

Diagnóstico de *Dirofilaria immitis* en perros de la ciudad de Guayaquil mediante tres métodos de laboratorio

Diagnosis of Dirofilaria immitis in dogs of the city of Guayaquil through three laboratory methods

Karla Fernandez¹
Patricia Ayora^{2*}
Tito Muñoz³

1. Médica Veterinaria Zootecnista, Universidad Nacional de Loja
 2. Docente de Parasitología Veterinaria, Universidad Nacional de Loja
 3. Docente de Farmacología y Toxicología, Universidad Nacional de Loja
- *Autor para correspondencia: titoflaco@yahoo.com

RECIBIDO: 14/04/2017

APROBADO: 16/11/2017

RESUMEN

Se analizaron 126 muestras de sangre canina tomadas en seis sectores de la ciudad de Guayaquil, siendo estos Tarqui, Urdaneta, Letamendi, Febres Cordero, Nueve de Octubre y Ximena, con el propósito de hacer un diagnóstico de *Dirofilaria immitis*, mediante las técnicas de Gota Gruesa, Giemsa y Knott. Las muestras se extrajeron de la vena cefálica en tubos vacutainer con EDTA y fueron transportadas al Laboratorio de Diagnóstico Veterinario de la Universidad Nacional de Loja, en donde mediante las técnicas referidas, se procedió a realizar el respectivo diagnóstico. Se estableció una prevalencia total de 9,52%; el sector con mayor presencia de la enfermedad fue Tarqui con el 19,05%, seguido de Urdaneta y Febres Cordero con el 14,29%; la raza más afectada fue la French con el 9,8%. En lo que respecta a la edad, los animales comprendidos entre uno y siete años presentaron un gra-

ABSTRACT

126 samples of canine blood taken in six sectors of the city of Guayaquil were analyzed, and these Tarqui, Urdaneta, Letamendi, Febres Cordero, Nueve de Octubre and Ximena, with the purpose of making a diagnosis of *Dirofilaria immitis*, using techniques Drop thick, Giemsa and Knott. Samples were taken from the cephalic vein in vacutainer tubes containing EDTA and were transported to the Veterinary Diagnostic Laboratory at the National University of Loja, where by the aforementioned techniques, we proceeded to perform the respective diagnosis. A total prevalence of 9.5% was established; the sector with the greatest presence of the disease was Tarqui with 19.05%, followed by Urdaneta and Febres Cordero with 14.29%; the most affected race was the French with 9.8%. With respect to age, the animals falling between one and seven years had a degree of infestation

do de infestación del 17,46%; seguido del grupo de animales mayor a siete años con el 16,67%. De acuerdo al sexo, los machos tuvieron una prevalencia de 11,11% y las hembras el 7,41%. El método más eficaz para diagnóstico de *D. immitis* resultó ser el de Giemsa con el 100%, seguido de Gota Gruesa y Knott con el 83,3%. El Diagnóstico diferencial por medio del Kit 4Dx, reportó 91,7% para *D. immitis* y 8,3% para *Dipetalonema reconditum*.

Palabras Clave: Dirofilariosis, *D. immitis*, *Dipetalonema reconditum*, Giemsa, Gota Gruesa, Knott, Guayaquil.

17.46%; followed by the group of animals older than seven years with 16.67%. According to sex, males had a prevalence of 11.11% and females 7.41%. The most effective method for diagnosis of *D. immitis* proved to be the Giemsa with 100%, followed by Drop Thick and Knott with 83.33%. Differential Diagnosis through 4Dx Kit, 91.7% reported for *D. immitis* and 8.3% for *Dipetalonema reconditum*.

Keywords: Heartworm, *D. immitis*, *Dipetalonema reconditum*, Giemsa, Drop Thick, Knott, Guayaquil.

