sometidos los caninos específicamente en zonas costeras del país. Carretón, Morchón y Montoya-Alonso (2013)

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, pero pueden sobrevivir en el mosquito hibernante y completar su desarrollo cuando las temperaturas superan ese umbral. (Muñoz, 2003)

V. CONCLUSIONES

Concluyendo que la prevalencia obtenida fue baja (3.54%), en relación a la obtenida por Flores y Salazar (2016) que fue de un 44.7%.

La técnica de gota gruesa permite la identificación de microfilarias se caracterizan a través de movimientos ondulatorios bruscos y rápidos en un mismo sitio y una morfología con un extremo anterior que se adelgaza gradualmente hacia su punta redondeada, el cuerpo es estirado y el extremo posterior recto.

El análisis comparativo nos permite corroborar la existencia del agente parasitario, aunque en el caso de la inmunocromatografía el grado de sensibilidad a la carga de las microfilarias va ligado a la carga y a la presencia de hembras grávidas, mientras que, en el BHC, la *Dirofilaria immitis* provoca alteraciones hematológicas, ocasionadas por la migración de sus larvas y la oclusión que estas provocan tanto en el hemisferio derecho del corazón como en el pulmón derecho.

La alteración encontrada en el recuento plaquetario fue trombocitopenia, siendo resultados diferentes para cada paciente, esto ligado al estadio de la enfermedad en la que se encuentra cada uno de ellos y ligado al daño endotelial arterial.

La trashumancia es uno de los factores que debe de ser tomado en cuenta al momento de la sospecha de la presencia de esta enfermedad, en vista que si un canino que proviene de zonas del trópico, pero viajan a zonas costeras son más susceptibles a adquirir la enfermedad, mientras que si un canino que es de zonas costeras viaja a zonas tropicales este se vuelve un portador de la enfermedad y permiten que el ciclo continúe.

VI. RECOMENDACIONES

Para realizar una buena observación de microfilarias en extendido de sangre periférica, se recomienda no utilizar una gota muy gruesa de sangre, homogenizar bien la muestra y observar rápidamente, ya que las larvas se deshidratan y mueren.

Se requiere realizar estudios epidemiológicos de prevalencia de la enfermedad en perros domésticos, silvestres y en situación de calle en zonas aledañas a fuentes de agua, para reconocer la incidencia anual o estacional de la enfermedad para poder establecer medidas de control adecuados.

Una sola técnica no nos permite obtener resultados fiables para el diagnóstico de *Dirofilaria immitis*, por tanto, como mínimo realizar técnica de gota gruesa, frotis sanguíneo y técnica de knott.

Realizar campañas de concientización e información para la población nicaragüense sobre el riesgo que representa esta zoonosis, para saber qué medidas implementar para evitar que se siga propagando, y los cuidados a tener en cuenta a la hora de trasladar un paciente a zonas vulnerables.

