



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTILÁN**

**PREVALENCIA Y COMPARACIÓN DE DIFERENTES TÉCNICAS DE
DIAGNÓSTICO DE DIROFILARIA IMMITIS EN CANINOS DE CIUDAD
DEL CARMEN (CAMPECHE), YAUTEPEC (MORELOS) Y DE LA ZONA
METROPOLITANA DEL VALLE DE MÉXICO**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MÉDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA**

**PRESENTA:
CARLA MARIANA LOERA RUBIO**

**ASESORA:
DRA. MARCELA AUTRAN MARTÍNEZ
COASESORES:
MTRA. NORA ROSALÍA FLORES HUITRÓN
MTRO. JUAN PABLO MARTÍNEZ LABAT**

CUAUTILÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO, 2023.



**UNAM
CUAUTILÁN**



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

ÍNDICE

Resumen	1
Introducción	4
Marco teórico	6
Aspectos biológicos de <i>Dirofilaria immitis</i>	6
Aspectos epidemiológicos de la dirofilariasis canina.....	11
Aspectos biológicos de los vectores.....	13
Relación entre <i>Dirofilaria immitis</i> y <i>Wolbachia pipientis</i>	16
Patogenia de la enfermedad.	17
Signología.	24
Diagnóstico.....	25
Diferenciación entre <i>Dirofilaria immitis</i> y otras filarias que afectan a los caninos.....	26
Tratamiento de dirofilariasis en caninos.	27
Dirofilariasis en el ser humano.	29
Prevención y control de la enfermedad.	30
Justificación	33
Objetivo general	34
Objetivos particulares	34
Hipótesis.....	34
Material y metodología	35
Obtención y procesamiento de muestras.	35
Diseño experimental y análisis estadístico.....	39
Resultados y análisis de resultados	42
Discusión	70
Conclusiones	77
Apéndices.....	79
Referencias bibliográficas.....	94

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue establecer la prevalencia de infección en caninos por *Dirofilaria immitis* en relación con el número de pacientes muestreados en tres ubicaciones: 50 pacientes en Ciudad del Carmen Campeche; (prevalencia=32%), 50 pacientes en Yautepec, Morelos (prevalencia=2%); y 50 pacientes en la Zona Metropolitana del Valle de México (prevalencia=0%). Paralelamente, se calculó y comparó la sensibilidad (S) y especificidad (E) de las técnicas de examen en fresco (S=50%, E=97%), gota gruesa (S=52.9%, E=98.5%), Knott modificada (S=70.6%, E=98.5%), Vcheck CHW Ag (S=100%, E=100%) y Anigen Rapid CHW Ag 2.0 (S=100%, E=100%) para el diagnóstico de esta parasitosis.

INTRODUCCIÓN

A través de los siglos, en numerosas culturas del mundo, los caninos han desempeñado una relación simbiótica con el ser humano. Las antiguas culturas mesoamericanas no fueron la excepción. En el Valle de México se han recolectado evidencias arqueológicas de que en las culturas prehispánicas los perros se empleaban como alimento y eran compañeros de los difuntos ya que se les conferían distintos simbolismos teológicos; se sabe también que en aquellos tiempos la crianza de caninos era una labor reconocida. Con el paso de los siglos, al igual que en el resto del mundo, en México los caninos han sido criados y adiestrados para la realización y potencialización de distintas funciones zootécnicas, y en la actualidad es una de las especies utilizadas como animal de compañía más común y popular entre la sociedad mexicana (Valadez, *et al*, 2004).

La estrecha relación actual de los caninos con el ser humano requiere de un constante análisis antropológico y de salud pública, ya que ambas especies pueden compartir distintas enfermedades (zoonosis y antropozoonosis). Además, hay evidencias de que la falta de cultura de la tenencia responsable de animales de compañía ha generado un aumento poblacional desmedido de caninos en situación de calle que se ha convertido en un franco problema de salud pública. Según un censo publicado por el Instituto Nacional de Estadística y Geografía, México es el país latinoamericano con el mayor número de perros domésticos, siendo un total de más de 43 millones (Instituto Nacional de Estadística y Geografía, 2021).

La convivencia de los animales de compañía con el hombre ha demostrado indudables beneficios económicos, culturales y psicológicos; sin embargo, estos ejemplares se ven afectados por diferentes agentes parasitarios que alteran su salud y, que si no son controlados pueden ocasionar problemas en el bienestar y la seguridad de sus tutores, sobre todo en zonas donde su tenencia y reproducción no es controlada. A pesar de los enormes esfuerzos del hombre por eliminar a los parásitos de los caninos, estos continúan siendo un grave problema de salud en países desarrollados y este impacto es mucho más notorio en países en vías de desarrollo por la acentuación de las dificultades para acceder a servicios sanitarios, médicos, educativos y de vivienda digna por mencionar sólo algunos factores. Los endoparásitos se encuentran asociados a problemas gastroentéricos, circulatorios, así como de otros tejidos y órganos; en tanto que los ectoparásitos están asociados mayormente padecimientos dermatológicos y algunos, como los culícidos y las garrapatas fungen como vectores de

enfermedades infecciosas que causan alteraciones sistémicas en los caninos. Para su correcto control, es indispensable el desarrollo de estudios de epidemiología y salud pública para caracterizar el reto que cada uno de estos parásitos representa en la época moderna (Encalada, et al, 2019).

En este estudio, se busca enriquecer el entendimiento del diagnóstico y prevalencia de la dirofilariasis canina en tres distintas zonas del país, para constatar o contrastar la información existente acerca del comportamiento de distribución de la dirofilariasis canina en el territorio mexicano.

MARCO TEÓRICO

Aspectos biológicos de *Dirofilaria immitis*.

Granda, C. & Rivas, M. (2021) señalan que *Dirofilaria immitis* (*D. immitis*) es un parásito también conocido como “gusano del corazón del perro” y es una filaria que afecta al perro doméstico y otros mamíferos incluyendo al hombre. Este nemátodo de la familia *Onchocercidae* de morfología filiforme, cilíndrica y blanquecina presenta dimorfismo sexual: las hembras de *D. immitis* llegan a medir de 23 a 31 cm en su estado adulto, mientras que los machos alcanzan un tamaño de entre 15 y 19 cm. Las hembras son larvíparas y liberan a la circulación del hospedero estadíos larvarios denominados “microfilarias” que miden de 220 a 230 μm de largo. El principal reservorio y hospedador definitivo es el perro, pero también puede infectar a gatos, hurones, leones marinos, otros cánidos salvajes y accidentalmente al ser humano.

A continuación, se describe la taxonomía de este parásito:

- Nombre científico: *Dirofilaria immitis*.
- Phylum: *Nematoda*.
- Clase: *Secernentea*.
- Orden: *Spirurida*.
- Familia: *Onchocercidae*.
- Género: *Dirofilaria*.
- Subgéneros: *Dirofilaria* y *Nochtiella*

Para analizar las enfermedades de tipo parasitario, es elemental conocer y entender el ciclo biológico que cumplen dichos organismos para perpetuarse en su(s) hospedador (es). El ciclo biológico de *Dirofilaria immitis* inicia cuando mosquitos de los géneros *Culex*, *Aedes* o *Anopheles* ingieren sangre con microfilarias, al picar a un perro portador de este parásito. Las microfilarias llegan al intestino del mosquito, y después llegan a los túbulos de Malpighi donde las microfilarias mudarán para convertirse en larvas 1 (L1), larvas 2 (L2) y luego en larvas 3 (L3). Las L3 migran a las piezas bucales donde ya se consideran fases infectantes (F.I), las cuáles son sexualmente diferenciadas. Para que la L1 se convierta en F.I pueden pasar de 10 a 14 días a una temperatura constante de 21°C. Cuando el mosco pica a un perro sano, las F.I rompen el labrum del mosquito, y éstas emergen de la probóscide usando una gotícula de

hemolinfa como vehículo para ser inoculadas en el cuerpo del perro. A continuación, se incluyen un par de esquemas (**Figura 1 y Figura 2**) que complementan el entendimiento de las estructuras anatómicas de los mosquitos implicadas en la transmisión de microfilarias:

Figura 1. Esquema de localización de túbulos de Malpighi. (Modificado de Maia, 2015).

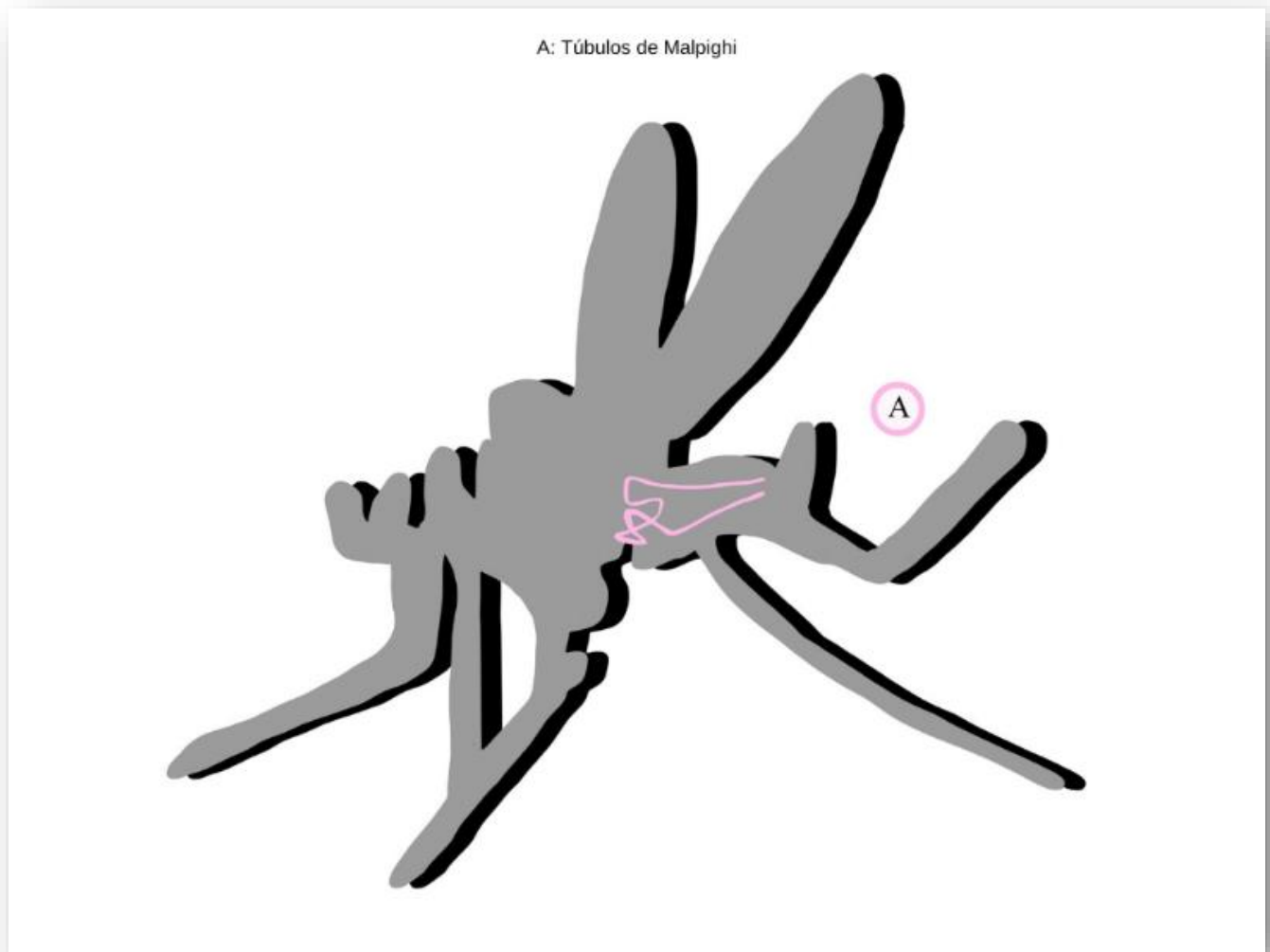
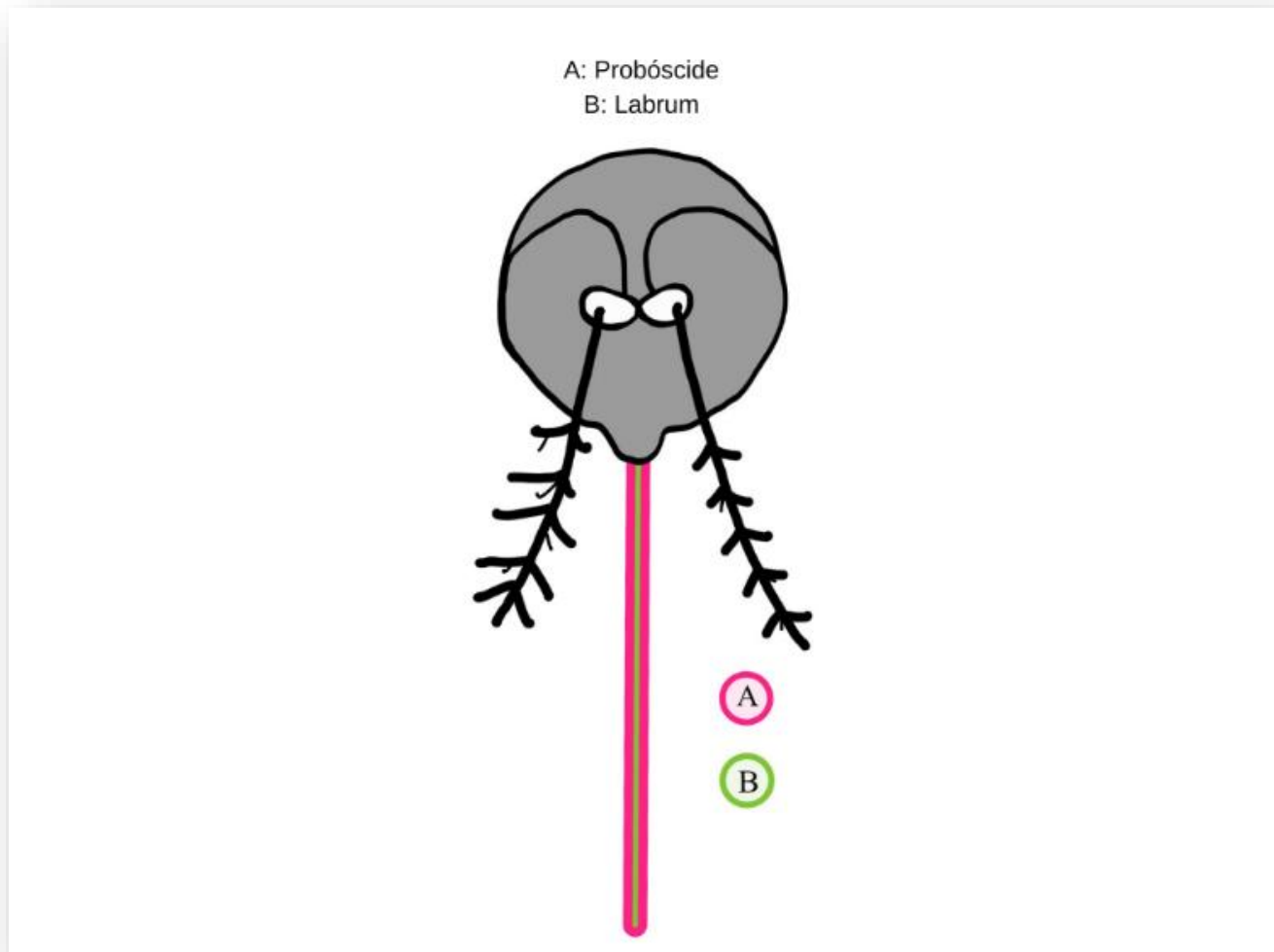


Figura 2. Esquema de órganos bucales de los mosquitos (Modificado de Slater, 2014).

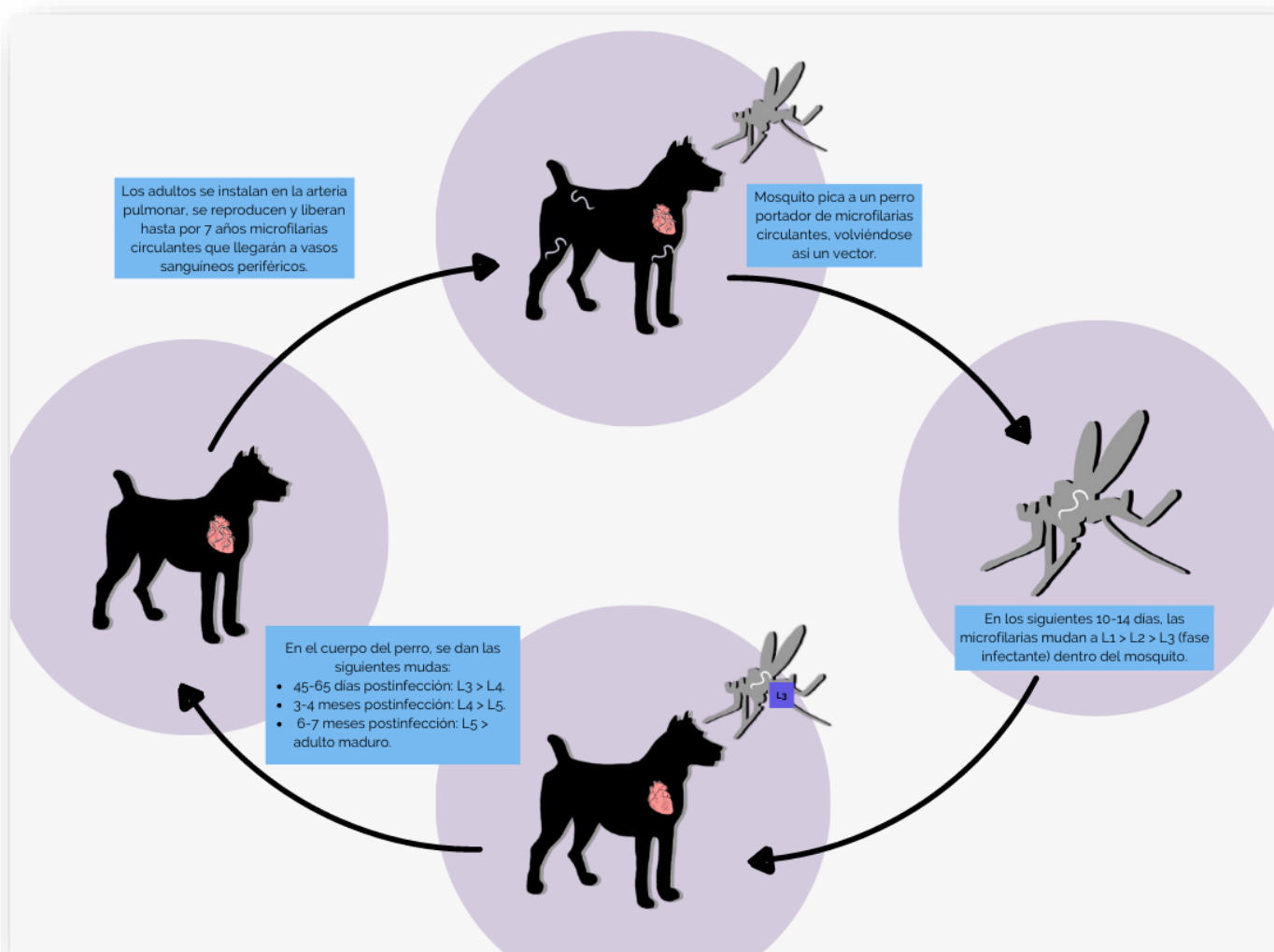


Las F.I viajan a través de las fibras musculares del hospedero y al cabo de 3 o 4 días, mudan a larvas 4 (L4). Las L4 migran por el tejido subcutáneo durante 50-70 días, En dicho lapso temporal se convierten en larvas 5 (L5). La L5 juvenil es capaz de penetrar tejidos, por lo que es común que se alojen en músculo estriado esquelético antes de llegar a su localización final. Se han reportado migraciones erráticas de L5 al bazo, cámara anterior del ojo, cerebro y arterias de miembro pelviano. Entre el día 70 y el día 110 del ciclo biológico, por medio de la circulación venosa, las L5 finalmente se asientan en la arteria pulmonar, la cual es su localización final definitiva. En infecciones elevadas puede haber gusanos en ventrículo y aurícula derecha. Al cabo de 90 días, la L5 muda a fase adulta alcanzando la madurez sexual. Una vez alcanzada

dicha madurez, si hay ejemplares hembras y machos, (lo cual ocurre en el 60% de los caninos infectados) estos copularán y las hembras liberarán microfilarias viables al torrente sanguíneo, haciendo posible su llegada a los vasos sanguíneos periféricos. Son necesarios de 5 a 7 meses para que las microfilarias circulantes en sangre alcancen una cantidad detectable. Los adultos de *Dirofilaria immitis* pueden producir microfilarias hasta por 7 años.