INTRODUCCIÓN

Dirofilaria immitis es un onchocercidae delgado, de color blanco, que puede medir más de 30 cm de longitud, siendo los machos más pequeños que las hembras (González, 2009). *D. immitis* es un nematodo filiforme y cilíndrico, posee una cutícula con estriaciones trasversales y longitudinales; en su extremo anterior presenta una apertura oral pequeña con labios, cápsula bucal rudimentaria sin órganos de fijación, 10 pequeñas papilas cefálicas, sin faringe y un esófago con porción anterior muscular y posterior glandular no muy bien delimitadas. El ano se ubica en posición subterminal y presenta dimorfismo sexual marcado (Borchet, 1964; Gómez y col., 1999; Levine, 1978).

El ciclo de vida requiere de un mosquito hembra que ingiera sangre de un mamífero susceptible a *D. immitis* y que tenga larvas de primer estado llamadas microfilarias en su circulación (Kitleson y Kienle, 2000). Los perros, gatos, zorros, lobos y ratas y rara vez especies como caballos, leones marinos y humanos son infectados por el parásito (Carlyle, 1990). El proceso parasitario producido en el perro por las especies de filarias es conocido como filariosis cani-

na (González, 2009).

Los mosquitos capaces de actuar como huéspedes intermediarios y vectores de *D. immitis*, prevalecen en todo el mundo en las latitudes de clima tropical, subtropical y templado (Muñoz, 2006).

Al menos setenta especies de culícidos de los géneros *Aedes*, *Anopheles* y *Culex*, son receptivos como hoppers intermediarios y vectores biológicos de *D. immitis*, aunque la capacidad de transmitirla solo se ha demostrado en 10 especies (siete *Aedes*, dos *Anopheles* y un *Culex*). Las especies de mosquitos no susceptibles parecen carecer de anticoagulinas, de modo que la ingesta de sangre coagula en el interior del intestino del mosquito, dejando atrapadas a las larvas (Barriga, 2002; Gómez y col., 1999; Kitleson y Kienle, 2000; Ludlam y col., 1970).

Los factores predisponentes para su presencia parten del hospedador y del vector. Entre los factores asociados al hospedador está la elevada densidad de perros en áreas donde los vectores están presentes, el elevado período de

patencia de hasta cinco años durante los cuales están presentes la microfilarias y una ausencia de respuesta inmune eficaz. En lo relacionado al vector podemos decir que la ubicuidad, su reproducción y el desarrollo de las microfilarias hasta L3, son factores determinantes (Urquhart, 2001).

La gravedad de la enfermedad y la velocidad de su desarrollo están principalmente relacionadas con la magnitud de la infestación. Varios son los órganos que pueden verse afectados por la presencia de *D. immitis* en el perro, estas lesiones son numerosas y graves (Brito, 2001). Muchos perros infectados con escaso número de parásitos no manifiestan síntomas y solo en caso de infecciones masivas se producen alteraciones circulatorias debidas a obstrucción del flujo sanguíneo, que origina un fallo congestivo del corazón derecho; además los vermes muertos pueden causar embolismo pulmonar (Urquhart, 2001).

El diagnóstico de la infección en perros, se basa por lo general en la identificación de microfilarias en una muestra de sangre o en la detección de antígenos del parásito adulto en la sangre, suero o plasma, incluyendo siempre un examen físico. Ocasionalmente se llega al diagnóstico gracias a la detección de cambios radiográficos típicos o mediante identificación de filarias en la ecografía, especialmente en casos de síndrome de la vena cava. Un resultado positivo en cualquiera de estas pruebas lleva a un diagnóstico positivo de la enfermedad (Frank y col., 1998; Gómez y col., 1999; Kittleson y Kienle, 2000).

La dirofilariosis oculta, representa una proporción significativa de las infecciones que ocurren naturalmente o en perros que han estado durante 6 o más meses en tratamiento preventivo. Esta presentación debe ser diagnosticada mediante técnicas serológicas y basándose en evidencias radiográficas (Bowman y Lynn, 1999;

Dillon, 2000; Ferrer y col., 2002). La interpretación de resultados, en especial los de inmunodiagnóstico, debe considerar el impacto de la sensibilidad, especificidad y prevalencia de la verdadera tasa de infección en la zona (Rawlings y Calvert, 1997).