VII. LITERATURA CITADA

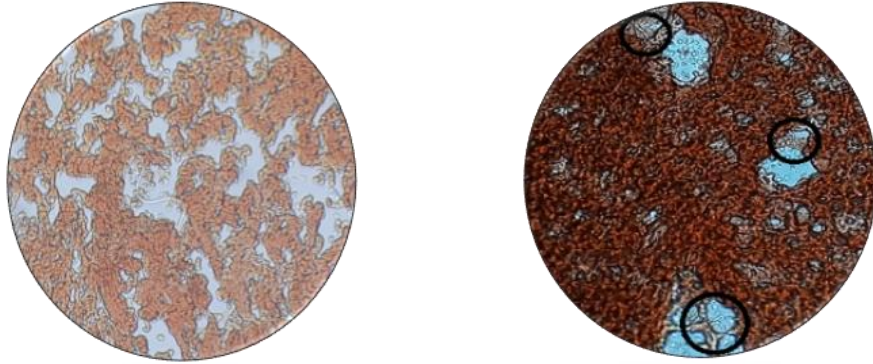
- Acuña, P. y Chávez, A. (2002). *Determinación de la prevalencia de Dirofilaria immitis en los distritos de San Martín de Porres, Rímac y Cercado de Lima*. Recuperado de <https://www.researchgate.net/publication/262436065> Determinacion de la prevalencia de Dirofilaria immitis en los distritos de San Martin de Porres Rimac y Cercado de Lima
- Atlas de Hematología Clínica, (2014). *Introducción al examen del frotis de sangre periférica*. Recuperado de <http://www.herrerobooks.com/pdf/pan/9786079356156.pdf>
- Aguirre, J. (2014) *Dirofilariasis (Dirofilaria immitis) canina en tres barrios del municipio de Granada, diciembre 2013 – julio 2014*. Recuperado de <http://repositorio.una.edu.ni/3215/1/tnl73a284.pdf>
- Alvarado, J. Orellana, S y Pichinte, L. (2013). *Determinación de presencia del gusano del corazón (Dirofilaria immitis) en perros domésticos (Canis lupus familiaris) en El Puerto de La Libertad, Departamento de La Libertad y Suchitoto, Departamento de Cuscatlán, El Salvador*. Recuperado de <http://ri.ues.edu.sv/id/eprint/5273/1/13101536.pdf>
- AMERICAN HEARTWORM SOCIETY. (2014). *Directrices Caninas Actuales para la Prevención, Diagnóstico y Gestión de la Infección de Dirofilaria (Dirofilaria immitis) en Perros*. Recuperado de https://www.heartwormsociety.org/images/documents/2014_AHS_Canine_Guidelines.Spanish.Investigable.pdf
- Bastidas, H. (2009). *Determinacion de dirofilariasis canina en cinco refugios de Valles de Quito*. Recuperado de <http://www.dspace.uce.edu.ec:8080/bitstream/25000/19319/1/T-UCE-0014-MVE-066.pdf>
- Bionote. (2013). *Gusano del corazón*. Recuperado de <file:///C:/Users/USUARIO/Desktop/BIONTE%20FUNDAMENTACIÓN%20DE%20LA%20PRUEBA.pdf>
- Carretón, E. Morchón, R y Montoya-Alonso, J.A. (2013). *DIROFILARIASIS CARDIOPULMONAR CANINA*. Recuperado de <https://www.berri.es/pdf/DIROFILARIOSIS%20E2%80%9A%20Pautas%20de%20manejo%20cl%C3%ADnico/9788496344440>
- Bautista, C Arroyo, M Velasco, O. y Canto, L. (2001). *Comparación de las pruebas quantitative buffy coat, frotis grueso de sangre y observación directa para el diagnóstico de la infección por Dirofilaria immitis en perros de tres zonas geográficas de México*. Recuperado de <https://www.medigraphic.com/pdfs/vetmex/vm-2001/vm012j.pdf>
- Diosado, A. Simón, F. Morchón, R. Montoya, A. Carretón, E. y Gonzales, J. (2016). *Estatus actual de la distribución de la dirofilariasis animal en España y Portugal*. Recuperado de <https://www.portalveterinaria.com/articoli/articulos/26822/estatus-actual-de-la-distribucion-de-la-dirofilariosis-animal-y-humana-en-espana-y-portugal.html>