Sin embargo, Muñoz, M. (2003) menciona que pasando los primeros 6 meses de patencia de microfilaremia, la producción y liberación de microfilarias disminuirá considerablemente. En áreas endémicas, se estima que el promedio es de 15 vermes por perro infectado. Con cantidades superiores, los parásitos se movilizan al corazón y se ubican en la aurícula y el ventrículo derecho llegando hasta la vena cava. Respecto a la cantidad de microfilarias que los mosquitos pueden transmitir, se ha observado que pueden ingerir entre 12 y 68 microfilarias por picadura, sin embargo, no hay diferencias significativas en el número de larvas que alcanzan el estado de fase infectante que es de 1 a 3 larvas. Este número limitado, se debe a la inmunorespuesta del mosquito, que ejerce melanización y encapsulamiento sobre las microfilarias ingeridas. Dependiendo de la especie, un mosquito puede transmitir un máximo de 10 fases infectantes. Las microfilarias tienen una gran capacidad para emigrar intravascular y extravascularmente por todos los órganos, pudiendo pasar de la madre al feto transplacentariamente, lo que permite detectarlas en cachorros. Las larvas transmitidas de esta forma no llegan a transformarse en parásitos adultos, ya que requieren del paso por el mosquito y son destruidas por el sistema inmune, pero son infectivas para los mosquitos. Lo mismo ocurre con las microfilarias que pasan por transfusiones sanguíneas. Para mejorar el entendimiento del ciclo biológico de *Dirofilaria immitis*, se incluye la **Figura 3**.

Figura 3. Esquema visual del ciclo biológico de *Dirofilaria immitis*. (Modificado de American Heartworm Society, 2014).



Aspectos epidemiológicos de la dirofilariasis canina.

Granda, C. & Rivas, M. (2021) mencionan que esta enfermedad tiene una distribución mundial con mayor prevalencia en zonas cálidas y húmedas las cuales favorecen el desarrollo de los vectores que la transmiten (moscos de los géneros *Aedes*, *Culex* y *Anopheles*). Esta enfermedad permanecía principalmente dentro de ecosistemas con las características mencionadas, pero a causa del cambio climático producido de forma natural y por las actividades económicas del hombre, así como por la creciente movilización de caninos, esta enfermedad se ha reportado en zonas donde no solía ser endémica

Algunos lugares donde ha sido reportada la prevalencia de este parásito, aún sin que cumplan con todas las características medioambientales para su presentación son Canadá y Argentina (Cuervo, P, et al, 2015).

Granda, C. & Rivas M. (2021) también mencionan que la prevalencia de este parásito en el continente americano varía considerablemente de un punto a otro, en áreas con climas más fríos como en Canadá, la prevalencia suele ser mucho menor, pero puede llegar hasta el 8.4% como en el sur de Ontario. En los Estados Unidos la prevalencia varía del 1% al 12%, pero puede llegar a más del 40% en focos que son altamente endémicos, por otro lado, desde México hasta la Patagonia, la prevalencia llega a ser extremadamente alta en ciertos puntos. Por mencionar algunos ejemplos, llega al 42% en la Costa del Golfo de México, 63.2% en el Caribe y 74% en la región de La Mesopotamia Argentina. En otro estudio realizado en el estado de Amazonas, en el norte de Brasil, los autores detectaron una prevalencia del 44% según la detección de ADN de *D. immitis*. Los estudios realizados indican que la variación en la prevalencia se debe a diversos factores medioambientales, como el clima; y poblacionales, como las diferentes condiciones de las poblaciones caninas.

La presentación de esta enfermedad se condiciona por los factores que favorecen el desarrollo de las larvas de los culícidos. Estos factores son: temperatura igual o superior a 14°C, humedad elevada y presencia de caninos. Es por esto, que los perros cuyas vidas tienen lugar fuera de un hogar y que no tienen acceso a programas de desparasitación constantemente, tienen un riesgo de cuatro a cinco veces mayor de contraer dirofilariasis (Torres, F., 2020).

Muñoz, M. (2003) señala que 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. El desarrollo se interrumpe a temperaturas inferiores a los 12°C, sin embargo, las larvas de *D. immitis* pueden sobrevivir en el mosquito aun cuando las temperaturas sobrepasan este umbral. Como ya se mencionó previamente, la dirofilariasis es una enfermedad transmitida por culícidos de los géneros *Aedes*, *Culex* y *Anopheles*. Ponce, J. (2018) señala que la transmisión se condiciona por factores ambientales como temperatura, humedad, densidad de mosquitos y disponibilidad de hospederos definitivos. Numerosos autores señalan un efecto de fototropismo negativo reflejado en que la cantidad de microfilarias circulantes en la sangre periférica de los perros suele aumentar a altas horas de la noche, sin existir suficiente evidencia que lo sustente.

Aspectos biológicos de los vectores.

Para comprender los aspectos epidemiológicos que rodean a la dirofilariasis canina, resulta imprescindible comprender la biología de sus vectores, partiendo desde su clasificación taxonómica:

- Reino: *Animalia*.
- Filo: *Arthropoda*.
- Clase: *Insecta*.
- Orden: *Diptera*.
- Familia: *Culicidae*.
- Géneros: *Culex*, *Aedes*, *Anopheles*.

Chordá, F. (2014) menciona los principales aspectos del ciclo biológico de los culícidos. Los mosquitos son insectos asociados a sistemas acuáticos estancos o de poca corriente, pues es ahí donde establecen su lugar de cría. Su presencia en ambientes lóticos (ríos o arroyos) tiene lugar en los márgenes, y en las zonas protegidas por la vegetación. Los culícidos exhiben una metamorfosis completa en la que la forma juvenil pasa por las fases de larva y de pupa antes de convertirse en adulto alado. La larva es anatómica y fisiológicamente diferente al adulto, siendo sus hábitats y sus apetencias tróficas totalmente distintas. La duración total del ciclo en óptimas condiciones varía según la especie, pero suele completarse entre una y tres semanas. Durante su desarrollo atraviesa cuatro fases (huevo, larva, pupa y adulto), con etapas asociadas al medio acuático (huevo, larva y pupa) y al medio aéreo (adulto), el adulto es la única fase totalmente independiente del agua. De todas ellas, la larva es la única que atraviesa varios estados evolutivos (L1-L4) antes de transformarse en pupa. A la pupa se le considera una fase de transición entre la larva y el adulto en la que el mosquito no se alimenta. Es por eso que las larvas deben de almacenar la suficiente energía para poder soportar el elevado gasto energético derivado de la metamorfosis. El huevo, generalmente se deposita individualmente o en agrupaciones denominadas navículas directamente sobre el agua o sobre el sustrato seco potencialmente inundable. El número de huevos depositados en cada ciclo puede variar entre 50 y 200 dependiendo de la especie, del estado fisiológico de la hembra y de las condiciones ambientales. En general, la puesta se lleva a cabo entre dos y cuatro días posteriores a la










ingesta de sangre. En función de cómo y dónde realicen la ovoposición, las especies se pueden clasificar en dos grandes grupos: especies que depositan los huevos sobre la superficie del agua, ya sea de forma individual o en navículas y especies que depositan los huevos sobre la tierra. El desarrollo embrionario se trata de un proceso que empieza nada más finaliza la puesta y que, en términos generales, es muy similar en todos los géneros estudiados. El tiempo de desarrollo se correlaciona positivamente con la temperatura de forma que temperaturas elevadas lo aceleran reduciendo el tiempo de eclosión y temperaturas próximas a la congelación. Una vez completado el desarrollo embrionario tiene lugar la eclosión, tras la eclosión, las larvas jóvenes ya están totalmente adaptadas para vivir en la columna de agua.

No existe otro grupo de insectos que represente tanto impacto en la salud pública como los Dípteros, ya que favorecen la propagación de patógenos que causan graves enfermedades que afectan a millones de personas y animales alrededor del mundo. Al menos 11 familias de Dípteros, destacando entre ellas la familia *Culicidae*, que incluye a los ejemplares conocidos comúnmente como mosquitos o zancudos reúnen especies que actúan como vectores biológicos y mecánicos de patógenos causantes de patologías como la Leishmaniasis, Bartonelosis, Filariasis, Tripanosomiasis, Miasis, Fiebre amarilla, Malaria, Zika, Paludismo, Dengue, Virus del Nilo Occidental, Fiebre del Valle de Rift, Chikungunya entre otras tantas más (González, et al, 2016).

Los *Diptera* son un taxón bien definido, cuyos ejemplares presentan dos marcadas características: alas posteriores reducidas y piezas bucales adaptadas para succionar líquidos. La Familia *Culicidae* merece particular atención en todo el mundo, dada la importancia médica y veterinaria de éstos como reservorio y vectores de enfermedades. Son potenciales vectores biológicos de distintos tipos de virus, protozoos y nemátodos. Dicho potencial se encuentra en un permanente aumento dadas las capacidades con las que cuentan para colonizar nuevas regiones con éxito. La transmisión de los patógenos mencionados es generalmente biológica, es decir, el parásito debe pasar obligatoriamente un período de replicación y propagación en el vector insecto. Lo anterior se logra gracias al hábito hematófago de las hembras que contraen el patógeno desde un vertebrado hasta pasarlo a otro, siempre que la ecología y fisiología del mosquito sea la apropiada para la transmisión. Para una transmisión exitosa se requieren múltiples picadas (González, et al, 2016).

Los culícidos tienen una distribución mundial, siendo particularmente abundantes en las regiones tropicales y subtropicales. Se encuentran ausentes sólo en la Antártida y en algunas islas. Se han encontrado en alturas de hasta 5.500 msnm y en profundas minas a 1.250 m bajo el nivel del mar. En términos de morbilidad y mortalidad, causada por las enfermedades vectoriales, los mosquitos son los vectores más peligrosos, principalmente en las regiones tropicales y subtropicales del planeta (González, et al, 2016). A continuación, en el **Cuadro 1**, se esquematizan las distintas fases de los géneros *Culex*, *Aedes* y *Anopheles*.

Cuadro 1. Aspecto externo de las distintas fases de culícidos de los géneros *Culex*, *Aedes* y *Anopheles*.

	<i>Culex spp.</i>	<i>Aedes spp.</i>	<i>Anopheles spp.</i>
Adulto			
Pupa			
Larva			

Relación entre *Dirofilaria immitis* y *Wolbachia pipientis*.

Morchón, R. (2009) menciona que *Wolbachia pipientis* es un abundante, diverso y versátil género bacteriano que se clasifica como Gram (-), intracelular obligado que se comporta como endosimbionte de diferentes artrópodos y nemátodos. Pertenece a la familia *Anaplasmataceae*, al orden *Rickettsiales*, subdivisión *Alphaproteobacteria*. Esta bacteria fue descubierta en 1924 por Samuel Wolbach en el tejido ovárico de un espécimen de mosquito *Culex pipens*. Cabe señalar que en la década de los noventa, con las nuevas técnicas de biología molecular se comprobó la presencia de *Wolbachia pipientis* en el 47% de los nemátodos filariales, 66% de todos los artrópodos, 45% de los ácaros, 35% de los isópodos terrestres y 40% de todos los insectos.

Wolbachia pipientis puede ser encontrado en todos los estadios de *Dirofilaria immitis* y se transmite vía vertical y materna ya que este endosimbionte se localiza en las células hipodérmicas de los cordones laterales y en los órganos reproductores femeninos de *D. immitis*. La relación de esta bacteria con los nemátodos, es considerada un mutualismo nutricional puesto que dicha bacteria provee a las filarias de vitaminas, nucleótidos, cofactores y grupo Hem; por lo que es necesaria para el crecimiento, desarrollo, embriogénesis y supervivencia del nemátodo.

Experimentalmente, se ha demostrado que filarias libres de *Wolbachia pipientis* tratadas con tetraciclinas disminuyen su índice de maduración, sobrevivencia y reproducción. Este mutualismo es de importancia para la salud pública ya que en los humanos y caninos que padecen dirofilariasis, eventualmente mueren las filarias, provocando así la liberación de *Wolbachia pipientis* lo cual genera signos clínicos como linfangiogénesis, dilatación de los vasos linfáticos, exacerbación de daño pulmonar y renal, así como proliferación endotelial linfática. Es por esta situación que en los protocolos terapéuticos para dirofilariasis, se incluye a la doxiciclina (Dingman, et al, 2010).

Patogenia de la enfermedad.

Como ya se mencionó anteriormente, *Wolbachia pipientis* es un endosimbionte de nemátodos como *Dirofilaria immitis*. Cabe destacar que cuando las filarias adultas se encuentran en el punto de mayor número de microfilarias liberadas, también se aumenta la liberación sistémica de esta bacteria Gram negativa, lo mismo ocurre ante la muerte de filarias adultas. Este endosimbionte es de alta relevancia en la patogenia de dirofilariasis canina, ya que aún en la actualidad es complejo determinar si las lesiones y signos encontrados en pacientes caninos con dirofilariasis son causados directamente por los diferentes estadios de *Dirofilaria immitis*, por el endosimbionte mencionado o por ambos. Al respecto, se ha señalado que la proteína de superficie de *Wolbachia* está asociada con la producción de marcadores inflamatorios en los hospederos como ciclooxigenasa-2, lipoxigenasa-5, leucotrienos, e-cadherina, etc. Se ha reportado que esta reacción inflamatoria de los hospederos es más intensa en pacientes que sufren la muerte natural de sus parásitos o que son tratados únicamente con antiparasitarios larvicidas o adulticidas que en aquellos que reciben tratamiento con tetraciclinas previo a los antiparasitarios. Se sabe también que los animales que viven con dirofilariasis, tienen antígenos y anticuerpos de *Wolbachia* en los tejidos, incluso macrófagos con *Wolbachia* en su interior han sido identificados en pulmones, hígado y riñones de estos perros. Es muy importante no perder de vista las implicaciones de esta simbiosis al hablar sobre la patogenia de la dirofilariasis (Dingman, et al, 2010).

Hay ocasiones en las que los diferentes estadios de *D. immitis* realizan migraciones erráticas que generan lesiones de importancia. Algunas localizaciones ectópicas o precardiacas de filarias adultas pueden ser la cámara anterior del ojo, quistes interdigitales hipodérmicos, quistes intramusculares y abscesos, bronquiolos, cavidad peritoneal, bazo e hígado. También se han encontrado fases adultas en el atrio y ventrículo izquierdo, desplazándose hacia el sistema arterial sistémico como en las arterias y ramas de la aorta abdominal, arterias de las extremidades posteriores y arterias cerebrales. La presencia de parásitos en una arteria sistémica podría explicarse por la persistencia del conducto arterioso o un defecto en el septo interventricular del corazón, que permita la comunicación de derecha a izquierda. Las fases adultas carecen de estructuras mecánicas para la penetración y migración a través de paredes de vasos, siendo más probablemente que las migraciones aberrantes sean resultado de L3 y

L4 erráticas, las cuales en el sistema nervioso central se encuentran en los ventrículos laterales del cerebro y espacio raquídeo de la columna vertebral. (Echeto, et al, 2005).

De acuerdo con lo señalado por Muñoz (2003), las lesiones provocadas por *D. immitis* son numerosas y graves. Se describirán detalladamente las siguientes: endoarteritis pulmonar proliferativa, hipertrofia e insuficiencia cardiaca derecha, alteración del parénquima pulmonar, lesión renal, lesión hepática, síndrome de la vena cava y otras alteraciones orgánicas.

- Endoarteritis pulmonar proliferativa:

La presencia de parásitos adultos en contacto directo con los vasos sanguíneos de los lóbulos pulmonares (caudales y accesorio principalmente), provoca alteraciones en las grandes arterias pulmonares. Las fases adultas vivas inducen, en primera instancia, una reacción arterial endotelial que comprende la inflamación, tumefacción celular, uniones intercelulares ensanchadas, y desprendimiento de las células endoteliales. 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. Estos cambios empiezan en las pequeñas ramas periféricas de la arteria pulmonar, en las que se fijan inicialmente los ejemplares adultos de *D. immitis*, y van avanzando hacia segmentos más proximales a medida que crecen las filarias. Esta endoarteritis pulmonar proliferativa inmunomediada, se considera patognomónica de la dirofilariosis.

- Hipertrofia e insuficiencia cardiaca derecha:

Cuando la endoarteritis pulmonar provoca pérdida de elasticidad de las paredes arteriales, se disminuye la presión arterial. Para mantener la alta presión de perfusión que se requiere para mover la sangre a los pulmones, hay un incremento del trabajo cardíaco y en un periodo aproximado de nueve meses, los efectos de la hipertensión pulmonar son compensados con la hipertrofia del ventrículo derecho. Si se reduce o elimina el flujo de sangre principalmente a los lóbulos pulmonares caudales, como consecuencia puede aparecer un desequilibrio ventilación/perfusión con la consiguiente hipoxia. Cuando los animales presentan una vasoconstricción hipóxica generalizada, como resultado de una enfermedad pulmonar, la

insuficiencia cardiaca derecha resultante se conoce como “*cor pulmonale*”. El clásico síndrome de *cor pulmonale* es inducido sólo en perros sometidos a ejercicio, ya que altas cargas de vermes pueden encontrarse con mínimos cambios cardiacos si el perro es sedentario. La insuficiencia cardiaca congestiva derecha, es frecuente en infecciones masivas y en animales sometidos a ejercicio físico. Los parásitos en el atrio y ventrículo derecho interfieren con su contracción y con el trabajo de la válvula tricúspide, provocando regurgitación, de manera que el aumento en la presión sanguínea se extiende a la aurícula derecha, venas cavas y al resto del flujo venoso. Esto produce estasis venosa con pulso yugular, congestión, edema, hepatomegalia, daño hepático y ascitis. En perros con dirofilariosis severa de larga duración, esta carga crónica de la presión en el ventrículo derecho puede dar lugar a un paro cardíaco.

- Alteración del parénquima pulmonar:

La alteración del parénquima pulmonar, venas y bronquiolos, lugares donde no llegan los vermes, son atribuidos a factores de crecimiento derivados de las plaquetas y a otros factores tróficos que difunden desde la arteria pulmonar lesionada, o probablemente las alteraciones sean secundarias al depósito de un antígeno del parásito o de *Wolbachia pipientis* en esas regiones que escapan por diapédesis hacia el parénquima. En la parte distal del lecho capilar, el septo alveolar desarrolla edema, los cilios bronquiales del epitelio bronquial se dañan derivando en necrosis. La afección de las arterias pulmonares aumenta la permeabilidad de las superficies vasculares permitiendo así el paso de plasma y células inflamatorias, apareciendo edema e inflamación periarterial con formación de infiltrados intersticiales y alveolares, compuesto principalmente por eosinófilos y neutrófilos. El fuerte flujo sanguíneo microvascular, provoca la ruptura de las células endoteliales incrementando la permeabilidad, aumenta el daño del lecho capilar e inundación alveolar, resultando finalmente en fibrosis no reversible. La fibrosis a su vez contribuye a disminuir el área de intercambio gaseoso, aumentando la resistencia vascular pulmonar y el estado hipóxico. La gravedad de este tipo de cambios pulmonares está directamente relacionada con la gravedad de las alteraciones de las arterias pulmonares. La microvasculatura del parénquima pulmonar suele presentar infiltración de células plasmáticas y eosinófilos, fibrosis de la íntima y engrosamiento de la túnica media. También puede presentarse neumonitis eosinofílica o alérgica que es un síndrome provocado por la hipersensibilización del hospedador a los antígenos de microfilarias (las L5 son altamente

alergénicas) y antígenos de *Wolbachia*, que inducen la destrucción inmunomediada de estos agentes por medio de anticuerpos. El exceso de Inmunoglobulinas G dirigidas a estos agentes, induce la adherencia leucocitaria a las microfilarias y a *Wolbachia*, causando su secuestro e inmovilización en la microcirculación del pulmón. Estos complejos antígeno-anticuerpo pueden ser ingeridos por células fagocitarias del sistema reticuloendotelial pulmonar, de los capilares pulmonares y septos alveolares. Las microfilarias muertas son rodeadas por inflamación eosinofílica granulomatosa, con una eosinofilia inusualmente alta. En esta intensa reacción inflamatoria están implicados neutrófilos, eosinófilos y macrófagos. Entre un 10 y un 15% de los perros con la enfermedad clínicamente inaparente tiene neumonitis eosinofílica. La tromboembolización es rara cuando el parásito está vivo, pero su muerte, de forma espontánea o inducida, se asocia a una enfermedad parenquimatosa severa del pulmón por trombosis masiva de los vermes muertos, que son barridos distalmente hacia las arterias más finas. El flujo sanguíneo se deteriora, incluso interrumpiéndose hacia los lóbulos caudales por lo que muestran consolidación, infarto y un mínimo funcionamiento al nivel de intercambio gaseoso. Los fragmentos del parásito son calcificados y parcialmente incorporados a la pared de la arteria, creando microfocos que cicatrizan con formación de gran cantidad de tejido conectivo fibroso. Los trombos y la rigidez de estas arterias lesionadas agravan la hipertensión pulmonar, siendo frecuente que el animal entre en insuficiencia cardiaca congestiva derecha o muera. Debido a localizaciones aberrantes, pueden aparecer embolizaciones en el cerebro, el ojo o en otras arterias sistémicas. Los casos de coagulación intravascular diseminada (CID), ocurren cuando la trombosis y la lisis de los coágulos provocan un déficit local de los factores de coagulación, apareciendo hemorragias multifocales. El neumotórax espontáneo en los perros por dirofilariosis se ha atribuido a ruptura de vesículas subpleurales, infecciones bacterianas secundarias a la trombosis y ruptura de abscesos en vías de desarrollo.