En Ecuador, en el cantón Naranjal (provincia del Guayas) la Dirofilariosis afecta en mayor grado a la población canina, su prevalencia es del 19 % y por lo general se presenta de forma asintomática (Aguilar, 1987); en la provincia de El Oro, estudios anteriores reportan que la prevalencia de dirofilariosis es del 11,23 % de acuerdo a los casos encontrados en edades superiores a los 3 años (Telcan, 1987).

En la ciudad de Machala la prevalencia obtenida en investigaciones, muestra que la infección por dirofilariosis (*D. immitis*) alcanza el 7,3%; y se describe que este parásito no tiene predilección por raza ni sexo (Serrano, 1982). Pontón (1982), en su investigación realizada a 320 perros encontró una prevalencia de 11,9% en la ciudad de Santa Rosa; en tanto que, Salazar (1988), obtuvo una prevalencia de 21,7% para Dirofilariosis canina en la ciudad de Arenillas en un estudio realizado a 240 perros. En la ciudad de Huaquillas, se ha registrado una prevalencia de 9,33% de esta enfermedad (Suárez 1990).

La presente investigación se realizó en la ciudad de Guayaquil, ya que cuenta con un factor muy importante para el desarrollo de la enfermedad, que es el clima; su temperatura promedio de 27 °C, favorece el desarrollo de las larvas infectivas del gusano del corazón en el huésped intermediario.

■ MATERIALES Y MÉTODOS

Tamaño y Selección de la Muestra

De acuerdo a datos proporcionados por el Ministerio de Salud de la ciudad de Guayaquil, en el área seleccionada, se cuenta con una po-

blación total de 2700 caninos; Considerándose un tamaño muestral de 126 animales, divididos en los seis sectores; dando como resultado 21 muestras por cada sector.

Los perros seleccionados para la investigación fueron aquellos que viven en domicilios cercanos o próximos a las riberas del río Guayas, como también los perros callejeros que pasen por estos lugares; todos mayores de 6 meses de edad y tomados al azar. Para el análisis estadístico se utilizó la prueba de Chi Cuadrado (χ^2) con un nivel de 0,05.

Recolección de las Muestras

Las muestras de sangre fueron tomadas en las horas comprendidas entre 18H00 – 20H00, por la periodicidad nocturna. Previa a la extracción de sangre se sujetó al animal para depilar la zona; con la respectiva antisepsia se extrajo de la vena cefálica 3 ml de sangre con anticoagulante. Las muestras fueron conservadas en un vacutainer con EDTA y transportadas al Laboratorio de Diagnóstico Veterinario de la Universidad Nacional de Loja para su procesamiento.

Preparación de las muestras

Para la Tinción con Giemsa se realizó frotis sanguíneos con la finalidad de identificar larvas de dirofilaria muertas. Para la técnica de Gota Gruesa se colocó una gota de sangre fresca sobre un portaobjetos, extendiéndola hasta cubrir una superficie doble de la original; con ello se consiguió desfibrinar la sangre y ofrecer una visión más clara; finalmente, la preparación se dejó secar (al aire o en una estufa a 37 °C) y se observó al microscopio las huellas de la motilidad de las larvas. La técnica de Knott se realizó mezclando 1 ml de sangre con 9 ml de formol al 2 % en un tubo de vidrio; se centrifugó la mezcla durante 8 minutos a 1500 r.p.m.; se eliminó el

sobrenadante, y se añadió al sedimento azul de metileno al 0,1%, para luego examinar el sedimento al microscopio.

RESULTADOS

La prevalencia más elevada de *D. immitis*, se encontró en el sector Tarqui con 19,05%, seguido de Urdaneta y Febres Cordero con 14,29% y finalmente el sector de Ximena con el 9,52%; los sectores 9 de Octubre y Letamendi, no reportaron prevalencia en ninguna de las técnicas realizadas (tabla 1).