- Diosado, A. Simón, F. Morchón, R. Montoya-Alonso, A. Carretón, E. y Gonzáles-Miguel, J. (2016). *Estatus actual de la distribución de la Dirofilariasis animal y humana en España y Portugal*. Recuperado de <https://www.portalveterinaria.com/animales-de-compania/articulos/26822/estatus-actual-de-la-distribucion-de-la-dirofilariosis-animal-y-humana-en-espana-y-portugal.html>
- Echeto, O. Simoes, D. Camacho, J y Oviedo, M. (2005). Dirofilariosis en caninos: estudio anatomopatológico de 15 casos. Recuperado de <https://www.redalyc.org/html/959/9591550>
- ESCCAP. (2012). *Control de enfermedades transmitidas por vectores en perros y gatos*. Recuperado de <http://www.esccap.es/guias-esccap/guia-no5-control-de-enfermedades-transmitidas-por-vectores-en-perros-y-gatos/>
- Fernandez, J. Fernandez, I. Lopez, D. Sainz, A. & Barrero, I. (2009). Décimo congreso de veterinarios, tipos de tinciones. Recuperado de http://www.conganat.org/10congreso/vistaImpresion.asp?id_trabajo=1804
- Fernandez, Z. Ayora, P y Muñoz, T. (2017). *Diagnóstico de Dirofilaria immitis en perros de la ciudad de Guayaquil mediante tres métodos de laboratorio*. Recuperado de <https://revistas.unl.edu.ec/index.php/biotecnologia/article/view/337>
- Flores, A. y Salazar, I. (2016). *Prevalencia de Dirofilaria immitis de caninos en la comunidad de Poneloya - Las Peñitas, departamento de León, en el período julio-noviembre del 2016*. Recuperado de <file:///C:/Users/hp/Downloads/tesis-poneloya.pdf>
- Landino, R. (2006). *Determinación de la prevalencia de microfilaria spp en primates no humanos y humanos de los zoológicos colombianos, localizados en diferentes altitudes*. Recuperado de <http://repository.lasalle.edu.co/bitstream/handle/10185/6051/00780810.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Matamoros, J. Sanín, L y Santillana, M. (2000). *Las Zoonosis y sus Determinantes Sociales: una perspectiva a considerar en Salud Publica*. Recuperado de <http://www.bdigital.unal.edu.co/22190/1/18769-61755-1-PB.pdf>
- Morchón, D. (2008). *Mecanismos celulares y moleculares de la patología vascular de la dirofilariosis cardiopulmonar. El papel de las filarias y de los endosimbiontes del género Wolbachia. (Tesis doctoral)*. Recuperado de file:///C:/Users/hp/Downloads/DBAPEEQA_Mecanismos%20celulares%20moleculares%20patologia.pdf
- Moreno, A. López, S. y Corcho, A. (2000). *Principales medidas en epidemiología*. Rercuperado de https://www.scielosp.org/article/ssm/content/raw/?resource_ssm_path=%2Fmedia%2Fasets%2Fspm%2Fv42n4%2F2882.pdf&fbclid=IwAR1R2MF_EIqdX5NCr89okpM3DV2_VCv2K_dQNJkXPDzGuePgMiWR2HHsoeY

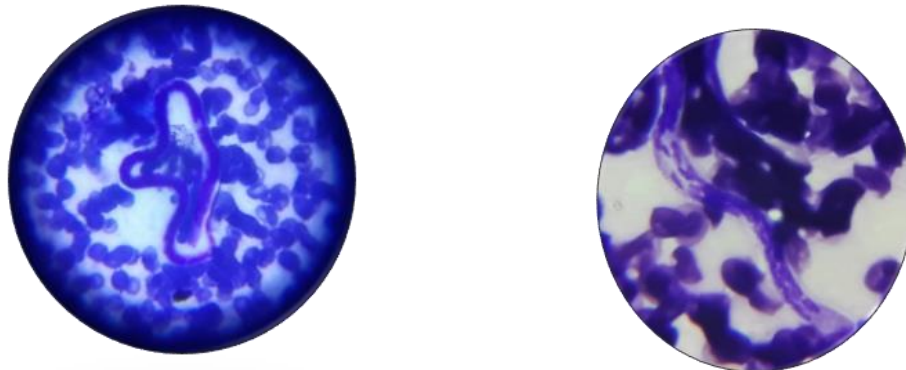
- Muñoz, M. (2003). *Dirofilaria immitis* enfermedad del gusano del corazón. Recuperado de <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2003/fvm971d/doc/fvm971d.pdf>
- Orozco, S. Arango, M. y Cardona, W. (2006). *Detección de antígenos de Dirofilaria immitis en caninos del Área Metropolitana del Valle de Aburrá*. Recuperado de http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-06902006000300004
- Pérez, R. Estepa, J. y Mendoza, F. (2011). *Análisis y estudio del frotis sanguíneo*. Recuperado de: <https://www.portalveterinaria.com/animales-de-compania/articulos/21842/analisis-y-estudio-del-frotis-sanguineo.html>
- Radio Ya. (2013) *Nicaragua tiene unos 700 mil perros. La mayoría son... “come cuando hay”*. Recuperado de <https://nuevaya.com.ni/nicaragua-tiene-unos-700-mil-perros-la-mayoria-son%E2%80%A6%E2%80%9Ccome-cuando-hay%E2%80%9D/>
- Ribicich, R. & Cardillo, B. (2010). *Dirofilaria canina. Diagnóstico, prevalencia y tratamiento*. Recuperado de http://helminto.inta.gob.ar/pdf%20aapavet%20mdp/pdf/univ/Dilofilariosis_UBA.pdf
- Rodríguez, J (1990). *Dirofilariasis canina y otras parasitosis filariales Incidencia, diagnóstico, tratamiento y prevención*. Recuperado de <https://ddd.uab.cat/pub/clivetpeqani/11307064v10n2/11307064v10n2p91.pdf>
- Romero, P. Garcia, E. Santos, C. Pineda, B. Olivar, G. Hernandez, P y Ponce, J. (2019). *Prevalencia de Dirofilaria immitis en caninos domésticos de dos municipios del tropico de Guerrero, Mexico*. Recuperado de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2448-61322019000100115&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Sanchez, M. Calvo, p. y Mutis, C. (2011). *Dirofilaria immitis: una zoonosis presente en el mundo*. Recuperado de http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0122-93542011000200007&script=sci_arttext&tlng=pt
- Universidad de Córdoba. (2000). *Métodos de tinción*. Recuperado de <http://www.uco.es/organiza/departamentos/medicinaycirugia/reproduccion/proyecto/metodos2.html>