- Lesión renal:

La glomerulonefritis membranosa, que corresponde a una reacción de hipersensibilidad tipo tres, se presenta en casi todos los perros con dirofilariosis crónica. Esta glomerulopatía es causada por adhesión de antígenos solubles e inmunocomplejos en la membrana basal del glomérulo, provocando su engrosamiento con la consiguiente obstrucción de los capilares glomerulares. Dentro de los inmunocomplejos, están implicados los antígenos circulantes

solubles de adultos, microfilarias, *Wolbachia* (asociados con reacciones de hipersensibilidad tipo dos y tres), las IgG e IgM y el complemento. La glomerulonefritis puede dar paso a una nefrosis grave con proteinuria y, en algunos casos, puede llegar a provocar azotemia con hipoalbuminemia por insuficiencia renal. La nefritis intersticial con infiltrado de células plasmáticas, linfocitos y macrófagos en el intersticio medular y cortical, es otra importante alteración inmunopatológica. Estas lesiones pueden aparecer de forma focal o difusa. Microfilarias viables podrían efectuar un microtrauma en el endotelio glomerular.

- Lesión hepática:

El hígado de perros con hipertensión pulmonar suele presentar congestión pasiva leve que no afecta la funcionalidad, siendo apreciable en cortes histológicos la dilatación de sinusoides y áreas focales con retención de sangre. Cuando hay una insuficiencia cardiaca congestiva, existe una congestión venosa crónica y el hígado está más afectado, de esta forma la retención de sangre provoca hepatomegalia y disfunción de los hepatocitos, apreciable en el perfil enzimático. Además, se afecta el metabolismo de los lípidos, lo cual a su vez altera la integridad de las membranas celulares, principalmente de los eritrocitos, generando hemólisis.

- Síndrome de la vena cava:

El síndrome de la vena cava es una grave variante de la dirofilariasis, también denominada "hemoglobinuria dirofilariosa". Este síndrome se ha descrito en alrededor de un 20% de los casos de perros infectados en áreas endémicas, afectando en un 75 a 80% a machos, principalmente en animales menores de tres años. El parásito en su estado adulto reside principalmente en las arterias pulmonares del hospedador definitivo, manteniéndose en estos vasos gracias a la circulación sanguínea, pero cualquier incidente hemodinámico que tenga como consecuencia una hipoperfusión transitoria o mantenida de la arteria, les hace caer a través de la válvula pulmonar en el ventrículo derecho; los perros que padecen de una dirofilariosis clínica grave suelen presentar diversas anomalías hemodinámicas. La entrada de una masa de parásitos en el ventrículo derecho a causa de estas anomalías sería un factor desencadenante del síndrome siendo probable que puedan migrar hacia la aurícula derecha trepando por el aparato valvular tricúspide. Si hay un gran número de parásitos, los vermes pueden verse forzados hacia el interior de la vena cava y si la masa de vermes es lo bastante grande o si se entrelazan unos con otros alrededor de la válvula, las fuerzas hemodinámicas

pueden no ser suficientes para expulsarlos del corazón. El síndrome de la vena cava en perros se produce con una carga superior a 60 vermes, con el 55 a 84% de ellos en las venas cava craneal, caudal y aurícula derecha; el motivo de que algunos perros lo desarrollen y otros no, puede estar relacionado con la carga parasitaria absoluta o relativa (número de vermes por kilogramo de peso corporal). Altas cargas parasitarias ocurren en perros que no se han expuesto a la L3 previamente y que son picados por varios mosquitos infectados en un periodo de tiempo mayor a 3 meses. La interacción del parásito con la válvula tricúspide y la regurgitación de esta genera un soplo sistólico apical derecho, apreciable a la auscultación. La insuficiencia cardiaca derecha es secundaria a la sobrecarga de volumen de la aurícula y del ventrículo derecho debido a la regurgitación de la tricúspide, además, la presencia del parásito en la aurícula derecha, vena cava caudal y, en ocasiones venas hepáticas, provoca obstrucción del retorno sanguíneo elevando la presión venosa central. La insuficiencia cardiaca congestiva derecha provoca distensión de las yugulares, pulso yugular, descenso del gasto cardiaco (que puede ser exacerbado por la hipertensión pulmonar), hepatomegalia y ascitis. El hígado sufre tal congestión, que pueden presentarse cambios patológicos en todo el parénquima hepático. La regurgitación de la tricúspide, produce una disminución en el flujo de salida a través de los vasos pulmonares hacia el corazón izquierdo, resultando en una menor carga del ventrículo izquierdo (aurícula y ventrículo izquierdo en diástole disminuyen de tamaño) y se reduce el gasto cardiaco de salida del ventrículo izquierdo. La disminución del flujo sanguíneo sistémico produce síntomas de mala perfusión como mucosas pálidas, disminución de la presión del pulso femoral y tiempo de llenado capilar mayor a 3 segundos. La hemólisis intravascular generada por trastornos hemodinámicos es característica del síndrome de la vena cava. El hígado se vuelve incapaz de esterificar el colesterol libre, aumentando las concentraciones séricas del mismo, los eritrocitos acumulan colesterol libre en su pared y se vuelven muy frágiles. La hemólisis intravascular, acidosis metabólica por disfunción en el intercambio gaseoso y la disfunción hepática con reducción de la eliminación de los procoagulantes circulantes, contribuyen al desarrollo de Coagulación Intravascular Diseminada (CID). La eritrolisis intravascular es constante y el hígado no alcanza a metabolizar toda la hemoglobina, produciéndose 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. También se reporta la acumulación de hemosiderina que

indica un aumento en la destrucción de eritrocitos, pero también se atribuye a productos del catabolismo del parásito. La mayor parte de la hemosiderina contenida dentro de los macrófagos se encuentra en los pulmones y sus nódulos linfáticos regionales; también se encuentran en el bazo y una pequeña parte en el hígado. Finalmente, hay colapso repentino por obstrucción postcaval, provocando la muerte por insuficiencia hepática aguda. El pronóstico del síndrome de la vena cava es de reservado a grave. Incluso con el tratamiento adecuado, la mortalidad se ubica entre el 30 y el 40%. Pueden aparecer insuficiencias o CID antes o después del tratamiento, acabando con la vida del animal. De forma natural la muerte ocurre en 24 a 72 horas como consecuencia del shock cardiogénico complicado con anemia, acidosis metabólica y CID.

- Otras alteraciones orgánicas:

Se han descrito nódulos subcutáneos de localización diversa por encapsulamiento de vermes inmaduros, nódulos pulmonares solitarios similares a los de la dirofilariosis humana y mucocele en las glándulas salivales. Lesiones intraoculares por presencia de vermes inmaduros como edema de córnea y ceguera secundarias a glaucoma, son las alteraciones oculares descritas con más frecuencia; con menos frecuencia se describe hiperemia de las conjuntivas, fotofobia, inflamación iridociliar y panoftalmia.

Signología.

Inicialmente, la infección no suele presentar signos clínicos y estos empiezan a mostrarse en cuadros avanzados de la enfermedad. Los síntomas van apareciendo progresivamente y generalmente no se hacen evidentes hasta pasados varios años desde la infección. La tos no productiva y crónica, que se acentúa después del ejercicio, es el síntoma más habitual en perros afectados, junto con disnea o taquipnea, intolerancia al ejercicio y pérdida de peso. Se pueden auscultar crepitaciones pulmonares difusas y soplo cardíaco sistólico de máxima intensidad sobre la válvula pulmonar, especialmente en perros con síndrome de la vena cava. Otros signos clínicos pueden ser: hemoptisis, epistaxis, letargia, apatía, hiporexia, ascitis y derrame pleural (Carretón, et al, 2017).

Granda, C. & Rivas M. (2021) destacan que es importante resaltar que los perros menores de seis meses no pueden ser portadores de gusanos adultos, ya que pasan aproximadamente siete meses desde el momento en que el perro se infecta hasta que los gusanos del corazón se convierten en adultos. Por lo tanto, es poco probable que se observen signos clínicos en perros menores de un año. Sin embargo, en animales jóvenes con una masiva primoinfección esta parasitosis suele tener una presentación aguda, de curso rápido y mortal. Por otra parte, la patología es más severa y acelerada en perros activos comparado con perros inactivos, sea cual sea la carga parasitaria. Otro aspecto clínico de importancia reportado es que los perros de razas pequeñas no toleran la infestación parasitaria cardíaca tan bien como los de raza grande (Cazaux, et al, 2019).

Diagnóstico.

El diagnóstico de la filariosis cardiopulmonar canina se basa en la detección serológica de antígenos circulantes del parásito adulto y en la identificación de microfilarias circulantes. Actualmente se cuenta con pruebas comerciales que detectan principalmente antígenos circulantes de parásitos hembras adultas, y se basan en técnicas ELISA o inmunocromatográficas. Son altamente específicas, y no existe posibilidad de reacciones cruzadas con otros parásitos (*D. repens*, *D. reconditum*, *D. dracunculooides*), por lo que los falsos positivos son muy poco frecuentes y suelen deberse a errores técnicos durante la realización del test. La sensibilidad también es muy elevada y puede verse afectada por la cantidad de parásitos, la edad del parásito, el tamaño del perro o la calidad de la prueba. La detección de microfilarias se basa en la observación directa en sangre o mediante diferentes métodos de concentración. Para identificar correctamente la especie a la que pertenece la microfilaria, se recomienda realizar el método histoquímico, que consiste en el estudio de la distribución somática de las zonas de actividad de fosfatasa ácida que presentan las diferentes microfilarias. Las técnicas complementarias para el diagnóstico permiten establecer la gravedad de la infección. El examen radiográfico del tórax proporciona información insustituible sobre la localización y gravedad de las alteraciones vasculares y del parénquima pulmonar, mostrando si existe cardiomegalia, dilatación de las arterias pulmonares o patrones pulmonares anómalos. El examen ecocardiográfico permite evaluar las dimensiones de las cámaras cardíacas, si hay presencia de hipertensión pulmonar, y la velocidad, dirección y características del flujo sanguíneo, así como estimar aproximadamente el número y localización de las filarias. La electrocardiografía puede ser útil en los casos más avanzados, y los análisis de sangre suelen mostrar alteraciones hematológicas (anemia, alteraciones en el perfil de coagulación) o bioquímicas (alteración de las transaminasas hepáticas o parámetros renales, principalmente). Recientemente, la medición de biomarcadores de daño cardiopulmonar ha demostrado ser de gran utilidad en la determinación del daño cardíaco (troponina I, NT-proBNP) y detección de tromboembolismos pulmonares (dímero-D) en los perros infectados (Carretón, et al, 2017).

Diferenciación entre *Dirofilaria immitis* y otras filarias que afectan a los caninos.

Rodríguez (2015) señala que existen diferentes géneros de filarias que afectan a los caninos además de *Dirofilaria immitis*. Resulta importante conocer las diferencias morfológicas de los gusanos y sus respectivas microfilarias para realizar diagnósticos atinados. *Dirofilaria immitis* (218-340 μm), es una larva ancha con extremo anterior cónico y de cola larga, recta y fina. *Dirofilaria repens* (200-360 μm) puede presentar similares características morfológicas de *D. immitis*. Por otro lado, *Dipetalonema dracunculoides* (245-310 μm) presenta un cuerpo interno o intermedio. *Dipetalonema reconditum* (240-293 μm), manifiesta una extremidad anterior globosa, cola en forma de gancho y no es tan ancha. El movimiento y la densidad de las microfilarias también se han empleado como criterio de identificación para *D. immitis* y *D. reconditum*, las primeras, manifiestan movimiento ondulante y no progresivo, las segundas, movimiento rectilíneo, ambos criterios son subjetivos, puesto que no siempre se pueden apreciar. En la **Tabla 1** de este trabajo se muestra una tabla que detalla los criterios morfométricos de diferenciación.

Tabla 1. Criterios de diferenciación morfométrica de las diferentes microfilarias que afectan a los caninos tomados de Rodríguez (2015).

Especie	Longitud y ancho (μm)	Morfometría
<i>Dirofilaria immitis</i>	306 (218-340) 5.9 (4.5-7.3)	Se observa una larva ancha con extremo anterior cónico y de cola larga, recta y fina.
<i>Dirofilaria repens</i>	345 (200-360) 6.4 (5.0-8.0)	Características morfológicas similares a <i>D. immitis</i> .
<i>Dipetalonema dracunculoides</i>	263 (245-310) 5.0 (5.0-6.4)	Se observa cuerpo interno o intermedio.
<i>Dipetalonema reconditum</i>	261 (240-293) 4.5 (3.5-4.5)	Se observa que no es tan ancha, con extremidad anterior globosa y cola en forma de gancho.

Existe una técnica más sofisticada para establecer la diferenciación morfométrica de las filarias. Mediante una técnica de histoquímica (fosfatasa ácida) se colorean las microfilarias, permitiendo así su clasificación. Con esta técnica, se colorean el poro anal y el poro excretor de

D. immitis, se colorea el poro anal de *D. repens*, se colorea el poro anal y el espacio cefálico de *Dipetalonema dracunculoides* y se colorea en su totalidad la microfilaria de *Dipetalonema reconditum* (Pérez, et al, 2015).

Tratamiento de dirofilariasis en caninos.

La American Heartworm Society (AHS) en 2014, en su publicación titulada “Directrices Caninas Actuales para la Prevención, Diagnóstico y Gestión de la infección de *Dirofilaria* en perros” sugirió el siguiente protocolo (**Tabla 2**) para tratar clínica y farmacológicamente a los caninos que padecen esta enfermedad:

Tabla 2. Gestión del tratamiento para dirofilariasis canina postulado por la AHS:

Días post diagnóstico	Tratamiento
0	<p>Perro diagnosticado y verificado como positivo de Dirofilariosis:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Prueba de antígenos positiva (Ag) verificada con prueba de microfilarias (MF). • De no detectarse microfilarias, confirmar con una 2ª prueba de Ag de un fabricante distinto Iniciar la restricción del ejercicio. • Cuanto más pronunciados sean los síntomas, más estricta deberá ser la restricción del ejercicio Si el perro es sintomático: <ul style="list-style-type: none"> • Estabilizar con la terapia apropiada y cuidados de enfermería • Prescripción de prednisona a 0,5 mg/kg BID 1ª semana, 0,5 mg/kg SID 2ª semana, 0,5 mg/kg EOD 3ª y 4ª semanas.
1	<p>Administrar fármaco preventivo contra la dirofilariosis.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Si se detectan microfilarias, pretratar con antihistamínico y glucocorticoides, si no está recibiendo ya prednisona, para reducir el riesgo de anafilaxia. • Observar posibles signos de reacción durante al menos 8 horas.
1 al 28	<p>Administrar doxiciclina 10 mg/kg BID durante 4 semanas.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Reduce la patología asociada con las dirofilarias muertas. <ul style="list-style-type: none"> • Interrumpe la transmisión de dirofilarias.
30	Administrar fármaco preventivo contra la dirofilariosis.
60	Administrar fármaco preventivo contra la dirofilariosis.

	<p>Primera inyección de melarsomina 2,5 mg/kg intramuscular (IM).</p> <p>Prescribir prednisona a 0,5 mg/kg BID 1ª semana, 0,5 mg/kg SID 2ª semana, 0,5 mg/kg EOD 3ª y 4ª semanas.</p> <p>Disminuir aún más el nivel de actividad.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Restricción de jaula/correa cuando se use el jardín.
90	<p>Administrar fármaco preventivo contra la dirofilariosis.</p> <p>Segunda inyección de melarsomina 2,5 mg/kg IM.</p> <p>Tercera inyección de melarsomina 2,5 mg/kg IM.</p>
91	<p>Prescribir prednisona a 0,5 mg/kg BID 1ª semana, 0,5 mg/kg SID 2ª semana, 0,5 mg/kg EOD 3ª y 4ª semanas.</p> <p>Seguir restringiendo el ejercicio entre las 6 y 8 semanas posteriores a las últimas inyecciones de melarsomina.</p>
120	<p>Prueba en busca de presencia de microfilarias.</p> <ul style="list-style-type: none"> • De resultar positiva, tratar con un microfilaricida y repetir la prueba 4 semanas después. Establecer una prevención de la dirofilariosis durante todo el año.
271	<p>Prueba de antígenos 6 meses después de su conclusión; chequear en busca de microfilarias.</p>

Dirofilariasis en el ser humano.

En los seres humanos la filaria se puede presentar como nódulos subcutáneos o como enfermedad del parénquima pulmonar generando signos clínicos respiratorios. El cuerpo humano es considerado un entorno inadecuado para el parásito y a medida que el nemátodo muere, emboliza los vasos pulmonares induciendo un infarto y la eventual formación de nódulos que pueden presentarse de forma solitaria o múltiple en los pulmones. Algunas especies de filarias, por lo común observadas en animales salvajes o domésticos, en ocasiones infectan a las personas, pero raras veces se presenta microfilaremia. Se ha demostrado que la *Dirofilaria immitis* también puede transmitirse al hombre por la picadura de mosquitos infectados. La mayor parte de las infecciones humanas pasan desapercibidas ya que los parásitos son eliminados en el tejido subcutáneo; pero en algunos casos, los vermes inmaduros alcanzan una rama de la arteria pulmonar, donde posterior a su destrucción producen un nódulo pulmonar benigno. No obstante, si la persona acude a consulta médica por causas no relacionadas con la dirofilariasis, el descubrimiento de un nódulo en el pulmón produce sospecha de una causa maligna, por lo que en muchas ocasiones se realizan intervenciones quirúrgicas innecesarias y muy agresivas. Por la anterior razón, es fundamental conocer la existencia de este parásito en los humanos, para incluirlo en el diagnóstico diferencial de nódulos pulmonares causados por dirofilariasis pulmonar. Las interacciones entre salud humana y animal no son una novedad. Pero el alcance, la magnitud y las repercusiones mundiales de las zoonosis y enfermedades vectoriales que se enfrentan actualmente no tienen precedentes históricos, y se debe tener presente que la lucha contra las mismas comienza por la eliminación del agente patógeno en su fuente animal de infección. Este hecho confiere un papel destacado, tanto en el plano nacional como en el internacional, a los servicios veterinarios, los veterinarios, los criadores, los responsables de la fauna salvaje y la Oficina Internacional de Epizootias (OIE). En Colombia, se detectaron anticuerpos específicos contra los antígenos del complejo de gusanos adultos de *Dirofilaria immitis* en individuos de una comunidad indígena tikuna aislada en la Amazonia colombiana. En el estudio se utilizaron polipéptidos específicos para identificar la zoonosis humana. También se aplicó en una prueba de Elisa Di56 basada en la detección de IgG específica, donde once de 74 muestras de suero analizadas fueron positivas y procedían de cinco diferentes áreas de Colombia. El mayor número de positivos se encuentran en el Amazonas, seguido de Bogotá.

Por tal razón, los médicos deben ser alertados sobre la existencia de infecciones humanas por *Dirofilaria immitis* (Sánchez, et al, 2011).

Prevención y control de la enfermedad.

La prescripción de medicación quimioproláctica contra la dirofilariosis requiere del criterio de un veterinario. En caso de no existir registros de pruebas o tratamiento previas, es necesario realizarle pruebas al paciente antes de dispensar o prescribir quimioprolaxis. Entre las opciones para una quimioprolaxis eficaz se incluyen varios fármacos de administración mensual ya sea por vía oral, tópica, o parenteral a intervalos de 6 meses. La dirofilariosis se puede prevenir a pesar de la inherente alta susceptibilidad del perro. Puesto que todos los perros que vivan en áreas endémicas de *Dirofilaria* se encuentran en posición de riesgo, la quimioprolaxis es de alta prioridad. Los cachorros deberían iniciar la quimioprolaxis tan pronto como sea posible, no más tarde de las 8 semanas de edad. Los cachorros que inicien la prevención de la dirofilariosis después de las 8 semanas de edad, o estén albergados al aire libre y sin protección en áreas altamente endémicas, deberán ser sometidos a examen 6 meses después de la dosis inicial y posteriormente una vez al año. Las pruebas sugieren firmemente que reduciendo la población reservorio mediante el aumento del número de perros que reciben quimioprolaxis, puede suponer una disminución enorme de la prevalencia de infección entre los perros no protegidos. Esta protección “colateral” extiende el paraguas de la quimioprolaxis de forma más eficaz en las comunidades en las que tanto la prevalencia de la *Dirofilaria* como la densidad de población de perros son relativamente bajas. Es probable que la administración de una amplia gama de productos quimioprolácticos con actividad endoparasitaria y/o ectoparasitaria con carácter anual mejore el cumplimiento y ayude a prevenir las infecciones parasitarias patogénicas y/o zoonóticas. Los fármacos preventivos contra la dirofilariosis existentes actualmente en el mercado (ivermectina, milbemicina oxima, moxidectina y selamectina) son fármacos pertenecientes a la clase de las lactonas macrocíclicas. Estos fármacos afectan a las microfilarias y larvas en tercer y cuarto estadio. Puesto que su efecto filaricida sobre las larvas precárdicas puede conseguirse mediante breves administraciones a dosis muy bajas, presentan excelentes ratios terapéuticos/tóxicos. Todos los productos quimioprolácticos que sean lactonas macrocíclicas administrados por vía oral y tópica están

registrados con un intervalo de dosificación de 30 días. Más allá de este intervalo, la eficacia contra las larvas en cuarto estadio disminuye y no se puede predecir. A medida que los gusanos se hacen adultos, se requiere un tiempo de administración progresivamente mayor para alcanzar un nivel de protección alto. La administración continua durante todo el año de medicamentos preventivos contra la dirofilariosis es de vital importancia en zonas donde la enfermedad es endémica. Algunos collies y otros perros con deficiencia de la glicoproteína P son inusualmente sensibles a una variedad de fármacos veterinarios de uso común, incluyendo algunos antidepresivos, agentes antimicrobianos, inmunosupresores y fármacos cardíacos. Las lactonas macrocíclicas también están incluidas en esta lista con toxicidades de las que se han informado por sobredosis o por combinación con otros fármacos inhibidores de la glicoproteína P (American Heartworm Society, 2014).