Tabla 1. Prevalencia de *D. immitis* en perros de la ciudad de Guayaquil por sectores

Sector	Casos	Positivos	Porcentaje
Tarqui	21	4	19,1
9 de Octubre	21	0	0
Urdaneta	21	3	14,3
Letamendi	21	0	0
Febres Cordero	21	3	14,3
Ximena	21	2	9,52
TOTAL	126	12	9,52

La categoría de animales con mayor prevalencia (ver tabla 2) fue la comprendida entre 1 y 7 años con 17,5%, seguida de la categoría mayor a 7 años que presentó una prevalencia de 16,7%, no encontrándose casos positivos en la categoría de animales menores a 1 año; Al análisis estadístico (χ^2), se evidencia diferencia entre los grupos etarios ($P < 0,05$).

Tabla 2. Prevalencia de *D. immitis* en perros de la ciudad de Guayaquil según la edad de los animales.

Categorías	Casos	Positivos	Porcentaje
6 meses a 1 año	57	0	0
1 a 7 años	63	11	17,5
> 7 años	6	1	16,7
TOTAL	126	12	9,52

La prevalencia por sexo señala que el 11,1% corresponde a machos y el 7,4%, a las hembras. Al análisis estadístico no se reporta diferencia entre sexos ($P > 0,05$); por lo tanto, la presencia de la enfermedad no está asociada al sexo de los animales (tabla 3).

Tabla 3. Prevalencia de *D. immitis* en perros de la ciudad de Guayaquil según el sexo de los animales.

Sexo	Casos	Positivos	Porcentaje
Macho	72	8	11,1
Hembra	54	4	7,41
TOTAL	126	12	9,52

En lo que respecta a la raza (tabla 4), los resultados reportan que la raza Teckel y Labrador presentan el 50% de prevalencia; luego se ubica de la raza Golden con el 33,3%, seguida de la raza Pitbull con el 16,7%; la French con el 9,8%, y finalmente la raza mestiza con el 3,4%; otras razas muestreadas, no presentaron prevalencia; encontrándose diferencia estadística ($P < 0,05$), al análisis de χ^2 .

Tabla 4. Prevalencia de *D. immitis* en perros de la ciudad de Guayaquil según la raza de los animales.

Raza	Casos	Positivos	Porcentaje
French	41	4	9,76
Golden	3	1	33,3
Labrador	2	1	50,0
Mestizo	58	2	3,45
Pitbull	6	1	16,7
Teckel	6	3	50,0
TOTAL	126	12	9,52

El método con mayor eficiencia para el diagnóstico de *Dirofilaria* es Giemsa con el 100%, seguido de Gota Gruesa y Knott con 83,3% (tabla 5).

Del total de casos positivos (12), el 91,7% corresponde a casos positivos para *Dirofilaria*

immitis, en tanto que el 8,33% corresponde a *Dipetalonema* (tabla 6).

Tabla 5. Eficiencia de los métodos de laboratorio para el diagnóstico de *D. immitis* en perros de la ciudad de Guayaquil

Método	Positivos	Porcentaje
Gota gruesa	10	83,3
Giemsa	12	100
Knott	12	83,3

Tabla 5. Diagnóstico diferencial entre larvas de *Dirofilaria immitis* y *Dipetalonema* en perros de la ciudad de Guayaquil

KIT 4Dx			
Diagnóstico	Positivos	Nº Casos	Porcentaje
<i>Dirofilaria</i>	12	11	91,7
<i>Dipetalonema</i>	12	1	8,33

DISCUSIÓN

Los resultados muestran una prevalencia de 9,53 %, siendo Tarqui el sector con mayor número de muestras positivas con un 19,05 %. Al evaluar la incidencia obtenida en el presente estudio, este sector cumple con las condiciones necesarias para la existencia de vectores, clima, humedad y aguas estancadas.