VIII. ANEXOS

Anexo 1. Microfilarias de *Dirofilaria immitis* a través de examen de gota gruesa



Anexo 2. Microfilarias de *Dirofilaria immitis* fijadas con tinción de Wright (izquierda) y Diff Quick (derecha) Observadas a través del microscopio con objetivo 40X Y 100X



Anexo 3. Anigen CaniV-4 kit y Resultados del test serológico para diagnóstico de *Dirofilaria immitis*



Anexo 4. Resultados de Biometría Hemática Completa de paciente Lucy

LABORATORIO CLINICO "VETERINARIA VALVERDE"

PACIENTE: *lucy*
 FECHA: *22/1/2019*
 ESPECIE: *Canino*



SEXO: *Hembra*
 EDAD: *2 años*
 RAZA: *Mestizo*

HEMATOLOGIA

EXAMEN	RESULTADOS	VALORES DE REFERENCIA	
LEUCOCITOS	14,650	6.000 - 12.000	
HEMATOCRITO	44.0 %	Cachorros	22,2-42,0
		Adultos	37,0-55,0
HEMOGLOBINA	14.7 gr/dl	Cachorros	7,4-14,9
		Adultos	12,0-18,0
ERITROCITOS	4,620.000 mm ³	Cachorros	3,300-6,300
		Adultos	5,500-8,500
DIFERENCIAL			
Neutrófilos segmentados	71 %	60.0 - 77.0	
Linfocitos	16 %	12.0 - 30.0	
Monocitos	05 %	3.0 - 10.0	
Eosinofilos	08 %	2.0 - 10.0	
Basofilos	00 %	0.0 - 1.0	
Neutrófilos en banda	00 %	0.0 - 1.0	
PLAQUETAS:	117.000 mm ³	200,000 - 500.000	
HEMOPARÁSITOS:	<i>Se observaron microfilarias de Dirofilaria spp. en extendido de sangre periférica.</i>		
NOTA:	<i>en extendido de sangre periférica.</i>		

Anexo 5. Resultados de Biometría Hemática Completa de paciente Lulú

LABORATORIO CLINICO "VETERINARIA VALVERDE"