Otros mecanismos de prevención diferentes al farmacológico son los socioculturales. La salud es un elemento esencial que debe tomarse en cuenta para hablar de calidad de vida en todos los organismos vivos, y definitivamente, el acceso a la salud se da en condiciones muy diferentes según el contexto sociocultural de cada individuo (Acevedo, et al, 2016).

Marc Lalonde, ministro de sanidad canadiense, en el documento Nuevas Perspectivas de la Salud de los Canadienses, enunció un modelo que ha tenido gran influencia en los últimos años y que establece que la salud de una comunidad está condicionada por la interacción de cuatro grupos de factores:

- 1) *Estilo de vida y condiciones de salud.*
- 2) *Factores biológicos del organismo.*
- 3) *Medio ambiente.*
- 4) *Acceso a los servicios de Asistencia Sanitaria.*

En años recientes se sostiene con mayor fuerza la existencia de “Determinantes sociales de la salud”, que se definen como las condiciones sociales en que los seres vivos se desarrollan en su entorno y que influyen fuertemente en sus posibilidades de adquirir una u otra patología. La pobreza, la desigualdad social, la discriminación, la vivienda pobre, la inseguridad alimentaria, las condiciones de vida poco saludable, y los problemas económicos son determinantes de la mayor parte de las enfermedades, muertes y desigualdad en salud animal y humana entre países y dentro de un mismo país. Estas desigualdades son dramáticas y requieren urgente atención y acción (Acevedo, et al, 2016).

En el año 2015; Traub, R et al; publicaron un documento titulado “Hacia la formación de un Consejo de Parásitos de Animales de Compañía de los Trópicos”. En este documento, se señala que las zonas tropicales del mundo son el Sur y Sureste Asiático, las Islas del Pacífico, el Norte de Australia, África y Latinoamérica. En estas regiones, las condiciones climáticas albergan un amplio rango de patógenos y vectores importantes para la medicina veterinaria. Particularmente, el trópico húmedo favorece el desarrollo de la biodiversidad por lo que juega un papel importante en la transmisión de enfermedades vectoriales. Un enfoque a la región latinoamericana, es el clima ya que se combina con factores económicos, políticos y sociales que potencian el riesgo de la transmisión de enfermedades. El Banco Mundial ha reportado que casi todos los países tropicales están en vías de desarrollo, lo cual trae como implicaciones una tasa baja de industrialización (mayor índice de pobreza y de poblaciones marginadas acompañada de un menor índice de personas y animales con acceso a atención médica), misma que es un factor que predispone a una sociedad a mantener elevadas tasas de enfermedades entre las que figuran las parasitosis transmitidas por vectores y las zoonosis debido a la presencia de altos índices de animales en condición de calle. Existen un sinnúmero de enfermedades tropicales “ignoradas” por los gobiernos del mundo que anualmente cobran miles de muertes de humanos y animales, y para abordarlas es necesario un enfoque multidisciplinario. Desde esta perspectiva cabe resaltar que aunque la dirofilariasis es una enfermedad vectorial relativamente benigna, su observación y control representa un efecto espejo de otras enfermedades con cursos más graves que comparten a los mismos vectores (Pérez, et al, 2015).

JUSTIFICACIÓN

Aunque en América Latina se han hecho trabajos acerca de la determinación de prevalencia de *Dirofilaria immitis*, así como de comparación entre prevalencias en diferentes puntos geográficos, son pocos los estudios profundos y actuales de la prevalencia de este parásito en Ciudad del Carmen (Campeche), Yautepec (Morelos) y menos aún en la Zona Metropolitana del Valle de México por no ser considerada un lugar “clásico” de presentación de dirofilariasis por su elevada altura sobre el nivel del mar y por su lejanía con las costas; y aunque esto es verdad, para la realización de este trabajo, se parte de la premisa de que no se está tomando en cuenta que dicha Zona Metropolitana tiene una temperatura promedio anual mayor a 16° C (es decir, la temperatura adecuada para que *Dirofilaria immitis* lleve a cabo su ciclo biológico con normalidad), tiene presencia de los vectores *Culex*, *Aedes* y *Anopheles*, es una ciudad cosmopolita que recibe una gran cantidad de turismo de todo el mundo y en la que residen personas y animales (mascotas, principalmente caninos) que viajan a otras partes de México, e inclusive del mundo, y esta zona tiene además un grave problema para la salud pública: una elevada cantidad de perros callejeros que se multiplica exponencialmente. Estas condiciones en su conjunto crean la necesidad de responder a la pregunta ¿En la Zona Metropolitana del Valle de México, *Dirofilaria immitis* es un problema infravalorado de salud animal?

Otro factor que inspira la elaboración de este trabajo, es que en la bibliografía latinoamericana ya existen investigaciones que comparan la eficacia de pruebas de diagnóstico de dirofilariasis como lo son: examen en fresco, técnica de “Buffy coat”, técnica de gota gruesa, técnica de Knott modificada, hallazgo a la necropsia, prueba rápida de ELISA, SNAP 4DX (Laboratorio IDEXX), el kit de diagnóstico de dirofilariasis canina SensPERT, entre otras pruebas comerciales; sin embargo no se han realizado ensayos acerca de la eficacia diagnóstica de las pruebas comercializadas por el Laboratorio BIONOTE bajo los nombres Vcheck CHW Ag y Anigen Rapid CHW Ag 2.0, y es por ese motivo que para este trabajo se decidió calcular y comparar la sensibilidad y especificidad de dichas pruebas, con las de otras pruebas de uso recurrente en la clínica de pequeñas especies, como lo son el examen en fresco, la técnica de Knott modificada, y la técnica de gota gruesa.

OBJETIVO GENERAL

Determinar y comparar la sensibilidad y especificidad de diferentes técnicas de diagnóstico disponibles para dirofilariasis canina con el fin de brindar una herramienta más al clínico de pequeñas especies ante el manejo de esta enfermedad, así como mejorar el entendimiento de la distribución de esta enfermedad en tres zonas distintas de la República Mexicana mediante el cálculo de prevalencia de dirofilariasis canina en relación con el número de pacientes a muestrear.

OBJETIVOS PARTICULARES

- 1) Establecer la prevalencia de dirofilariasis por *Dirofilaria immitis* en caninos en relación con el número de pacientes muestreados en Ciudad del Carmen (Campeche), en Yautepec (Morelos), y en la Zona Metropolitana del Valle de México.
- 2) Determinar la sensibilidad y especificidad de las siguientes pruebas en el diagnóstico de Dirofilariasis canina: examen en fresco, técnica de gota gruesa, técnica de Knott modificada, Vcheck CHW Ag (BIONOTE) y Anigen Rapid CHW Ag 2.0 (BIONOTE).
- 3) Determinar si la dirofilariasis canina es una enfermedad subestimada y subdiagnosticada en la Zona Metropolitana del Valle de México con base en la prevalencia calculada en relación con la población muestreada en dicha zona.

HIPÓTESIS

En Yautepec (Morelos) y la Zona Metropolitana del Valle de México existen condiciones poblacionales, medioambientales, climatológicas y socioeconómicas muy específicas que posibilitan la transmisión de dirofilariasis entre los caninos, por lo tanto se aplican técnicas de diagnóstico de dirofilariasis que consisten en la observación de microfilarias bajo microscopio óptico, y que bajo un análisis de sensibilidad y especificidad pueden ser pruebas competitivas ante el uso de pruebas de inmunocromatografía basadas en la detección de antígenos.

MATERIAL Y METODOLOGÍA

Obtención y procesamiento de muestras.

La experimentación se realizó en tres ubicaciones: Ciudad del Carmen (Campeche), Yauatepec (Morelos) y Zona Metropolitana del Valle de México. En cada una de las tres ubicaciones fueron muestreados 50 caninos clínicamente sanos. De cada uno se obtuvieron muestras de 3 mL de sangre periférica. El único criterio de inclusión a cumplir por los pacientes muestreados fue que su edad fuera de un año en adelante. En Ciudad del Carmen (Campeche) el muestreo se realizó del 10 al 23 de octubre de 2021, por otro lado, en Yauatepec (Morelos) se realizó el muestreo en el lapso comprendido del 13 al 17 de junio de 2022, mientras que en la Zona Metropolitana del Valle de México el muestreo se realizó del 19 de marzo al 6 de diciembre de 2022.

Antes de proceder a la toma de muestra en cada canino, se le presentó a sus tutores una infografía enfocada a explicar las generalidades sobre dirofilariasis (mostrada en el **Apéndice 1** de este documento), y también se les solicitó la firma de un consentimiento informado y el llenado de un cuestionario sobre algunos aspectos del estilo de vida de sus animales de compañía que pudieran predisponer a sufrir de esta enfermedad. Ambos formatos se muestran en los **Apéndices 2 y 3** de este documento.

Al recibir estos formatos previamente llenados por los tutores, se le asignó a cada paciente un número de identificación con el que fueron marcadas sus respectivas muestras y resultados a partir de ese momento.

Para realizar el procedimiento de toma de muestras sanguíneas en cada perro, el manejador en cuestión se colocó guantes y procedió a la aplicación de manejo, sujeción y colocación de bozal al canino. Posteriormente se practicó una tricotomía en un miembro torácico del canino por su borde craneal al nivel de la localización de la vena cefálica para posteriormente realizar antisepsia en la zona utilizando una torunda con alcohol. El siguiente paso fue hacer un torniquete con una liga por encima de la articulación del codo para así congestionar la vena cefálica, y así, con una jeringa de 3 mililitros con una aguja del calibre adecuado según el tamaño del paciente, fue puncionada la vena cefálica de cada canino hasta obtener 3 mililitros de sangre. Finalmente se desacoplaba la aguja de la jeringa y se vaciaba su contenido en un tubo EDTA de recolección sanguínea, inmediatamente después se homogeneizaba

suavemente el contenido del tubo y 10 minutos después se refrigeraba en posición vertical en espera de realizar los distintos procedimientos planeados, descritos a continuación:

1) *Examen en fresco:*

Esta prueba se aplicó a 50 perros de cada una de las 3 locaciones de muestreo. Con cada muestra fue realizado el siguiente procedimiento:

Según la técnica descrita por Rodríguez (2015), con una micropipeta se tomaron 100 μ L de sangre con EDTA, y se colocó una gota sobre un portaobjetos para posteriormente cubrirse con un cubreobjetos. El siguiente paso fue hacer la debida identificación de la muestra para finalmente observar bajo microscopio óptico a 4, 10 y 40X en busca de microfilarias vivas.

2) *Técnica de gota gruesa:*

Esta prueba se aplicó a 50 perros de cada una de las 3 locaciones de muestreo. Con cada muestra fue realizado el siguiente proceso:

De cada paciente, se tomaron 200 μ L de sangre con EDTA y se colocaron en la zona central de un portaobjetos, y utilizando un portaobjetos auxiliar limpio, la gota fue distribuida con 3 movimientos formando un cuadro de entre 1 y 1.5 cm (en forma de "Z" cerrada). Esto se llevó a cabo con movimientos suaves, tratando de mantener un espesor uniforme.

El siguiente paso fue hacer la debida identificación de la muestra para después dejarla secar. Una vez secas las muestras, las laminillas fueron sumergidas en una dilución 1:10 de colorante GIEMSA durante 20-25 minutos para posteriormente ser enjuagados con agua destilada y dejarlos secar a temperatura ambiente. Finalmente, fueron observados en el microscopio óptico con el objetivo de 10, 40 y 100x en búsqueda de microfilarias circulantes (Enlace Hispanoamericano de Salud, 2012).

3) *Técnica de Knott modificada:*

Esta prueba se aplicó a 50 perros de cada una de las 3 locaciones de muestreo. Con cada muestra fue realizado el siguiente procedimiento:

De cada paciente, se tomó 1 mL de sangre con EDTA y posteriormente se colocó en un tubo con capacidad de 10 mL, al cual se le agregaron 9 mL de formol al 2%. Posteriormente se

homogeneizó suavemente y el tubo fue centrifugado a 1500 rpm durante 7 minutos. Después, con una pipeta se tomó una muestra del sedimento y se colocó en un portaobjetos junto con una gota de azul de metileno. Esta preparación fue cubierta con un cubreobjetos. A continuación, se llevó a cabo la debida identificación de la muestra para finalmente ser observada al microscopio óptico en busca de microfilarias. Esta técnica fue descrita por Granda, C. & Rivas M. (2021).

4) Vcheck CHW Ag (BIONOTE):

Esta prueba que detecta antígenos de gusanos adultos hembras y machos se aplicó a 30 de los perros muestreados en Ciudad del Carmen (Campeche), a los 50 perros muestreados en Yautepec (Morelos) y a los 50 perros muestreados en la Zona Metropolitana del Valle de México. Con cada muestra fue realizado el siguiente procedimiento:

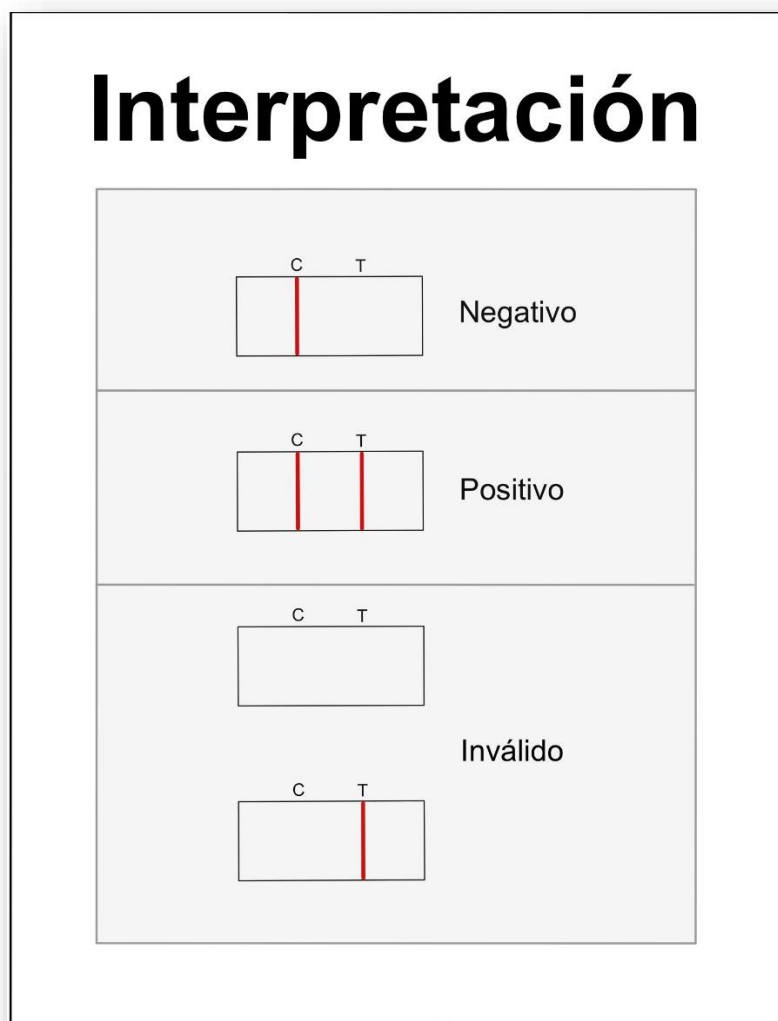
Con una micropipeta, se tomaron 50 µL de sangre completa y se depositaron en el orificio del blister de la prueba CHW Ag Test Kit. Después, se agregaron 2 gotas del diluyente incluido en el kit y el blister fue colocado en el orificio de muestra del dispositivo Vcheck de Laboratorio BIONOTE. A continuación, procesaron dentro del Vcheck durante 10 minutos para así obtener la lectura del resultado (positivo o negativo a antígeno de *Dirofilaria immitis*).

5) Anigen Rapid CHW Ag 2.0 (BIONOTE):

Esta prueba que se tipifica como “ensayo de inmunocromatografía”, tiene la capacidad de detectar antígenos pertenecientes a adultos hembra y macho de *Dirofilaria immitis* y se aplicó a los 50 perros muestreados en Yautepec, Morelos y a los 50 perros muestreados en la Zona Metropolitana del Valle de México. Con cada muestra fue realizado el siguiente procedimiento:

Se colocaron 2 gotas de sangre con EDTA en la ventana del dispositivo, y a los 10 minutos se realizó la interpretación cualitativa de la muestra, como se muestra en la **Figura 4**.

Figura 4. Interpretación de resultados en la prueba Anigen Rapid CHW Ag 2.0 (Modificado de Laboratorio BIONOTE, 2015).



Una vez terminado el procesamiento de las muestras cada tutor recibió vía electrónica un informe de los resultados de su animal de compañía, el formato de dicho informe se encuentra en el **Apéndice 4** de este documento.

Diseño experimental y análisis estadístico.

Con los resultados obtenidos, se realizó un diseño experimental que consistió en el uso de distintas herramientas estadísticas para obtener valores cualitativos y cuantitativos de importancia para esta investigación. Se describen a continuación:

- 1) *Determinación de prevalencia de dirofilariasis con cada técnica de diagnóstico (con relación en el número de pacientes muestreados):*

La prevalencia de una enfermedad es el valor que mide el porcentaje de una población que padece cierta enfermedad. Este valor se expresa en porcentaje y se calcula con una fórmula, descrita a continuación: (Fajardo, 2017).

$$\text{Prevalencia} = \frac{\text{número de pacientes positivos a la enfermedad} * 100}{\text{número de pacientes muestreados}}$$

La tasa de prevalencia se calculó para los siguientes grupos de datos: resultados obtenidos de las pruebas de examen en fresco, gota gruesa, técnica de Knott modificada y Vcheck CHW Ag de los pacientes muestreados en las tres zonas geográficas ya descritas, así como a los resultados obtenidos en la prueba Anigen Rapid CHW Ag 2.0 aplicada a los pacientes muestreados en Yautepéc (Morelos) y la Zona Metropolitana del Valle de México.

- 2) *Determinación de sensibilidad, especificidad y valor predictivo positivo y negativo de las diferentes técnicas de diagnóstico aplicadas:*

Para obtener estas determinaciones, es necesaria la elaboración de un cuadro de contingencia para cada prueba a analizar. Este cuadro se realiza de la siguiente manera:

Figura 5. Formato de llenado de cuadros de contingencia para obtener sensibilidad, especificidad y valor predictivo positivo y negativo de cada prueba.

Prueba que se busca analizar.			
	Cursan con la enfermedad	No cursan con la enfermedad	Total
Diagnóstico positivo	A (# de verdaderos positivos)	B (# de falsos positivos)	A+B
Diagnóstico negativo	C (# de falsos negativos)	D (# de verdaderos negativos)	C+D
Total	A+C	B+D	n

Una vez realizados los cuadros de contingencia para cada prueba a analizar, se procedió a obtener la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo de cada una, de la siguiente manera:

- Sensibilidad:

Es la capacidad que tiene una prueba de diagnóstico para indicar un resultado positivo de una muestra que efectivamente es positiva, se expresa en porcentaje y se calcula con la siguiente fórmula (Vizcaíno, 2017):

$$\frac{A}{A + C} * 100 = \% \text{ de sensibilidad de la prueba.}$$

- Especificidad:

Es la capacidad que tiene una prueba de diagnóstico para indicar un resultado negativo de una muestra que efectivamente es negativa, se expresa en porcentaje y se calcula con la siguiente fórmula (Vizcaíno, 2017):

$$\frac{D}{D + B} * 100 = \% \text{ de especificidad de la prueba.}$$

- Valor predictivo positivo:

Es la proporción de casos verdaderamente positivos entre los casos positivos detectados por la prueba que se expresa en porcentaje, es decir, muestra el porcentaje que los clasificados como

“verdaderos positivos” representan de los resultados positivos indicados por la prevalencia. Es un valor fundamental que depende de la prevalencia y se calcula con la siguiente fórmula (Vizcaíno, 2017):

$$\frac{A}{A + B} * 100 = \% \text{ de valor predictivo positivo de la prueba.}$$

- Valor predictivo negativo:

Es la proporción de casos verdaderamente negativos entre los casos negativos detectados por la prueba que se expresa en porcentaje, es decir, muestra el porcentaje que los clasificados como “verdaderos negativos” representan de los resultados negativos indicados por la prevalencia. Es un valor fundamental que depende de la prevalencia y se calcula con la siguiente fórmula (Vizcaíno, 2017):

$$\frac{D}{D + C} * 100 = \% \text{ de valor predictivo negativo de la prueba.}$$

RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

En la siguiente tabla se pueden observar el número de pacientes muestreados en el presente trabajo en relación con las pruebas de diagnóstico que les fueron aplicadas, contemplando también el número de pacientes positivos y negativos a cada técnica de diagnóstico:

Tabla 3. Resumen de resultados obtenidos en las tres ubicaciones de muestreo.

Lugar de muestreo.	Total de caninos muestreados.	Pacientes positivos/negativos a <i>D. immitis</i> .				
		Examen en fresco.	Gota gruesa.	Técnica de Knott modificada.	Vcheck CHW Ag.	Anigen Rapid CHW Ag 2.0.
Ciudad del Carmen, Campeche.	50	9/41	9/41	11/39	16/14	-
Yautepec, Morelos.	50	0/50	0/50	1/49	1/49	1/49
Zona Metropolitana del Valle de México.	50	0/50	0/50	0/50	0/50	0/50
Total de muestras procesadas.	150	150	150	150	130	100
Total de diagnósticos positivos a <i>D. immitis</i> .	-	9	9	12	17	1
% de diagnósticos positivos a <i>D. immitis</i> .	-	6%	6%	8%	14.7%	1%

De la tabla anterior se resalta la amplia diferencia de pacientes positivos a *Dirofilaria immitis* que se diagnosticó en Ciudad del Carmen, con respecto a las otras 2 ubicaciones. Se considera relevante mencionar que no se realizó la prueba Anigen Rapid CHW Ag 2.0 en Ciudad del Carmen, ya que fue después de este muestreo que se presentó y tomó la oportunidad de adicionar esta prueba al protocolo de investigación.