En lo concerniente a la edad, se obtuvo una prevalencia de 17,46% para animales de un año a siete años y de un 16,67% para animales mayores de siete años. Estos resultados concuerdan con lo reportado por Peniche et al., (2004), quienes también reportan a los animales entre uno y siete años como el grupo de mayor susceptibilidad con un 18,49%, de muestras obtenidas.

En cuanto al sexo, se encontró una prevalencia de 11,11% en machos y 7,41% en hembras. Esto difiere de lo reportado por Peniche et al. (2004), quienes obtuvieron en su investigación un 17,3% de positividad en hembras y un 12,7

% para machos, resultando casi proporcional la relación de animales afectados por sexo. Al análisis de χ^2 , no se evidencia diferencia estadística ($P > 0,05$); discordando también con lo manifestado por Rawlings y Calvert (1997) y Acuña (2002), quienes encontraron un 20,8% y 10,3% respectivamente para machos y hembras, afirmando que los machos se infectan más que las hembras, debido a que estos permanecen con mayor frecuencia en el exterior del domicilio.

Si bien, en la prevalencia por raza se ha determinado diferencia estadística por la prueba de χ^2 , es importante señalar que estos resultados pueden haber sido sesgados por la presencia de un gran número de animales menores a 1 año, pertenecientes a diferentes razas y que resultaron negativos a *D. immitis*. Rodríguez et al., (2004), manifiesta que la raza no es un factor determinante para la presentación de la enfermedad.

De los 126 animales muestreados se detectaron 12 animales positivos mediante la prueba de Giemsa dando un 100% de eficacia, seguida de la técnica de Knott y Gota gruesa con el 83,33 %. Estos resultados son similares a los obtenidos por Peniche et al (2004), quien obtuvo una efectividad en el diagnóstico de dirofilariosis en perros de un 88,45% utilizando el método de Knott, el mismo que hace mención que este método es superior que cualquier método directo. Paucar (2005), (Ortiz, 2010), Ayo (2003); y, Ruiz (2001), obtuvieron resultados similares tanto para la técnica de Knott Y Gota Gruesa de un 75,32%; lo que coincide con lo reportado por Ángeles, G. 2007 en que hay métodos más eficientes que la técnica de Knott y ésta no debería ser utilizada como prueba de referencia.

La prueba de inmunoreacción del kit 4Dx permitió diferenciar el tipo de microfilaria existente y conocer si estas correspondían o no a *D. immitis*, cuya patogenecidad por su localización, es superior a la del género *Dipetalonema*

spp. Para ello, se muestrearon los 12 animales positivos, los resultados derivados de esta fase del estudio indicaron que el 91,7% de los animales microfilarémicos fueron positivos a la presencia de antígenos de *D. immitis*; ante esto y por exclusión, se considera que el 8,33% de los animales positivos pertenecen a *Dipetalonema* spp.

La infestación por *Dipetalonema* spp., se caracteriza por una baja densidad de microfilarias circulantes y generalmente se asocia este evento, a la presencia de *D. reconditum* (Georgi y Georgi, 1991). Esta reflexión, puede estar asociada a la escasa cantidad de larvas observadas en la mayoría de los animales positivos.

CONCLUSIONES

La prevalencia de Dirofilariosis canina en perros de la ciudad de Guayaquil es del 9,52%; con mayor presencia de la enfermedad en el sector Tarqui con el 19,05%, seguido de los sectores Urdaneta y Febres Cordero con el 14,29%. La raza más afectada es la French con el 9,8%; y, los animales comprendidos entre 1 y 7 tuvieron un porcentaje de infestación de 17,46%; y para la edad de más de 7 años fue del 16,67%; sin reportarse casos en animales menores a 1 año. De acuerdo al sexo, los machos presentaron una prevalencia de 11,11%; y las hembras el 7,41%; sin existir diferencia estadística a la prueba de χ^2 ($P > 0,05$).

El método más eficaz para diagnóstico de *D. immitis* es el de Giemsa con el 100%, seguido de Gota Gruesa y Knott con el 83,3%. El Diagnóstico diferencial por medio del Kit 4Dx, reportó 91,7% para *D. immitis* y 8,3% para *Dipetalonema reconditum*.