PACIENTE: *Lulú*
 FECHA: *20/1/2019*
 ESPECIE: *Canino*



SEXO: *Hembra*
 EDAD: *9 años*
 RAZA: *Maltés*

HEMATOLOGIA

<u>EXAMEN</u>	<u>RESULTADOS</u>	<u>VALORES DE REFERENCIA</u>	
LEUCOCITOS	4,000	6,000 - 12,000	
HEMATOCRITO	18.0 %	Cachorros	22.2-42.0
		Adultos	37.0-55.0
HEMOGLOBINA	6.0 gr/dl	Cachorros	7.4-14.9
		Adultos	12.0-18.0
ERITROCITOS	1,890.000 mm³	Cachorros	3,300-6,300
		Adultos	5,500-8,500
DIFERENCIAL			
Neutrófilos segmentados	84 %	60.0 - 77.0	
Linfocitos	03 %	12.0 - 30.0	
Monocitos	11 %	3.0 - 10.0	
Eosinófilos	02 %	2.0 - 10.0	
Basófilos	00 %	0.0 - 1.0	
Neutrófilos en banda	00 %	0.0 - 1.0	
PLAQUETAS:	68.000 mm³	200,000 - 500,000	
HEMOPARÁSITOS:	<i>Se observó mórulas en leucocitos asociadas a Ehrlichia spp en frotis sanguíneo.</i>		
NOTA:	MORFOLOGÍA ERITROCITARIA: Anisocitosis-Hipocromia: + <i>Se observaron microfilarias de Dirofilaria spp.</i>		

Anexo 6. Resultados de Biometría Hemática Completa de paciente Nick

LABORATORIO CLINICO "VETERINARIA VALVERDE"

PACIENTE: *Nick*
 FECHA: *6/2/2019*
 ESPECIE: *Canino*



SEXO: *Macho*
 EDAD: *5 años*
 RAZA: *Mestiza*

HEMATOLOGIA

<u>EXAMEN</u>	<u>RESULTADOS</u>	<u>VALORES DE REFERENCIA</u>	
LEUCOCITOS	12,500	6,000 - 12,000	
HEMATOCRITO	32.0 %	Cachorros	22,2-42,0
		Adultos	37,0-55,0
HEMOGLOBINA	10.7 gr/dl	Cachorros	7,4-14,9
		Adultos	12,0-18,0
ERITROCITOS	3,360.000 mm ³	Cachorros	3,300-6,300
		Adultos	5,500-8,500
DIFERENCIAL			
Neutrófilos segmentados	71 %	60.0 - 77.0	
Linfocitos	10 %	12.0 - 30.0	
Monocitos	09 %	3.0 - 10.0	
Eosinófilos	18 %	2.0 - 10.0	
Basófilos	00 %	0.0 - 1.0	
Neutrófilos en banda	00 %	0.0 - 1.0	
PLAQUETAS:	55.000 mm ³	200,000 - 500.000	
HEMOPARÁSITOS:	<i>Se observaron microfilarias de Dirofilaria spp. en extendido de sangre periférica.</i>		
NOTA:	PLASMA:Hemolizado/MORFOLOGÍA ERITROCITARIA:Anisocitosis-Normocromia		

Anexo 7. Resultados de Biometría Hemática Completa de paciente Terry

LABORATORIO CLINICO "VETERINARIA VALVERDE"

PACIENTE: *Terry*

FECHA: *23/3/2018*

ESPECIE: *Canino*



SEXO: *Macho*

EDAD: *2 años*

RAZA: *Husky siberiano*

HEMATOLOGIA

<u>EXAMEN</u>	<u>RESULTADOS</u>	<u>VALORES DE REFERENCIA</u>	
LEUCOCITOS	<i>9,350</i> x mm ³	6,000 - 12,000	
HEMATOCRITO	<i>20.0</i> %	Cachorros	22,2-42,0
		Adultos	37,0-55,0
HEMOGLOBINA	<i>6.7</i> gr/dl	Cachorros	7,4-14,9
		Adultos	12,0-18,0
ERITROCITOS	<i>2,100.000</i> mm ³	Cachorros	3,300-6,300
		Adultos	5,500-8,500
DIFERENCIAL			
Neutrófilos segmentados	<i>50</i> %	60.0 - 77.0	
Linfocitos	<i>44</i> %	12.0 - 30.0	
Monocitos	<i>03</i> %	3.0 - 10.0	
Eosinofilos	<i>22</i> %	2.0 - 10.0	
Basofilos	<i>00</i> %	0.0 - 1.0	
Neutrófilos en banda	<i>01</i> %	0.0 - 1.0	
PLAQUETAS:	<i>93.000</i> mm ³	200,000 - 500,000	
HEMOPARÁSITOS:	<i>Se observó microfilarias de Dirofilaria spp. en extendido de sangre periférica.</i>		

Anexo 8. Veterinaria Valverde



Anexo 9. Área de laboratorio clínico Veterinaria Valverde



Anexo 10. Observación de muestra en fresco



Anexo 11. Observación de muestra con técnica de gota gruesa en objetivo 40x