Determinación de sensibilidad y especificidad de las pruebas aplicadas en las tres ubicaciones.

Se realizaron los siguientes cuadros de contingencia y se calculó la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo de cada una de las pruebas aplicadas en las tres ubicaciones de muestreo siguiendo el procedimiento descrito anteriormente. Los resultados obtenidos son los siguientes:

Tabla 4. Cuadro de contingencia general realizado con los resultados de la técnica “examen en fresco” aplicada en pacientes de las tres ubicaciones.

Diagnósticos con examen en fresco en las tres ubicaciones.			
	Cursan con dirofilariasis	No cursan con dirofilariasis	Total
Positivos	9 (Verdaderos positivos)	4 (Falsos positivos)	13
Negativos	9 (Falsos negativos)	128 (Verdaderos negativos)	137
Total	18	132	n=150

Con los resultados mostrados en la tabla anterior, se calcularon los siguientes valores:

- Sensibilidad de prueba de examen en fresco: **50%**.
- Especificidad de prueba de examen en fresco: **97%**.
- Valor predictivo positivo de prueba de examen en fresco: **69.2%**.
- Valor predictivo negativo de prueba de examen en fresco: **93.4%**.

Tabla 5. Cuadro de contingencia general realizado con los resultados de la técnica “gota gruesa” aplicada en pacientes de las tres ubicaciones.

Diagnósticos con gota gruesa en las tres ubicaciones.			
	Cursan con dirofilariasis	No cursan con dirofilariasis	Total
Positivos	9 (Verdaderos positivos)	2 (Falsos positivos)	11
Negativos	8 (Falsos negativos)	131 (Verdaderos negativos)	139
Total	17	133	n=150

Con los resultados mostrados en la tabla anterior, se calcularon los siguientes valores:

- Sensibilidad de prueba de gota gruesa: **52.9%**.
- Especificidad de prueba de gota gruesa: **98.5%**.
- Valor predictivo positivo de prueba de gota gruesa: **81.8%**.
- Valor predictivo negativo de prueba de gota gruesa: **94.2%**.

Tabla 6. Cuadro de contingencia general realizado con los resultados de la técnica de Knott modificada aplicada en pacientes de las tres ubicaciones.

Diagnósticos con técnica de Knott modificada en las tres ubicaciones.			
	Cursan con dirofilariasis	No cursan con dirofilariasis	Total
Positivos	12 (Verdaderos positivos)	3 (Falsos positivos)	15
Negativos	5 (Falsos negativos)	130 (Verdaderos negativos)	135
Total	17	133	n=150

Con los resultados mostrados en la tabla anterior, se calcularon los siguientes valores:

- Sensibilidad de técnica de Knott modificada: **70.6%**.
- Especificidad de técnica de Knott modificada: **97.7%**.
- Valor predictivo positivo de técnica de Knott modificada: **80%**.

- Valor predictivo negativo de técnica de Knott modificada: **96.3%**.

Tabla 7. Cuadro de contingencia general realizado con los resultados de la prueba “Vcheck CHW Ag” aplicada en pacientes de las tres ubicaciones.

Diagnósticos con Vcheck CHW Ag en las tres ubicaciones.			
	Cursan con dirofilariasis	No cursan con dirofilariasis	Total
Positivos	17 (Verdaderos positivos)	0 (Falsos positivos)	17
Negativos	0 (Falsos negativos)	113 (Verdaderos negativos)	113
Total	17	113	n=130

Con los resultados mostrados en la tabla anterior, se calcularon los siguientes valores:

- Sensibilidad de prueba Vcheck CHW Ag: **100%**.
- Especificidad de prueba Vcheck CHW Ag: **100%**.
- Valor predictivo positivo de prueba Vcheck CHW Ag: **100%**
- Valor predictivo negativo de prueba Vcheck CHW Ag: **100%**

Tabla 8. Cuadro de contingencia general realizado con los resultados de la prueba “Anigen Rapid CHW Ag 2.0” aplicada en pacientes de las tres ubicaciones.

Diagnósticos con Anigen Rapid CHW Ag 2.0 en las tres ubicaciones.			
	Cursan con dirofilariasis	No cursan con dirofilariasis	Total
Positivos	1 (Verdaderos positivos)	0 (Falsos positivos)	1
Negativos	0 (Falsos negativos)	99 (Verdaderos negativos)	99
Total	1	99	n=100

Con los resultados mostrados en la tabla anterior, se calcularon los siguientes valores:

- Sensibilidad de prueba Anigen Rapid CHW Ag 2.0: **100%**.
- Especificidad de prueba Anigen Rapid CHW Ag 2.0: **100%**.

- Valor predictivo positivo de prueba Anigen Rapid CHW Ag 2.0: **100%**.
- Valor predictivo negativo de prueba Anigen Rapid CHW Ag 2.0: **100%**.

Resultados obtenidos en Ciudad del Carmen, Campeche.

Del 10 al 23 de octubre del 2021, se muestrearon 50 caninos que radican en esta ciudad. El muestreo se aplicó a pacientes que acudían a la Clínica Veterinaria Vetgolf, que cumplían con los requisitos anteriormente descritos para ser muestreados y cuyos tutores estuvieron de acuerdo y lo expresaron mediante la firma de un consentimiento informado y el llenado del cuestionario de indicadores de predisposición a infección por dirofilariasis en caninos descritos anteriormente. Una vez obtenidas las muestras, se les realizaron los procedimientos de diagnóstico previamente descritos. En las laminillas realizadas con técnica de gota gruesa fue posible realizar diferenciación morfométrica de las microfilarias observadas. Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

Tabla 9. Resultados obtenidos en el muestreo realizado en Ciudad del Carmen, Campeche.

Núm. de Paciente.	Fecha de muestreo.	Examen en fresco. *2	Gota gruesa. *2	Knott modificada. *2	Vcheck CHW Ag, COI. *1, *2	Observación morfométrica en gota gruesa.
1	10/10/21	-	+	+	+, 30.57	<i>D. immitis</i>
2	11/10/21	+	+	+	+, 14.27	<i>D. immitis</i>
3	12/10/21	-	-	-	-, 0.11	No aplica
4	12/10/21	-	-	-	-, 0	No aplica
5	12/10/21	-	-	-	-, 0.05	No aplica
6	13/10/21	-	-	-	-, 0.02	No aplica
7	13/10/21	+	+	+	+, 27.64	<i>D. immitis</i>
8	13/10/21	-	-	-	-, 0.05	No aplica
9	14/10/21	-	-	-	-, 0.15	No aplica
10	14/10/21	+	+	+	+, 32.94	<i>D. immitis</i>
11	14/10/21	+	+	+	+, 20.09	<i>D. immitis</i>
12	14/10/21	+	-	+	-, 0	<i>Dipetalonema reconditum</i>
13	14/10/21	-	-	-	-, 0.36	No aplica
14	14/10/21	-	-	-	-, 0	No aplica
15	15/10/21	+	-	+	+, 28.42	<i>D. immitis</i>
16	15/10/21	-	-	-	No realizado	No aplica
17	15/10/21	-	-	-	No realizado	No aplica

18	15/10/21	-	-	-	No realizado	No aplica
19	15/10/21	-	-	-	+, 21.4	<i>D. immitis</i>
20	16-oct-21	-	-	-	No realizado	No aplica
21	16/10/21	-	-	-	No realizado	No aplica
22	16/10/21	-	-	-	No realizado	No aplica
23	17/10/21	-	-	-	No realizado	No aplica
24	17/10/21	+	+	+	+, 15.77	<i>D. immitis</i>
25	17/10/21	-	+	+	+, 35.41	<i>D. immitis</i>
26	17/10/21	-	-	-	+, 21.67	<i>D. immitis</i>
27	17/10/21	+	-	+	-, 0.2	<i>Dipetalonema reconditum</i>
28	17/10/21	-	-	-	No realizado	No aplica
29	18/10/21	-	-	-	No realizado	No aplica
30	18/10/21	-	-	-	No realizado	No aplica
31	18/10/21	+	+	+	-, 0.11	<i>Dipetalonema reconditum</i>
32	19/10/21	+	+	+	+, 25.54	<i>D. immitis</i>
33	19/10/21	-	+	-	No realizado	<i>Dipetalonema reconditum</i>
34	19/10/21	-	-	-	No realizado	No aplica
35	20/10/21	+	-	+	+, 7.5	<i>D. immitis</i>
36	20/10/21	-	-	-	No realizado	No aplica
37	20/10/21	-	-	-	No realizado	No aplica
38	20/10/21	-	-	-	No realizado	No aplica
39	20/10/21	-	-	-	No realizado	No aplica
40	21/10/21	-	-	-	-, 0.06	No aplica
41	21/10/21	-	-	-	-, 0.07	No aplica
42	21/10/21	-	-	-	+, 8.2	<i>D. immitis</i>
43	22/10/21	-	-	-	+, 29.08	<i>D. immitis</i>
44	22/10/21	-	-	-	-, 0.03	No aplica
45	22/10/21	+	+	+	+, 34.91	<i>D. immitis</i>

46	22/10/21	-	-	-	No realizado	No aplica
47	22/10/21	-	-	-	No realizado	No aplica
48	23/10/21	-	-	-	No realizado	No aplica
49	23/10/21	-	-	-	No realizado	No aplica
50	23/10/21	-	-	-	+, 33.72	<i>D. immitis</i>

"La marca (+) indica la obtención de un resultado positivo, mientras que la marca (-) indica la obtención de un resultado negativo".

"*1: COI: Son las iniciales en inglés de Cut off index, es un valor proporcionado por la prueba Vcheck CHW Ag. Un COI mayor a 1.0, indica un resultado positivo; cuánto más alto es el valor de COI, mayor cantidad de antígeno está presente".

"*2: Un resultado positivo a estas pruebas significa que se observaron microfilarias propias de la especie canina, no necesariamente de *Dirofilaria immitis*. La clasificación taxonómica de las microfilarias observadas en cada paciente se especifica en la columna titulada: observación morfométrica en gota gruesa".

Con estos resultados, y en relación con el número de pacientes muestreados se calculó la prevalencia de dirofilariasis, tomando en cuenta las **16 muestras** que indicaron un resultado positivo a este padecimiento infeccioso en una o más de las 4 pruebas de diagnóstico realizadas, el resultado de la prevalencia de dirofilariasis en el muestreo realizado en Ciudad del Carmen, Campeche fue de **32%**.

También se calculó la prevalencia de la enfermedad en relación con el número de pacientes muestreados, determinada por los resultados positivos a *Dirofilaria immitis* en cada una de las 4 pruebas realizadas individualmente. Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

- Prevalencia de dirofilariasis por *Dirofilaria immitis* en Ciudad del Carmen, Campeche; obtenida por medio de examen en fresco en relación con el número de pacientes muestreados: **18% (9 muestras positivas de 50)**.
- Prevalencia de dirofilariasis por *Dirofilaria immitis* en Ciudad del Carmen, Campeche; obtenida por medio de gota gruesa en relación con el número de pacientes muestreados: **18% (9 muestras positivas de 50)**.
- Prevalencia de dirofilariasis por *Dirofilaria immitis* en Ciudad del Carmen, Campeche; obtenida por medio de técnica de Knott modificada en relación con el número de pacientes muestreados: **22% (11 muestras positivas de 50)**.

- Prevalencia de dirofilariasis por *Dirofilaria immitis* en Ciudad del Carmen, Campeche; obtenida por medio de Vcheck CHW Ag en relación con el número de pacientes muestreados: **53.3% (16 muestras positivas de 30).**

A continuación, se muestra un cuadro con algunas fotografías capturadas del microscopio durante la realización de las pruebas de examen en fresco, gota gruesa y Knott modificada. También se muestran fotografías de los resultados obtenidos en las pruebas Vcheck CHW Ag.

Cuadro 2. Fotografías de microfilarias de *D.immitis* observadas en Ciudad del Carmen, Campeche:


Fotografía.	Descripción.
	<p>Imagen 1. Fotografía de técnica de examen en fresco realizada en el paciente número 7 de Ciudad del Carmen, Campeche observada con el objetivo 10x del microscopio, donde se aprecia una microfilaria de <i>Dirofilaria immitis</i>.</p>
	<p>Imagen 2. Fotografía de técnica de examen en fresco realizada en el paciente número 25 de Ciudad del Carmen, Campeche observada con el objetivo 40x del microscopio, donde se aprecia una microfilaria de <i>Dirofilaria immitis</i>.</p>



Imagen 3. Fotografía de técnica de examen en fresco realizada en el paciente número 11 de Ciudad del Carmen, Campeche observada con el objetivo 10x del microscopio, que muestra microfilarias de *Dirofilaria immitis*.



Imagen 4. Fotografía de técnica de gota gruesa realizada en el paciente número 45 de Ciudad del Carmen, Campeche observada con el objetivo 40x del microscopio, donde se aprecia una microfilaria de *Dirofilaria immitis*.



Imagen 5. Fotografía de técnica de gota gruesa realizada en el paciente número 10 de Ciudad del Carmen, Campeche observada con el objetivo 10x del microscopio, que muestra microfilarias de *Dirofilaria immitis*.

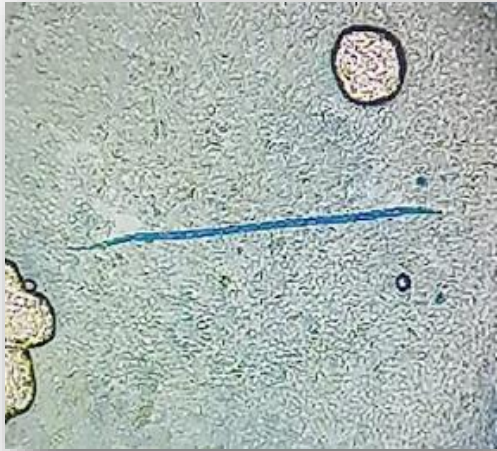


Imagen 6. Fotografía de técnica de Knott modificada realizada en el paciente número 1 de Ciudad del Carmen, Campeche observada con el objetivo 40x del microscopio, donde se aprecia una microfilaria de *Dirofilaria immitis*.



Imagen 7. Fotografía de técnica de Knott modificada realizada en el paciente número 2 de Ciudad del Carmen, Campeche observada con el objetivo 40x del microscopio, donde se aprecia una microfilaria de *Dirofilaria immitis*.

En la técnica de gota gruesa realizada a las muestras identificadas con los números 12, 27, 31 y 33 se encontraron microfilarias que morfométricamente corresponden a la especie *Dipetalonema reconditum*. Se llegó a esta conclusión debido a que dichas microfilarias cuentan con la cola en forma de gancho, como lo señala la literatura referida en la sección “apéndices” de este documento. Además de este hallazgo morfométrico, la prueba Vcheck CHW Ag no reportó presencia de antígenos de *Dirofilaria immitis* en los pacientes que presentaban estas peculiares microfilarias; esta situación refuerza la veracidad del hallazgo. A continuación, se muestran imágenes con los hallazgos ya mencionados.

Cuadro 3. Fotografías de microfilarias de *Dipetalonema reconditum* observadas en Ciudad del Carmen, Campeche:

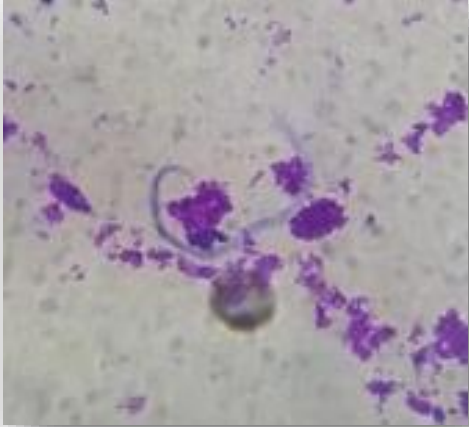

Fotografía.	Descripción.
	<p>Imagen 8. Fotografía de técnica de gota gruesa realizada en el paciente número 12 de Ciudad del Carmen, Campeche observada con el objetivo 40x del microscopio, que muestra una microfilaria de <i>Dipetalonema reconditum</i>.</p>
	<p>Imagen 9. Fotografía de técnica de gota gruesa realizada en el paciente número 27 de Ciudad del Carmen, Campeche observada con el objetivo 40x del microscopio, que muestra una microfilaria de <i>Dipetalonema reconditum</i>.</p>



Imagen 10. Fotografía de técnica de gota gruesa realizada en el paciente número 31 de Ciudad del Carmen, Campeche observada con el objetivo 40x del microscopio, que muestra una microfilaria de *Dipetalonema reconditum*.



Imagen 11. Fotografía de técnica de gota gruesa realizada en el paciente número 33 de Ciudad del Carmen, Campeche observada con el objetivo 40x del microscopio, que muestra una microfilaria de *Dipetalonema reconditum*.

Se realizaron los siguientes cuadros de contingencia y se calculó la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo de cada una de las pruebas aplicadas en Ciudad del Carmen, Campeche siguiendo el procedimiento descrito anteriormente en la sección “Material y metodología” del presente documento. Los resultados obtenidos son los siguientes:

Tabla 10. Cuadro de contingencia realizado con los resultados de la técnica “examen en fresco” aplicada en pacientes de Ciudad del Carmen, Campeche.

Diagnósticos con examen en fresco en Ciudad del Carmen.			
	Cursan con dirofilariasis	No cursan con dirofilariasis	Total
Positivos	9 (Verdaderos positivos)	3 (Falsos positivos)	12
Negativos	8 (Falsos negativos)	30 (Verdaderos negativos)	38
Total	17	33	n=50

Con los resultados mostrados en la tabla anterior, se calcularon los siguientes valores:

- Sensibilidad de prueba de examen en fresco en Ciudad del Carmen: **52.9%**.
- Especificidad de prueba de examen en fresco en Ciudad del Carmen: **90.9%**.
- Valor predictivo positivo de prueba de examen en fresco en Ciudad del Carmen: **75%**.
- Valor predictivo negativo de prueba de examen en fresco en Ciudad del Carmen: **78.9%**.

Tabla 11. Cuadro de contingencia realizado con los resultados de la técnica “gota gruesa” aplicada en pacientes de Ciudad del Carmen, Campeche.

Diagnósticos con gota gruesa en Ciudad del Carmen.			
	Cursan con dirofilariasis	No cursan con dirofilariasis	Total
Positivos	9 (Verdaderos positivos)	2 (Falsos positivos)	11
Negativos	7 (Falsos negativos)	32 (Verdaderos negativos)	39
Total	16	34	n=50

Con los resultados mostrados en la tabla anterior, se calcularon los siguientes valores:

- Sensibilidad de prueba de gota gruesa en Ciudad del Carmen: **56.3%**.
- Especificidad de prueba de gota gruesa en Ciudad del Carmen: **94.1%**.

- Valor predictivo positivo de prueba de gota gruesa en Ciudad del Carmen: **81.8%**.
- Valor predictivo negativo de prueba de gota gruesa en Ciudad del Carmen: **82.1%**.

Tabla 12. Cuadro de contingencia realizado con los resultados de la técnica de Knott modificada aplicada en pacientes de Ciudad del Carmen, Campeche.

Diagnósticos con técnica de Knott modificada en Ciudad del Carmen.			
	Cursan con dirofilariasis	No cursan con dirofilariasis	Total
Positivos	11 (Verdaderos positivos)	3 (Falsos positivos)	14
Negativos	5 (Falsos negativos)	31 (Verdaderos negativos)	36
Total	16	34	n=50

Con los resultados mostrados en la tabla anterior, se calcularon los siguientes valores:

- Sensibilidad de técnica de Knott modificada en Ciudad del Carmen: **68.8%**.
- Especificidad de técnica de Knott modificada en Ciudad del Carmen: **91.2%**.
- Valor predictivo positivo de técnica de Knott modificada en Ciudad del Carmen: **78.6%**.
- Valor predictivo negativo de técnica de Knott modificada en Ciudad del Carmen: **86.1%**.

Tabla 13. Cuadro de contingencia realizado con los resultados de la prueba “Vcheck CHW Ag” aplicada en pacientes de Ciudad del Carmen, Campeche.

Diagnósticos con Vcheck CHW Ag en Ciudad del Carmen.			
	Cursan con dirofilariasis	No cursan con dirofilariasis	Total
Positivos	16 (Verdaderos positivos)	0 (Falsos positivos)	16
Negativos	0 (Falsos negativos)	14 (Verdaderos negativos)	14
Total	16	14	n=30

Con los resultados mostrados en la tabla anterior, se calcularon los siguientes valores:

- Sensibilidad de prueba Vcheck CHW Ag en Ciudad del Carmen: **100%**.
- Especificidad de prueba Vcheck CHW Ag en Ciudad del Carmen: **100%**.
- Valor predictivo positivo de prueba Vcheck CHW Ag en Ciudad del Carmen: **100%**.
- Valor predictivo negativo de prueba Vcheck CHW Ag en Ciudad del Carmen: **100%**.

Resultados obtenidos en Yautepec, Morelos.