AGRADECIMIENTOS

Al Laboratorio de Diagnóstico Veterinario

de la UNL y a su personal técnico, por el apoyo logístico brindado en el desarrollo de la presente investigación.

LITERATURA CITADA

Acuña, P. 2011. Determinación de la prevalencia de *Dirofilaria immitis* en los distritos de San Martín de Porres, Lima y Rímac. Lima - Perú <http://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtual/tesis/salud/acup/>.

Acuña, P. y Chávez, A. 2002. Determinación de la prevalencia de *Dirofilaria immitis*. Revista de investigaciones Lima Perú. sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtual/tesis/salud/.../revisión_literatura.htm.

Ayo, E. 2003. Prevalencia de *Dirofilaria immitis* en perros de la ciudad de Guayaquil – Tesis doctoral, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Agraria del Ecuador Guayaquil-Ecuador.

Atkins, C.E., B.W. Keene, S. M. McGuirk. 1988. Pathophysiologic mechanism of cardiac dysfunction in experimentally induced heartworm caval syndrome in dogs:

Barriga, O.O. 2002. Las enfermedades parasitarias de los animales domésticos en la América Latina. Editorial Germinal, Santiago. Chile.

Brito, A.C; Villa-Nova, M.C; Martins, R.D.A; Gomez and Regis, L (2001). Prevalence of canine filariasis by *Dirofilaria immitis* and *Dipetalonema reconditum* in Maceio, Alagoas State, Brazil. *Cad. Saude Publica.* 17 (6). p. 1497-1504.

Bowman, D. 2007. Enfermedades infecciosas y parasitología en caninos y felinos. Editorial Intermedica. Argentina. 529 p.

Dillon, R. 2000. *Dirofilaria immitis* in dogs and cats. En: ETTINGER, S. J., E. C. FELDMAN. 2000. Textbook of veterinary internal medicine. Disease of the dog and cat. 5th ed., W. B. Saunders Company, Philadelphia. USA.

González, et al. *Dirofilaria immitis* en perros. *Bioagrocencias.* Vol. 2 No. 1. enero - junio de 2009. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Cam-

pus de Ciencias Biológicas y Agropecuarias – UADY. Disponible en: URL:<http://www.ccba.uady.mx/revistas/V2N1/V2%20N1%20Articulo%204.pdf>

Gómez, B.M.; Rojo, V.F. y Guerrero. J. (1999). Filaritosis. En: M.Cordero del Campillo y F. Rojo. Edit. Parasitología Veterinaria. Madrid: Edit. Mc. Graw-Hill-Interamericana. P.679-693.

Kittleson, y Kienle 2000. Medicina cardiovascular de pequeños animales. 2a ed., Multimédica, Barcelona. España. PP620-628.

Muñoz M. 2003. Memoria de Título presentada como parte de los requisitos para optar al Título de Médico Veterinario Valdivia Chile.

Rawlings, C., Calvert, C. 1997. Parasitología para Veterinarios. Tratado de Medicina Interna Veterinaria. Ed. Intermédica Argentina. PP. 38-311-314-1263.

Suarez Wilson. Prevalencia De *Dirofilaria immitis* Canina En Perros En La Ciudad De Huaquillas. Universidad Técnica De Machala. Facultad De Ciencias Agropecuarias. Escuela De Medicina Veterinaria y Zootecnia. 1990.

Telcan Diego. Prevalencia De *Dirofilaria immitis* Canina En Perros En La Ciudad De El Guabo. Universidad Técnica De Machala. Facultad De Ciencias Agropecuarias. Escuela De Medicina Veterinaria Y Zootecnia. 1987

Urquhart, G. 2001. Parasitología Veterinaria. Editorial Acribia, Zaragoza. España. PP482.

Urquhart. Parasitología Veterinaria. Ed. Acribia S.A. España. 2001. pp. 100- 102.