Del 13 al 17 de junio de 2022, se muestrearon 50 caninos que radican en este municipio. El muestreo se aplicó a pacientes beneficiarios de campañas itinerantes de vacunación antirrábica llevadas a cabo por el Centro de Control Canino Yautepec, el cual es administrado por el gobierno municipal de la entidad. También se realizaron visitas en las colonias de la entidad, donde se solicitó permiso para ingresar a las viviendas a realizar el muestreo correspondiente. Únicamente se muestrearon pacientes que cumplían con los criterios de muestreo ya descritos en el presente documento y cuyos tutores estuvieron de acuerdo y lo expresaron mediante la firma del consentimiento informado y el llenado del cuestionario de indicadores de predisposición a infección por dirofilariasis en caninos descritos anteriormente. Una vez obtenidas las 50 muestras, se les practicaron las técnicas de diagnóstico ya mencionadas. Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

Tabla 14. Resultados obtenidos en el muestreo realizado en Yautepec, Morelos.

Núm. de Paciente	Fecha de muestreo	Examen en fresco *2	Gota gruesa *2	Knott modificada *2	Anigen Rapid CHW Ag 2.0.	Vcheck CHW Ag, COI*1, *2.	Observación morfométrica en gota gruesa.
1	13/06/2022	-	-	-	-	-	No aplica
2	13/06/2022	-	-	-	-	-	No aplica
3	13/06/2022	-	-	-	-	-	No aplica
4	13/06/2022	-	-	-	-	-	No aplica
5	13/06/2022	-	-	-	-	-	No aplica
6	13/06/2022	-	-	-	-	-	No aplica
7	13/06/2022	-	-	-	-	-	No aplica
8	13/06/2022	-	-	-	-	-	No aplica
9	13/06/2022	-	-	-	-	-	No aplica
10	13/06/2022	-	-	-	-	-	No aplica
11	13/06/2022	-	-	-	-	-	No aplica
12	13/06/2022	-	-	-	-	-	No aplica
13	13/06/2022	-	-	-	-	-	No aplica
14	13/06/2022	-	-	-	-	-	No aplica
15	13/06/2022	-	-	-	-	-	No aplica
16	13/06/2022	-	-	-	-	-	No aplica
17	13/06/2022	-	-	-	-	-	No aplica
18	13/06/2022	-	-	-	-	-	No aplica

19	13/06/2022	-	-	-	-	-	No aplica
20	13/06/2022	-	-	-	-	-	No aplica
21	13/06/2022	-	-	-	-	-	No aplica
22	13/06/2022	-	-	-	-	-	No aplica
23	14/06/2022	-	-	-	-	-	No aplica
24	14/06/2022	-	-	+	+	+, 16.96	<i>D. immitis</i>
25	14/06/2022	-	-	-	-	-	No aplica
26	14/06/2022	-	-	-	-	-	No aplica
27	14/06/2022	-	-	-	-	-	No aplica
28	14/06/2022	+	-	-	-	-	<i>Dirofilaria repens</i>
29	14/06/2022	-	-	-	-	-	No aplica
30	14/06/2022	-	-	-	-	-	No aplica
31	14/06/2022	-	-	-	-	-	No aplica
32	14/06/2022	-	-	-	-	-	No aplica
33	14/06/2022	-	-	-	-	-	No aplica
34	14/06/2022	-	-	-	-	-	No aplica
35	14/06/2022	-	-	-	-	-	No aplica
36	15/06/2022	-	-	-	-	-	No aplica
37	15/06/2022	-	-	-	-	-	No aplica
38	15/06/2022	-	-	-	-	-	No aplica
39	15/06/2022	-	-	-	-	-	No aplica
40	15/06/2022	-	-	-	-	-	No aplica
41	15/06/2022	-	-	-	-	-	No aplica
42	15/06/2022	-	-	-	-	-	No aplica
43	15/06/2022	-	-	-	-	-	No aplica
44	15/06/2022	-	-	-	-	-	No aplica
45	15/06/2022	-	-	-	-	-	No aplica
46	15/06/2022	-	-	-	-	-	No aplica
47	15/06/2022	-	-	-	-	-	No aplica
48	15/06/2022	-	-	-	-	-	No aplica
49	17/06/2022	-	-	-	-	-	No aplica
50	17/06/2022	-	-	-	-	-	No aplica

"La marca (+) indica la obtención de un resultado positivo, mientras que la marca (-) indica la obtención de un resultado negativo".

"*1: COI: Son las iniciales en inglés de Cut off index, es un valor proporcionado por la prueba Vcheck CHW Ag. Un COI mayor a 1.0, indica un resultado positivo; cuánto más alto es el valor de COI, mayor cantidad de antígeno está presente".

"*2: Un resultado positivo a estas pruebas significa que se observaron microfilarias propias de la especie canina, no necesariamente de *Dirofilaria immitis*. La clasificación taxonómica de las microfilarias observadas en cada paciente se especifica en la columna titulada: observación morfométrica en gota gruesa".

Con estos resultados, y en relación con el número de pacientes muestreados se calculó la prevalencia de dirofilariasis por *Dirofilaria immitis*, tomando en cuenta la única muestra que



indicó un resultado positivo a este padecimiento infeccioso en una o más de las 5 pruebas de diagnóstico realizadas. El resultado calculado fue de **2%**.

También se obtuvo la prevalencia de la enfermedad en relación con el número de pacientes muestreados, determinada por los resultados positivos a *Dirofilaria immitis* en cada una de las 5 pruebas realizadas individualmente. Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

- Prevalencia de infección por *Dirofilaria immitis* en Yautepec, Morelos obtenida por medio de examen en fresco en relación con el número de pacientes muestreados: **0% (0 muestras positivas de 50)**.
- Prevalencia de infección por *Dirofilaria immitis* en Yautepec, Morelos obtenida por medio de gota gruesa en relación con el número de pacientes muestreados: **0% (0 muestras positivas de 50)**.
- Prevalencia de infección por *Dirofilaria immitis* en Yautepec, Morelos por medio de técnica de Knott modificada en relación con el número de pacientes muestreados: **2% (1 muestra positiva de 50)**.
- Prevalencia de infección por *Dirofilaria immitis* en Yautepec, Morelos obtenida por medio de Vcheck CHW Ag en relación con el número de pacientes muestreados: **2% (1 muestra positiva de 50)**.
- Prevalencia de infección por *Dirofilaria immitis* en Yautepec, Morelos por medio de Anigen Rapid CHW Ag 2.0 en relación con el número de pacientes muestreados: **2% (1 muestra positiva de 50)**.

A continuación, se muestra una fotografía capturada del microscopio durante el procesamiento de la muestra con resultado positivo a la prueba de Knott modificada. También se muestran fotografías del proceso de realización de pruebas Vcheck CHW Ag y Anigen Rapid CHW 2.0.

Cuadro 4. Fotografías de resultados positivos a *D. immitis* obtenidos en Yautepec, Morelos:

Fotografía.	Descripción.
	<p>Imagen 12. Fotografía de técnica de Knott modificada realizada en el paciente número 24 de Yautepec, Morelos observada con el objetivo 40x del microscopio, donde se aprecia una microfilaria de <i>Dirofilaria immitis</i>.</p>
	<p>Imagen 13. Fotografía de blisters de pruebas Vcheck CHW y Anigen Rapid CHW Ag 2.0 con resultado positivo a antígeno de <i>Dirofilaria immitis</i> correspondiente al paciente 24 de Yautepec, Morelos.</p>

En el examen en fresco aplicado a la muestra sanguínea del paciente número 28, se observó la siguiente microfilaria. Sin embargo, en ninguna de las demás técnicas se lograron apreciar microfilarias ni se obtuvieron resultados positivos en las pruebas de Vcheck CHW Ag y Anigen Rapid CHW Ag 2.0. Se sospecha que la microfilaria observada pertenece al género *Dirofilaria repens* debido a que sus características morfológicas no corresponden con el género *Dipetalonema*. Además, la bibliografía referente al genoma de las diferentes filarias existentes analizada en el apartado “Discusión” de este documento, explica este fenómeno.

Cuadro 5. Fotografía de microfilaria de *D. repens* capturada en Yautepec, Morelos:

Fotografía.	Descripción.
	<p>Imagen 14. Fotografía de técnica de examen en fresco realizada en el paciente número 28 de Yautepec, Morelos observada con el objetivo 10x del microscopio, que evidencia una microfilaria de <i>Dirofilaria repens</i>.</p>

Durante la realización de este trabajo, se llevaron a cabo los cuadros de contingencia para calcular sensibilidad y especificidad de las pruebas aplicadas en esta ubicación, sin embargo, los resultados arrojados por el diseño experimental carecen de relevancia por la mínima prevalencia encontrada en la entidad.

Resultados obtenidos en Zona Metropolitana del Valle de México (ZMVM).

Del 19 de marzo al 6 de diciembre de 2022, se muestrearon 50 caninos que radican en esta zona. A continuación, se incluye una descripción de los lugares donde se llevó a cabo este muestreo:

- *Refugio Tonka y Jack:*

Este refugio está ubicado en la alcaldía Gustavo A. Madero en la Ciudad de México. Se trata de un predio que alberga a aproximadamente 100 caninos y 20 felinos en condiciones de hacinamiento. El equipo de muestreo pudo observar agua estancada en el suelo, un ambiente muy húmedo generado por orina en el suelo y una infestación severa de moscos dentro del refugio. En este lugar se realizó el muestreo de los pacientes identificados con los números del 1 al 10.

- *Clínica de Esterilización (CLES):*

CLES es una clínica ubicada en la alcaldía Álvaro Obregón en la Ciudad de México cuya misión consiste en la realización de oforosalingohisterectomía y orquiectomía a caninos y felinos a precios altamente accesibles para así disminuir la sobrepoblación de estos animales en las calles de la ciudad. Es por esta razón, que en esta clínica es constante la llegada de pacientes que son recogidos de las calles en condiciones de escaso bienestar animal, es decir, con mayor predisposición a desarrollar enfermedades infecciosas. Los pacientes muestreados en CLES fueron los identificados con los números 11, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 49 y 50.

- *Hospital Veterinario Durango:*

Este hospital está ubicado en la alcaldía Cuauhtémoc en la Ciudad de México. En sus instalaciones, se encontraban en hogar temporal dos caninos mayores a 5 años que solían vivir en las calles. Estos caninos presentaban desnutrición, arritmia cardíaca y múltiples lesiones en piel. Los pacientes muestreados en este hospital fueron los identificados con los números 12 y 13.

- *Colonia Observatorio:*

En esta colonia, ubicada en la alcaldía Miguel Hidalgo en la Ciudad de México, se visitaron tres viviendas particulares donde se solicitó permiso a los propietarios para muestrear a sus caninos de compañía. Los pacientes muestreados en esta colonia fueron los identificados con los números 20 al 27.

- *Jurisdicción Sanitaria Álvaro Obregón:*

Esta entidad gubernamental ubicada en la alcaldía Álvaro Obregón en la Ciudad de México, cuenta con un programa de cirugías (oforosalingohisterectomía y orquiectomía) gratuitas a caninos y felinos con el fin de disminuir la sobrepoblación callejera de ambas especies. En estas instalaciones se muestrearon a los pacientes identificados con los números 28 y 29.

- *Colonia Arturo López:*

Esta colonia está ubicada en la alcaldía Álvaro Obregón en la Ciudad de México, y colinda con el Parque Ecológico Presa Tarango, zona que se caracteriza por presentar un grado de humedad y una densidad de vegetación más altos que en los focos de urbanización de la Zona Metropolitana, y que además cuenta con un cuerpo artificial de agua, lo cual genera condiciones medioambientales más propicias para el desarrollo del ciclo biológico de *Dirofilaria immitis*. El muestreo se realizó en una vivienda particular a 9 caninos que viven en una azotea expuestos a picaduras de mosquito. Los pacientes muestreados fueron los identificados con los números 30 al 39.

- *Clínica Veterinaria La Chiripa:*

Esta clínica se encuentra ubicada en el municipio de Ecatepec en el Estado de México. El muestreo en esta clínica se realizó a pacientes que acudían a consulta médica y cumplían con los requisitos para ser muestreados. Los pacientes muestreados en esta clínica fueron los identificados con los números 40 al 44.

- *Colonia San José Jajalpa:*

Esta colonia está ubicada en el municipio de Ecatepec, Estado de México. Se muestrearon caninos que las 24 horas del día las pasan en el patio de una vivienda particular expuestos a

picaduras de mosquitos. Los pacientes que se muestrearon en esta colonia son los identificados con los números 45 al 48.

Únicamente se muestrearon pacientes que cumplían con los criterios de muestreo ya descritos en el presente documento y cuyos tutores estuvieron de acuerdo y lo expresaron mediante la firma de un consentimiento informado y el llenado de un cuestionario de indicadores de predisposición a infección por dirofilariasis en caninos descritos anteriormente. Una vez obtenidas las 50 muestras se les practicaron los procedimientos de diagnóstico ya descritos. El resultado de cada una de las pruebas realizadas en esta región fue negativo.

Con estos resultados, y en relación con el número de pacientes muestreados se calculó la prevalencia de dirofilariasis canina en la Zona Metropolitana del Valle de México, tomando en cuenta las muestras que hubiesen indicado un resultado positivo a una o más de las 5 pruebas de diagnóstico realizadas. El resultado obtenido fue del **0%**.

Con la prevalencia obtenida de 0%, fue imposible la determinación de sensibilidad y especificidad de las pruebas aplicadas en esta entidad.

Análisis de los cuestionarios aplicados a tutores acerca de aspectos de predisposición a dirofilariasis en sus caninos.

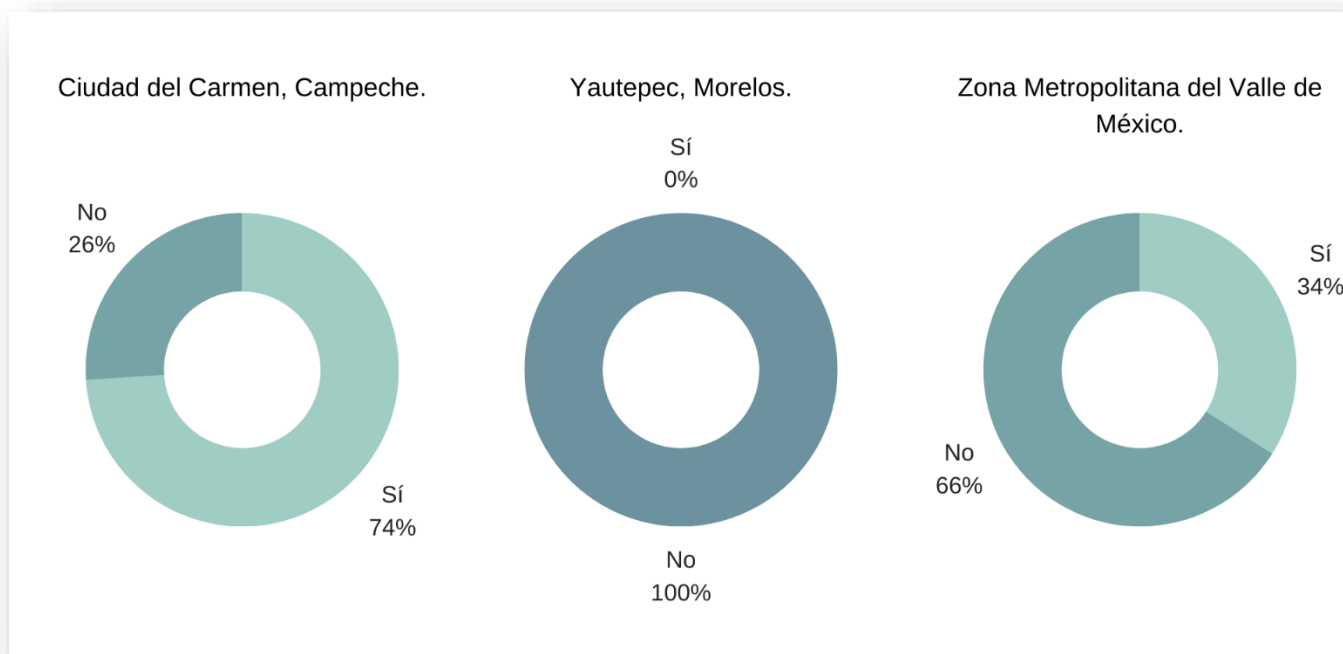
Con la información recabada del cuestionario aplicado a los tutores de los pacientes mostrado en el **Apéndice 3** del presente documento, se generaron las siguientes tablas y gráficas con la información más relevante obtenida en relación con la predisposición que presentan sus animales de compañía a contraer dirofilariasis.

Tabla 15. Intervalos de edad de los pacientes muestreados en cada ubicación.

Clase	Edad de pacientes (años cumplidos)	Frecuencia absoluta de cada ubicación			Total
		Ciudad del Carmen, Campeche.	Yautepec, Morelos.	ZMVM.	
1	De 1 a 3	14	28	6	48
2	De 4 a 6	19	13	24	56
3	De 7 a 9	12	6	11	29
4	De 10 a 12	4	3	8	15
5	De 13 a 14	1	0	1	2
	Total	50	50	50	150

De la tabla anterior se resalta que el lugar donde menos perros gerontes (7 años en adelante) fueron muestreados, fue Yautepec, Morelos, mostrando un marcado contraste con las otras dos ubicaciones. De igual forma, cabe resaltar que en la Zona Metropolitana del Valle de México únicamente se muestrearon 6 pacientes con 1 a 3 años de edad. La relevancia de esta tabla recae en el hecho de que, a mayor edad, mayor probabilidad tienen los perros de padecer esta parasitosis.

Figura 6. Respuesta de los tutores de pacientes de cada ubicación a la pregunta: ¿Usted conocía la existencia del gusano del corazón del perro?



Cómo ya se señaló anteriormente, la ubicación donde se encontró un mayor número de pacientes positivos a dirofilariasis fue Ciudad del Carmen, Campeche. En esta gráfica de pastel, se muestra que los tutores de caninos que radican en Ciudad del Carmen cuentan con mucho mayor conocimiento en torno a la dirofilariasis que los tutores de caninos radicando en Yautepec (Morelos) y la Zona Metropolitana del Valle de México. En la **Tabla 16** mostrada a continuación se muestra que, en Ciudad del Carmen, Campeche, la desparasitación interna es un hábito de medicina preventiva que se ejerce con mayor rigurosidad.

Tabla 16. Tiempo desde la última desparasitación interna de los pacientes de cada ubicación al momento del muestreo.

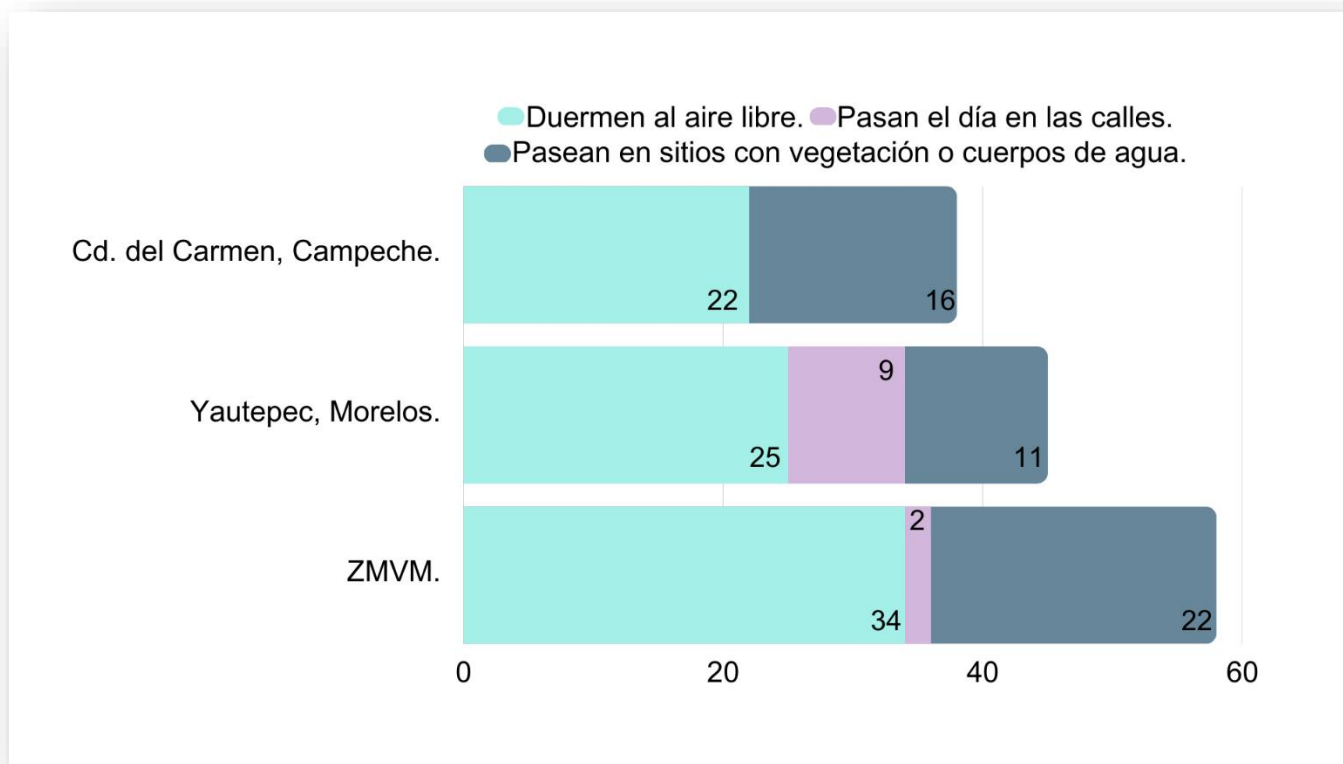
Tiempo desde la última desparasitación interna al momento del muestreo	Pacientes por ubicación					
	Ciudad del Carmen, Campeche.		Yautepec, Morelos.		ZMVM.	
	Frecuencia absoluta	%	Frecuencia absoluta	%	Frecuencia absoluta	%
Nunca desparasitados.	0	0%	17	34%	6	12%
1 mes ó menos.	9	18%	5	10%	0	0%
Entre 2 y 3 meses.	24	48%	6	12%	0	0%
Entre 4 y 6 meses.	9	18%	10	20%	6	12%
Entre 7 y 12 meses.	6	12%	11	22%	13	26%
Entre 12 y 24 meses.	2	4%	1	2%	19	38%
Más de 24 meses	0	0%	0	0%	2	4%
Información no disponible.	0	0%	0	0%	4	8%
Total.	50		50		50	

De la tabla anterior se resalta que, en Ciudad del Carmen, Campeche, el 84% de los pacientes muestreados fueron desparasitados internamente entre 1 y 6 meses previos al muestreo, y no hubo ningún paciente que nunca hubiese sido previamente desparasitado.

En Yautepec, Morelos, el 34% de los pacientes muestreados nunca había sido desparasitado internamente y sólo el 42% de ellos recibieron dicha profilaxis entre 1 y 6 meses previos al muestreo.

Por su parte, en la Zona Metropolitana del Valle de México, el 12% de los pacientes muestreados nunca habían sido desparasitados internamente y del 8% de los pacientes muestreados no se tiene información certera ya que no cuentan con un tutor definitivo. Importante es resaltar que sólo el 12% de los pacientes aquí muestreados fueron desparasitados internamente entre 1 y 6 meses antes del muestreo, mientras que para el 38% de los pacientes muestreados fueron desparasitados internamente entre 1 y 2 años previos al muestreo.

Figura 7. Número de pacientes de las tres ubicaciones cuyo estilo de vida comprende dormir al aire libre, pasar el día en las calles y pasear en sitios donde hay cuerpos de agua o vegetación.



De la anterior gráfica cabe resaltar que ninguno de los tutores de caninos muestreados en Ciudad del Carmen permite que sus animales de compañía pasen el día en las calles, a diferencia de 9 de los tutores de caninos muestreados en Yautepec, quienes no consideran que la permanencia en las calles de sus caninos represente un problema de salud pública, higiene, maltrato animal o de cualquier otro tipo. También cabe señalar que, tanto en Yautepec como en la Zona Metropolitana del Valle de México, la mitad o más de los caninos muestreados duermen al aire libre y no bajo techo; finalmente se resalta que en la Zona Metropolitana del Valle de México se reportó en mayor medida la costumbre de llevar a pasear a los caninos de compañía a sitios con cuerpos de agua y vegetación predominante.

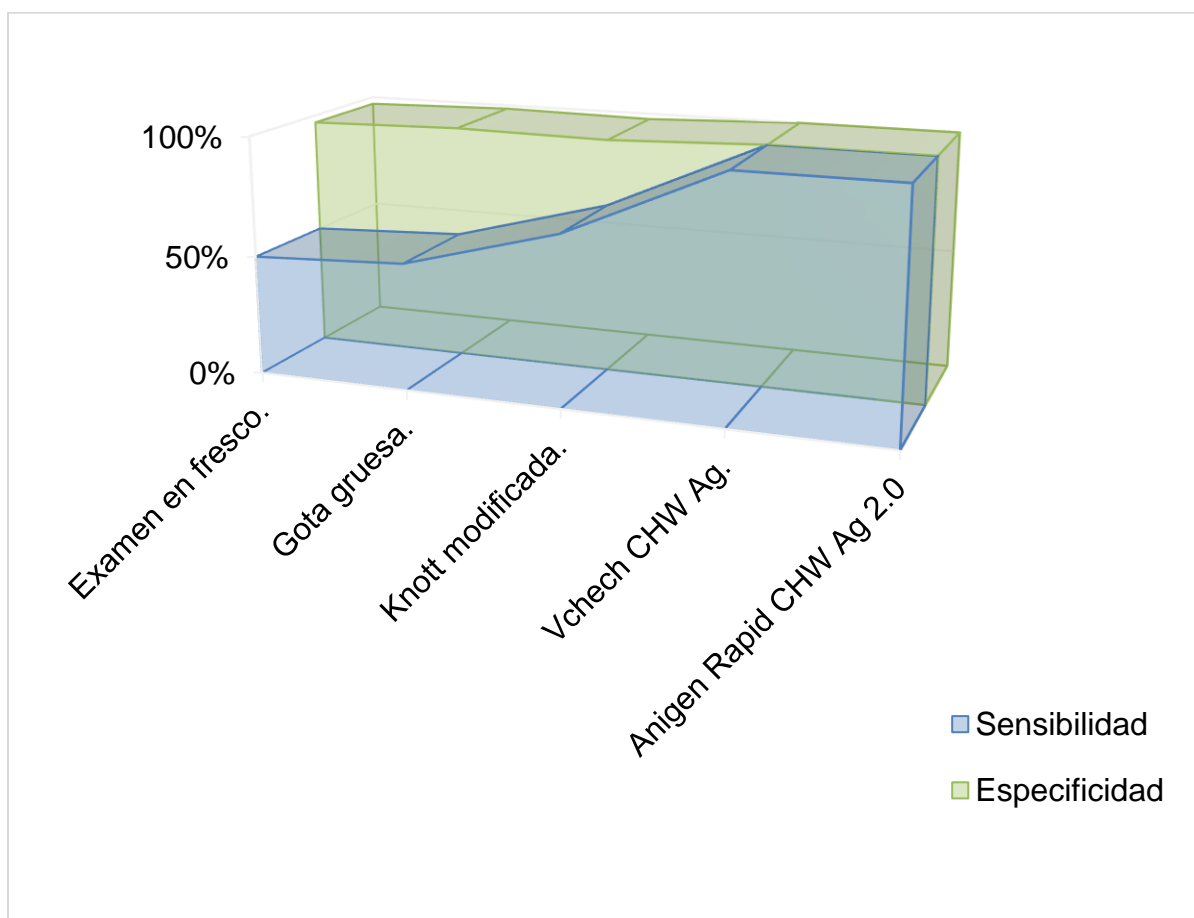
DISCUSIÓN

El primer punto importante por abordar es la comparación de efectividad de las pruebas de diagnóstico utilizadas en la elaboración de este trabajo a través de la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo calculados para cada una de las pruebas mencionadas. A continuación, para concretar este punto, se muestran la **Tabla 17** y la **Figura 8** que establece la comparación de los valores ya mencionados.

Tabla 17. Comparación de sensibilidad, especificidad, valor positivo predictivo y negativo de las pruebas analizadas tomando en cuenta los resultados de todos los pacientes muestreados:

	Comparación de pruebas de diagnóstico en las 3 ubicaciones de muestreo.				
	Examen en fresco	Gota gruesa	Knott modificada	Vcheck CHW Ag	Anigen Rapid CHW Ag 2.0
Sensibilidad	50%	52.9%	70.6%	100%	100%
Especificidad	97%	98.5%	97.7%	100%	100%
Valor predictivo positivo	69.2%	81.8%	80%	100%	100%
Valor predictivo negativo	93.4%	94.2%	96.3%	100%	100%

Figura 8. Gráfica comparativa de sensibilidad y especificidad obtenida de cada prueba analizada tomando en cuenta los resultados de todos los pacientes muestreados:



De las pruebas que se compararon, sin lugar a duda, las más eficaces para el diagnóstico de dirofilariasis canina fueron Vcheck CHW Ag y Anigen Rapid CHW Ag 2.0, las cuales indicaron sin margen de error a todos los verdaderos positivos y verdaderos negativos a infección por *Dirofilaria immitis* en la población muestreada, por consecuencia, el cálculo de la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo de ambas pruebas fue del 100%. Ambas pruebas detectan antígenos de gusano adulto hembra y macho de *D. immitis*, a diferencia de pruebas similares disponibles en el mercado que únicamente detectan antígenos de fases hembras adultas. Es importante tomar en cuenta que el costo económico de ambas pruebas es más elevado que el de las demás, especialmente el de la prueba Vcheck CHW Ag, ya que para realizarla se requiere contar con el equipo Vcheck V200 ó Vcheck V2400.

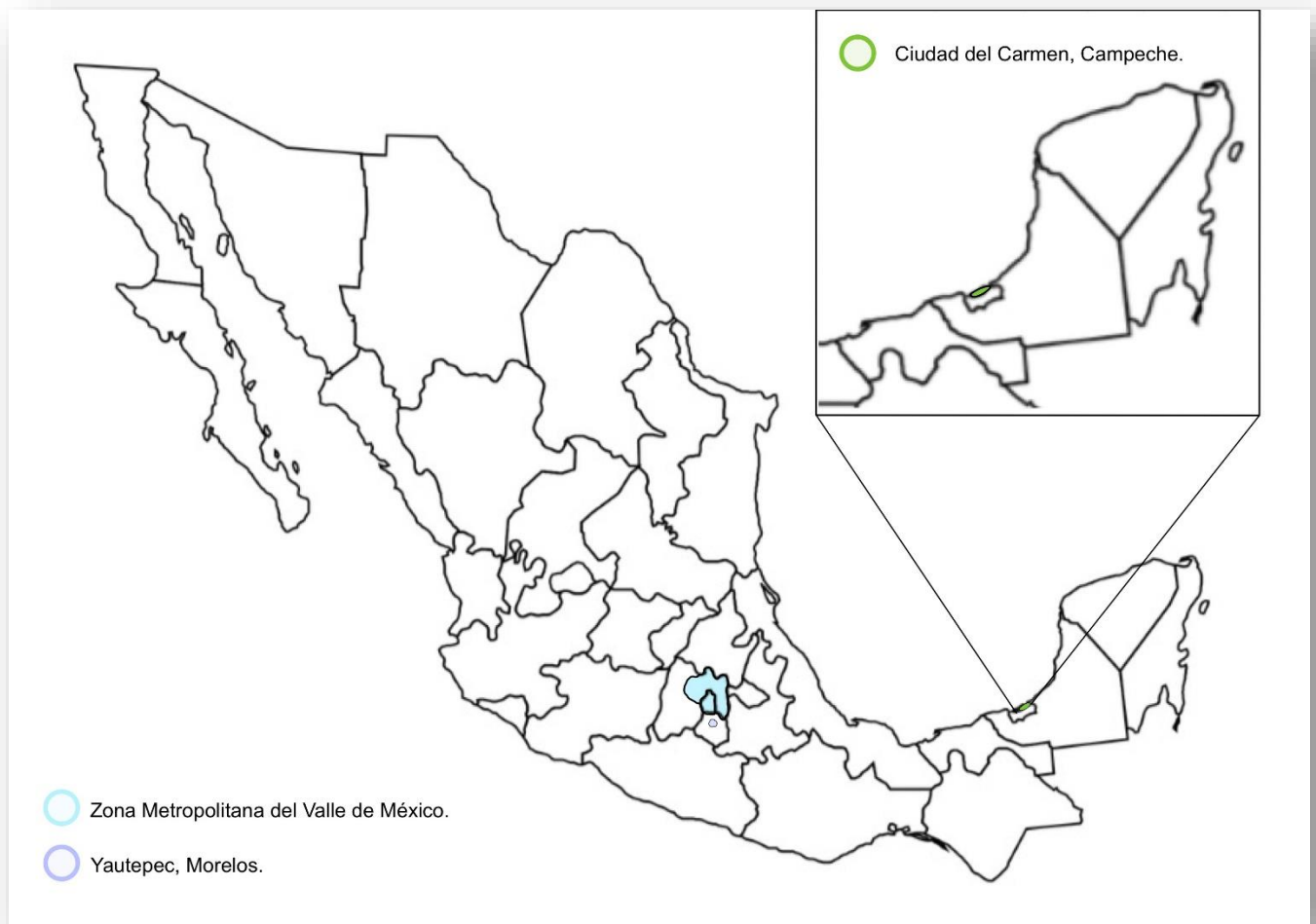
La ficha técnica de la prueba Anigen Rapid CHW Ag 2.0 publicada por el Laboratorio BIONOTE, señala que la sensibilidad de dicha prueba es del 94.4%, mientras que su especificidad es del 100%, tomando necropsias de los pacientes como control de calidad. En el presente estudio la especificidad corresponde con la señalada por el laboratorio, mientras que la sensibilidad encontrada fue más alta, lo cual puede deberse al número de muestras analizadas y a que no se realizaron necropsias a modo de control. También es importante tomar en cuenta que al presentarse la oportunidad de añadir el uso de esta prueba en la presente investigación, la fase experimental llevada a cabo en Ciudad del Carmen ya había finalizado, por lo que si bien, la prueba se aplicó a las muestras obtenidas de cien pacientes (50 en Yauhtepec y 50 en la Zona Metropolitana del Valle de México), sólo una resultó ser positiva y fue detectada correctamente por el test en cuestión, por lo que ese diagnóstico certero fue suficiente para obtener valores de 100% en los parámetros derivados del cuadro de contingencia. Por otro lado, igualmente el Laboratorio BIONOTE señala, sin proporcionar valores cuantitativos, que la sensibilidad y especificidad de la prueba Vcheck CHW Ag es más alta que la de la prueba Anigen Rapid CHW Ag 2.0 ya que su mecanismo de lectura es por medio de luminiscencia de Europio.

Por el contrario, la prueba con menor sensibilidad, menor especificidad y valores predictivos positivo y negativo más bajos es la prueba de examen en fresco. La sensibilidad de esta prueba es tan sólo de la mitad que la de VCheck CHW Ag y Anigen Rapid CHW Ag 2.0, por lo que es la prueba menos recomendada para el diagnóstico certero de dirofilariasis canina en la práctica clínica.

Una prueba que tiene un costo económico accesible que se puede realizar si se cuenta con un microscopio y una centrífuga, es la técnica de Knott modificada, la cual demostró tener una sensibilidad del 70.6%, es decir 17.7% y 20.6% superior que la reportada en las pruebas de gota gruesa y examen en fresco, respectivamente; las cuáles también llevan como fundamento la observación a microscopio. Es por esta razón, que, si se cuenta con estos elementos ya mencionados en la clínica, la técnica de Knott modificada es la mejor para realizar un diagnóstico más certero. Incluso se puede tomar en cuenta hacer el estudio por duplicado o triplicado para incrementar la posibilidad de hallar microfilarias. No se encontró bibliografía previa con información muy clara acerca de la sensibilidad, especificidad y valores predictivos positivo y negativo de las técnicas de observación a microscopio para hallazgo de microfilarias.

Otro factor por analizar detalladamente de los resultados obtenidos es la prevalencia de dirofilariasis en relación con el número de pacientes muestreados en cada ubicación. Las ubicaciones de muestreo se encuentran delimitadas geográficamente en la **Figura 9**.

Figura 9. Delimitación geográfica de Ciudad del Carmen (Campeche), Yautepec (Morelos) y Zona Metropolitana del Valle de México.



Para analizar la prevalencia de la enfermedad encontrada en relación con el número de pacientes muestreados en las tres ubicaciones de muestreo, se realizó la siguiente tabla comparativa:

Tabla 18. Tabla comparativa de prevalencia de dirofilariasis en las tres ubicaciones de muestreo.

Lugar de muestreo.	Prevalencia.
Ciudad del Carmen, Campeche	32%
Yautepec, Morelos	2%
Zona Metropolitana del Valle de México	0%

Ciudad del Carmen (Campeche) está localizada en una isla del sureste de la República Mexicana cuyo clima es “cálido-húmedo”, presenta una temperatura promedio de 25.7°C, mínima de 18°C y máxima de 45°C y su altura sobre el nivel del mar es de cero metros. En este estudio, la prevalencia encontrada de dirofilariasis canina en dicha ciudad fue del 32% de los 50 perros que fueron muestreados durante octubre del año 2021. En 2016, Movilla realizó un estudio de seroprevalencia de distintos hemoparásitos en todas las regiones que conforman a la República Mexicana. En dicho estudio, se reportó una seroprevalencia de *Dirofilaria immitis* del 7.86% en la región del sureste mexicano, donde se encuentra Ciudad del Carmen, Campeche. Movilla en esta región analizó las muestras de 229 caninos. Esta diferencia entre las prevalencias calculadas puede deberse a que en el lapso de 5 años comprendido del 2016 al 2021, pudo haber incrementado la transmisión de *Dirofilaria immitis* por algún factor medioambiental ya que como se señaló en el análisis de los cuestionarios aplicados a tutores, la mayoría de los caninos muestreados contaban con un esquema sólido de desparasitación interna y con un estilo de vida de poca exposición a factores de riesgo de infección. De igual forma, debe considerarse que, en el estudio realizado por Movilla, el tamaño de la población muestreada es considerablemente mayor al igual que el área geográfica de muestreo, además de que en ese estudio sólo se utilizó un método de diagnóstico: la prueba SNAP 4DX de Laboratorio IDEXX (que únicamente detecta antígenos de hembras adultas de *Dirofilaria immitis*), mientras que en el presente trabajo, en Ciudad del Carmen, Campeche se aplicaron cuatro diferentes técnicas de diagnóstico. De cualquier manera, cabe señalar que esta región del país debe permanecer en constante vigilancia por este y otros hemoparásitos de transmisión vectorial que afectan a animales y humanos.

Por otro lado, en el mismo estudio Movilla agrupa al estado de Morelos, a la Ciudad de México y al Estado de México dentro de una misma región de estudio identificada como “Sur-centro”.

En esta región de estudio se encuentran geográficamente la Zona Metropolitana del Valle de México y Yauatepec (Morelos). En el estudio de Movilla, en la región se muestrearon 86 caninos, en los cuáles se reportó una seroprevalencia de dirofilariasis del 2.32% mientras que en el presente estudio, en Yauatepec la prevalencia encontrada de dirofilariasis fue del 2% y en la Zona Metropolitana del Valle de México fue del 0%.

Yauatepec es un municipio del estado de Morelos cuyo clima se describe como “semicálido-subhúmedo”, su temperatura promedio es de 22.7°C y su altura es de 1210 metros sobre el nivel del mar. Por su parte, la Zona Metropolitana del Valle de México cuenta con un clima descrito como “templado” cuya temperatura promedio oscila entre los 13 y los 17°C y su altura sobre el nivel del mar es de 2240 metros. A pesar de las bajas prevalencias reportadas, por medio de este trabajo se destaca la importancia de mantener una vigilancia epidemiológica en estas regiones con poblaciones mayores de muestreo, ya que como menciona Muñoz, M. (2003), el ciclo biológico de *Dirofilaria immitis* puede completarse por arriba de los 12°C, además de que se demostró en este trabajo que los caninos de estas regiones no cuentan con esquemas completos de desparasitación interna y los parámetros de tenencia responsable se encuentran por debajo de los ideales del Bienestar Animal, además de que particularmente la Zona Metropolitana del Valle de México tiene un estatus de cosmopolita en el que el riesgo de transmisión de enfermedades que no se encuentran ahí establecidas es cada vez más latente.

Para finalizar el análisis de los datos obtenidos en este estudio, se pone sobre la mesa el hallazgo de una microfilaria ajena a *Dirofilaria immitis* en Yauatepec, Morelos. Este hallazgo se dio en la muestra del paciente identificado con el número 28 correspondiente a una paciente pitbull de 6 años de edad que pasaba todos los días y noches encadenada al aire libre, esta paciente no había sido desparasitada en el último año y en su cuerpo era evidente la presencia de pulgas y garrapatas, y además al momento del muestreo contaba con dificultad respiratoria. En el examen en fresco aplicado a esta muestra, se halló una microfilaria (**Imagen 14**), sin embargo, ni en la técnica de Knott modificada ni en la prueba de gota gruesa realizadas a partir de la misma muestra se observaron microfilarias, tampoco las pruebas de inmunocromatografía aplicadas a la muestra arrojaron un resultado positivo a *Dirofilaria immitis*. A través de los criterios mostrados en la **Tabla 1**, se descarta que se trate de una microfilaria del género *Dipetalonema*, ya que no presenta la cola en forma de gancho, es por esta situación que se

apunta a que esta microfilaria pertenece a la especie *Dirofilaria repens* ya que como se menciona en la **Tabla 1**, las características morfométricas de esta especie son muy similares a las de *Dirofilaria immitis*. Esta diferencia taxonómica es la razón por la que las pruebas de inmunocromatografía indicaron un resultado negativo, ya que como puede observarse en la **Tabla 17**, estas pruebas son 100% específicas para el diagnóstico de *Dirofilaria immitis*. Aunque no se cuenta con la información referente a la porción antigénica específica que detectan estas pruebas de inmunocromatografía, Cafarelli (2019) señala que el genoma de *Dirofilaria repens* es 17% más largo que el de *D. immitis* si se cuentan sus pares de bases, por lo que se puede asumir que la diferencia antigénica entre ambas especies limita la posibilidad de un efecto de diagnóstico cruzado.

CONCLUSIONES

Se estableció la prevalencia de dirofilariasis en relación con el número de pacientes muestreados en cada una de las tres ubicaciones planteadas, a través de cinco técnicas de diagnóstico distintas. La prevalencia calculada para Ciudad del Carmen (Campeche) fue de 32%, la de Yauhtepec (Morelos) fue del 2% y la de la Zona Metropolitana del Valle de México fue de 0%.

También se determinó y comparó la sensibilidad y especificidad de las distintas técnicas de diagnóstico utilizadas (examen en fresco, gota gruesa, técnica de Knott modificada, Vcheck CHW Ag y Anigen Rapid CHW 2.0), los resultados señalan a las pruebas Vcheck CHW Ag y Anigen Rapid CHW Ag 2.0 como opciones con 100% de sensibilidad y especificidad, por lo que la recomendación emitida para los veterinarios que se desempeñan en el ejercicio de la clínica canina es implementar y priorizar el uso de estas técnicas de inmunocromatografía para un diagnóstico certero de dirofilariasis en caninos. Por el contrario, el examen en fresco y la prueba de gota gruesa poseen una sensibilidad diagnóstica menor al 55%, a su par el examen en fresco tiene el menor porcentaje de especificidad en comparación con las otras cuatro pruebas sujetas a comparación, por lo que no se recomienda el uso de estas pruebas como herramientas determinantes en el diagnóstico de dirofilariasis canina. Por su parte, la técnica de Knott modificada, cuenta con una sensibilidad superior al 70%, por lo que en caso de que en ciertos contextos no se cuente con los insumos necesarios para aplicar ensayos de inmunocromatografía, esta es la técnica más recomendable para el diagnóstico de dirofilariasis bajo observación microscópica.

Finalmente, y conforme a los resultados obtenidos se concluye que la dirofilariasis en la Zona Metropolitana del Valle de México no es aún un problema emergente, subestimado o subdiagnosticado, sin embargo, se recomienda mantener la vigilancia epidemiológica pertinente en torno a esta y otras enfermedades vectoriales que afectan a los caninos con grupos de estudio más amplios y en diferentes puntos de la Zona Metropolitana, ya que los 50 caninos muestreados en esta zona, generan un valor estimado poco representativo de la población total de la Zona Metropolitana. Además, en los resultados expuestos en el presente trabajo es evidente la baja tasa de pacientes con esquemas adecuados de desparasitación interna y se

trata de una región con una elevada presencia de caninos callejeros, y que además cuenta con la presencia de los tres vectores de *Dirofilaria immitis*.

APÉNDICES

APÉNDICE 1

Infografía utilizada como material de apoyo informativo para los tutores de los caninos muestreados.

Gusano del corazón del perro



Dirofilaria imittis



Es un parásito que se aloja en los grandes vasos sanguíneos del corazón de los perros.

¿Cómo podría contagiarse mi perro?



Algunos mosquitos son portadores de unas larvas microscópicas llamadas "Microfilarias", las cuáles entran al cuerpo del perro después de sufrir una picadura del mosquito. Pasados 7 meses, estas microfilarias habrán crecido y se habrán establecido en el corazón del perro.

¿Qué le pasa a mi perro si se contagia?



Puede sufrir de...

- Fatiga.
- Tos crónica.
- Dificultad respiratoria.
- Falla cardíaca.
- Inapetencia.
- Pérdida de peso.
- Enfermedad del hígado.
- Reacciones alérgicas muy intensas.
- Trombosis y formación de coágulos.
- Muerte.

¡Esta enfermedad puede prevenirse!



Con desparasitación interna constante llevada a cabo por un Médico Veterinario y también protegiendo a nuestras mascotas de posibles picaduras de mosquitos.



¡Datos curiosos!



- 1) Aunque esta enfermedad afecta normalmente a los perros, se han reportado casos en gatos.
- 2) Las 3 especies de mosquitos que transmiten la enfermedad son Culex, Aedes y Anopheles.



APÉNDICE 2

Consentimiento informado dirigido a propietarios de caninos muestreados.

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Yo, _____, propietario de _____ de raza _____, sexo _____ y _____ de edad, doy fe de que la p.MVZ Carla Mariana Loera Rubio, acompañada de la Dra. Marcela Autrán Martínez me informaron acerca del procedimiento que se le realizará a mi animal de compañía el día de hoy así como los resultados esperados.

Firma del propietario.

___ de _____ de 2021.

APÉNDICE 3

Cuestionario de aspectos de exposición a dirofilariasis dirigido a tutores de los caninos muestreados.

CUESTIONARIO DE ASPECTOS DE EXPOSICIÓN A DIROFILARIASIS.

Respondan verazmente las siguientes preguntas acerca de hábitos y comportamientos de su mascota:

Datos generales sobre su animal de compañía:

Nombre: _____ Raza: _____ Edad: _____ Sexo: _____

Nombre del propietario: _____ Teléfono de contacto: _____

- *Nombre de la localidad/colonia donde vive mi animal de compañía:*

-
- *Su animal de compañía...*

Vive en las calles y acude a casa únicamente a alimentarse y dormir.

Vive en las calles y acude a casa únicamente a alimentarse.

Vive en las calles y acude a casa únicamente a dormir.

Pasa algunas horas del día (sin contar la noche) en la calle y algunas en casa.

Pasa todo el día dentro de casa y tiene acceso a patios, jardines o espacios al aire libre.

Pasa todo el día dentro de casa y NO tiene acceso a espacios al aire libre.

- *¿Dónde duerme su animal de compañía?*

En la calle.

Dentro de casa, al aire libre, SIN ninguna adaptación especial para la protección del canino.

Dentro de casa, al aire libre, y en un espacio que lo proteja contra inclemencias climáticas y fauna nociva.

Dentro de casa, bajo el mismo techo que la familia.

Otra opción. Especifique:

- *En cuanto a los paseos de su animal de compañía...*

Éstos ocurren 0 veces al mes.

Éstos ocurren 1-2 veces al mes.

Éstos ocurren 1 vez a la semana.

Éstos ocurren 2-3 veces a la semana.

Éstos ocurren diariamente.

Otra opción. Especifique:

- *¿Cuánto tiempo suelen durar estos paseos?*

No aplica.

- *En los sitios donde su perro pasea...*

Predomina el concreto.

Predomina en el suelo la tierra o el polvo.

Predomina la vegetación.

No aplica.

- *En dichos sitios, ¿hay presencia de cuerpos de agua?*

Si.

No.

No aplica.

- *¿Usted considera que su mascota está constantemente expuesta a picaduras de insectos?*

Si.

No.

- *En el pasado, ¿su mascota ha tenido pulgas, ácaros, piojos o garrapatas?*

Si.

No.

No lo sé.

- *¿Ha acudido con algún Médico Veterinario para desparasitar a su animal de compañía?*

Si.

No.

- *¿Hace cuánto tiempo fue la última vez que se desparasitó su animal de compañía?*

No lo recuerdo.

- *¿Su mascota se agita demasiado cuando realiza actividad física?*

Si.

No.

- *¿Su animal de compañía tose repentinamente con frecuencia?*

Si.

No.

- *Si su respuesta anterior fue “sí”...¿con qué frecuencia ocurre dicha tos?*

Todos los días.

5-6 días a la semana.

3-4 días a la semana.

1-2 días a la semana.

No aplica.

- *¿Ha notado que su animal de compañía sufre de dificultad respiratoria?*

Sí.

No.

- *¿Ha notado que su animal de compañía ha perdido peso en los últimos meses?*

Sí.

No.

- *Si su respuesta anterior fue “sí”, responda...¿Su mascota está bajo plan alimenticio para perder peso monitoreado por un médico veterinario?*

Sí.

No.

APÉNDICE 4

Ejemplo de formato de informe de resultados que fue enviado a cada tutor finalizando las pruebas realizadas a su animal de compañía.

Resultados de diagnóstico de *Dirofilaria immitis*

Nombre del paciente: Fisgón.
Raza del paciente: Teckel.
Sexo del paciente: Macho.
Edad del paciente: 2 años.
Fecha de toma de muestra: 20 de noviembre de 2022.
Nombre del tutor: Dulce Carmona.



Resultados

Técnica de examen en fresco.	- (Negativo)
Técnica de gota gruesa.	- (Negativo)
Técnica de Knott modificada.	- (Negativo)
Vcheck CHW Ag.	- (Negativo)

Recomendaciones

-Mantener rigurosamente al día el plan de medicina preventiva de su animal de compañía.

Atte: pMVZ Carla Mariana Loera Rubio

-Gracias por cuidar el bienestar de tu animal de compañía y por apoyar la investigación de las ciencias biológicas en México participando en el proyecto "Prevalencia y comparación de diferentes técnicas de diagnóstico de *Dirofilaria immitis* en caninos de Ciudad del Carmen (Campeche), Yautepec (Morelos), y Zona Metropolitana del Valle de México".

APÉNDICE 5

Fotografías capturadas durante la toma y procesamiento de muestras en las tres ubicaciones.



Fotografía	Descripción
	<p>Imagen 15. Fotografía del laboratorio de la Clínica Veterinaria “Vetgolf” en Ciudad del Carmen, Campeche.</p>
	<p>Imagen 16. Preparación de muestra sanguínea para realización de la prueba Vcheck CHW Ag en Ciudad del Carmen, Campeche.</p>



Imagen 17. Fotografía durante toma de muestra al paciente Homero en la Clínica “Vetgolf” en Ciudad del Carmen, Campeche”.

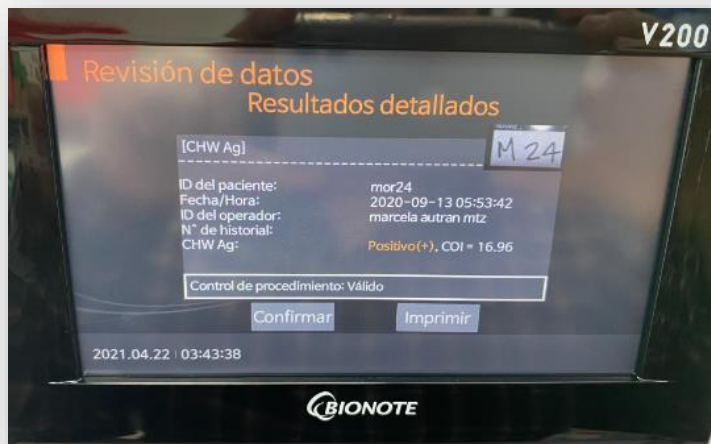


Imagen 18. “Fotografía de pantalla de Vcheck V200 mostrando resultado positivo a *Dirofilaria immitis* obtenido de la muestra número 24 tomada en Yautepec, Morelos”.



Imagen 19. Fotografía de pantalla de Vcheck V200 mostrando resultado negativo a *Dirofilaria immitis* obtenido de la muestra número 28 tomada en Yautepec, Morelos.



Imagen 20. Fotografía durante toma de muestra a un paciente en Yautepec, Morelos.



Imagen 21. Aplicación de cuestionario de aspectos de exposición a dirofilariasis a tutor de paciente Campanita en Yautepec, Morelos”.



Imagen 22. Presencia en las instalaciones del Centro de Control Canino de Yautepec, Morelos.



Imagen 23. Fotografía durante toma de muestra a un paciente en Yautepec, Morelos.

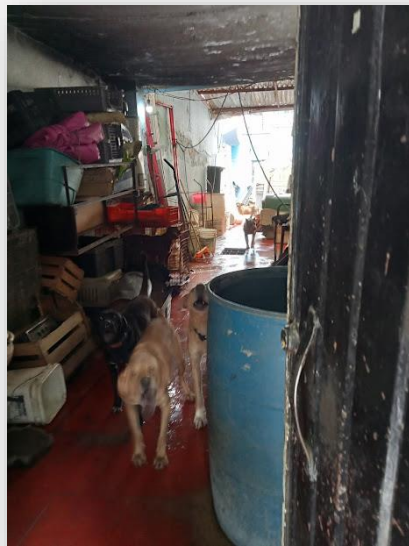


Imagen 24. Fotografía tomada en las instalaciones del refugio "Tonka y Jack" en la alcaldía Gustavo A. Madero de la Ciudad de México.



Imagen 25. Obtención de muestra sanguínea de la vena cefálica a paciente del refugio “Tonka y Jack” en la alcaldía Gustavo A. Madero de la Ciudad de México.



Imagen 26. Obtención de muestra sanguínea de la vena cefálica a paciente de la colonia Observatorio en la alcaldía Miguel Hidalgo de la Ciudad de México.



Imagen 27. Pacientes muestreados en la colonia Arturo López en alcaldía Álvaro Obregón de la Ciudad de México.



Imagen 28. Pacientes muestreados en la colonia San José Jajalpa en el municipio Ecatepec del Estado de México.



Imagen 29. Fotografía en el Laboratorio de Inmunología de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán durante procesamiento de muestras de la Zona Metropolitana del Valle de México.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

- 1) Acevedo, G., Martínez, D., & Utz, L. (2016). Unidad 1. La salud y sus determinantes. La salud pública y su medicina preventiva. Recuperado el 4 de agosto de 2021, de <http://preventivaysocial.webs.fcm.unc.edu.ar/files/2014/04/MPyS-1-Unidad-1Determinantes-de-la-Salud-V-2013.pdf>
- 2) American Heartworm Society. (2014). Directrices Caninas Actuales para la Prevención, Diagnóstico y Gestión de la infección de *Dirofilaria immitis* en perros. Recuperado el 31 de julio de 2021, de https://d3ft8sckhnqim2.cloudfront.net/images/documents/2014_AHS_Canine_Guidelines.Spanish.Investigable.pdf?1457714969
- 3) Cafarelli, C., Mathis, A., Russo, G. & Silaghi, C. (2019). De novo genome sequencing and comparative stage-specific transcriptomic analysis of *Dirofilaria repens*. *International Journal of Parasitology* vol. 49. Recuperado el 10 de octubre de 2022, de <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31557466/>
- 4) Carretón, E., Diosdado, A., Falcón, S., Falcón, Y., Gómez, P., González, J., Montoya, G., Morchón, R., & Simón F. (2017). Sintomatología, diagnóstico, tratamiento y control de la dirofilariosis cardiopulmonar. *Argos: Informativo Veterinario*, núm. 187. Recuperado el 15 de agosto de 2021, de <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=7152802>
- 5) Cazaux, N., Bertoldi, G., Calvo, C., Hartfield, L., Meder, A., & Miguel, M. (2019). Dirofilariosis canina: una parasitosis emergente favorecida por el cambio climático. *Ciencia Veterinaria* vol. 21, núm. 1. Recuperado el 2 de octubre de 2021, de <https://repo.unlpam.edu.ar/handle/unlpam/6628>
- 6) Chordá, F. (2014). *Biología de Mosquitos (Diptera: Culicidae) en enclaves representativos de la Comunidad Valenciana*. Tesis de Doctorado de la Universitat de València.

- 7) Cuervo, P., Cringoli, G. & Rinaldi, L. (2015). Modeling the extrinsic incubation of *Dirofilaria immitis* in South America based on monthly and continuous climatic data. *Veterinary Parasitology* vol. 209, issues. 1-2. Recuperado el 7 de octubre de 2021, de <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0304401715000552?via%3Dihub>
- 8) Dingman, P., Courtney, C., Greiner, E., Johnson C., Kramer, L., Lappin, M., Levy, J., Morchon, R. & Tucker S. (2010). Association of Wolbachia with heartworm disease in cats and dogs. *Veterinary Parasitology* vol. 170. Recuperado el 18 de abril de 2022, de <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20193981/>
- 9) Echeto, O., Camacho, J. Oviedo de Vale, M., Simoes, D. & Vale, O. (2005). Dirofilariosis en caninos: estudio anatomopatológico de 15 casos. *Revista Científica* vol. XV, núm 5. Recuperado el 15 de septiembre de 2022, de <https://www.redalyc.org/pdf/959/95915503.pdf>
- 10) Encalada, L., Duarte I., García, M. & Vargas, J. (2019). Control parasitario en perros y gatos: conocimiento sobre las principales enfermedades parasitarias en el sureste mexicano. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú* vol. 30 núm. 4. Recuperado el 20 de abril de 2022, de http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172019000400030
- 11) Enlace Hispano Americano de Salud. (2012). “*Procesamiento de muestras sanguíneas para diagnóstico de malaria*”. España. Recuperado el 8 de septiembre de 2021, de <https://docplayer.es/8494546-Procesamiento-de-muestras-sanguineas-para.html>
- 12) Fajardo, A. (2017). Medición en epidemiología: prevalencia, incidencia, riesgo, medidas de impacto. *Revista Alergia México* vol. 64. Recuperado el 16 de noviembre de 2021, de <https://www.revistaalergia.mx/ojs/index.php/ram/article/view/252/606>

- 13) González, C., Reyes, C., Jercic, M., Rada, V., Saldarriaga, M., Pavletic, C., & Parra, A. (2016). Manual de culícidos (Diptera: Culicidae) de la zona Norte y Centro de Chile, incluyendo Isla de Pascua. *Instituto de Salud Pública de Chile, Ministerio de Salud de Chile. Santiago.* Recuperado el 9 de enero de 2022, de <https://www.ispch.cl/sites/default/files/ManualCulicidosV02.pdf>
- 14) Granda, C. & Rivas, M. (2021). *Prevalencia de Dirofilaria immitis en perros de las ciudadelas Santa Cecilia y Mapasingue de la ciudad de Guayaquil.* Tesis de Licenciatura. Universidad de Guayaquil.
- 15) Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos. "Dr. Manuel Martínez Báez". (2015). *Lineamientos para la vigilancia epidemiológica de paludismo por laboratorio.* México: Secretaría de Salud.
- 16) Laboratorio BIONOTE. (2015). Ficha técnica de prueba Anigen Rapid CHW Ag 2.0.
- 17) Maia, R. (2015). *Morfofisiología do intestino médio de adultos do mosquito não hematófago Toxorhynchites (Lynchiella) theobaldi (Diptera, Culicidae).* Tesis de Maestría de la Universidade Federal de Viçosa.
- 18) Morchón, R. (2009). *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 de Doctorado de la Universidad de Salamanca.
- 19) Movilla, R., García C., Roura, X. & Siebert, S. (2016) Countrywide serological evaluation of canine prevalence for Anaplasma spp., Borrelia burgdorferi (sensu lato), *Dirofilaria immitis* and Ehrlichia canis in Mexico. *BioMed Central.* vol 9. Recuperado el 13 de marzo de 2023, de <https://link.springer.com/article/10.1186/s13071-016-1686-z>

- 20) Muñoz, M. (2003). *Dirofilaria immitis. Enfermedad del gusano del corazón. Revisión bibliográfica*. Tesis de Doctorado. Universidad Austral de Chile.
- 21) Instituto Nacional de Estadística y Geografía. (2021), *Número de mascotas por entidad federativa, según el tipo de mascota*. Encuesta Nacional de Bienestar Autorreportado. (ENBIARE) 2021. Tabulados básicos. Recuperado de Base de Datos Número de mascotas por entidad federativa, según el tipo de mascota.
- 22) Pérez, G., Iglesias, M., Basanta, M. & Mallea, J. (2015). *Dirofilariosis canina una enfermedad en expansión. Revista Veterinaria Argentina, vol. XXXII, núm. 327*. Recuperado el 4 de marzo de 2022, de <https://www.motivar.com.ar/wp-content/uploads/2020/01/Dirofilariosis-canina-una-enfermedad-en-expansi%C3%B3n.pdf>
- 23) Ponce, J. (2018). *Determinación de la concordancia entre el método de Knott modificado y prueba rápida de Elisa para el diagnóstico de Dirofilaria immitis en perros, en una clínica veterinaria de la zona 7 de Mixco, Guatemala, en el año 2018*. Tesis de Licenciatura. Universidad de San Carlos de Guatemala.
- 24) Rodríguez, R. (2015). *Técnicas para el diagnóstico de parásitos con importancia en salud pública y veterinaria*. México: AMPAVE.
- 25) Sánchez, M., Calvo, P. & Mutis, C. (2011). *Dirofilaria immitis: una zoonosis presente en el mundo. Revista de Medicina Veterinaria, núm. 22*. Recuperado el 14 de enero de 2022 de 2022, de <http://www.scielo.org.co/pdf/rmv/n22/n22a07.pdf>
- 26) Slater, B. (2014). *Fossil Focus: Arthropod-Plant Interactions. Palaeontology vol. 4*. Recuperado el 16 de enero de 2023, de https://www.researchgate.net/publication/275330606_Slater_BJ_2014_Fossil_Focus_Arthropod_-_plant_interactions_Palaeontologyonline_4_5

- 27) Torres, F. (2020). *Prevalencia e incidencia de patógenos transmitidos por vectores en perros desprotegidos en dos regiones brasileñas*. *Vectores de parásitos*, 15, 195.
- 28) Valadez, R., Gamboa, L., Vélez, N., Rodríguez, B., Gómez, M., García, R., & Pérez, G. (2004). Perros y prácticas rituales en una antigua aldea de la Cuenca de México. *Revista de la Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Pequeñas Especies*, vol. 15, núm 5. Recuperado el 31 de diciembre de 2022, de <https://arqueozoologiaenahiia.files.wordpress.com/2020/07/2004-perros-y-prc3a1cticas-rituales-en-una-antigua-aldea-de-la-cuenca-de-mc3a9xico.pdf>
- 29) Vizcaíno, G. (2017). Importancia del cálculo de la sensibilidad, la especificidad y otros parámetros estadísticos en el uso de las pruebas de diagnóstico clínico y de laboratorio. *Medicina & Laboratorio*, vol. 23, núm. 7-8. Recuperado el 6 de enero de 2023, de <https://docs.bvsalud.org/biblioref/2018/05/883697/importancia-calculo-sensibilidad-y-especificidad.pdf>