

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA  
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA**



**“DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE  
*Dirofilaria immitis* EN CÁNIDOS Y FÉLIDOS SILVESTRES  
DEL CLUB AUTO SAFARI CHAPÍN, BRITO,  
GUANAGAZAPA, ESCUINTLA”**

**VERÓNICA ANDREA MONROY TOCA**

**Médica Veterinaria**

**GUATEMALA, OCTUBRE DE 2,017**

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA  
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA**



**“DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE  
*Dirofilaria immitis* EN CÁNIDOS Y FÉLIDOS SILVESTRES DEL  
CLUB AUTO SAFARI CHAPÍN, BRITO, GUANAGAZAPA,  
ESCUINTLA”**

**TRABAJO DE GRADUACIÓN**

PRESENTADO A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD

**POR:**

**VERÓNICA ANDREA MONROY TOCA**

Al conferírsele el título profesional de:

**Médica Veterinaria**

En el grado de Licenciado

**GUATEMALA, OCTUBRE DE 2,017**

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA  
JUNTA DIRECTIVA**

DECANO	M.A. Gustavo Enrique Taracena Gil
SECRETARIO	Dr. Hugo René Pérez Noriega
VOCAL I	M. Sc. Juan José Prem González
VOCAL II	Lic. Zoot. Edgar Amílcar García Pimentel
VOCAL III	Lic. Zoot. Alex Rafael Salazar Melgar
VOCAL IV	Br. Brenda Lissette Chávez López
VOCAL V	Br. Javier Augusto Castro Vásquez

**ASESORES:**

**M. Sc. EDY ROBIN MEOÑO SÁNCHEZ**

**M. A. MANUEL EDUARDO RODRÍGUEZ ZEA**

## **HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR**

En el cumplimiento con lo establecido por los reglamentos y normas de la Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a su consideración el trabajo de graduación titulado:

**“DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE  
*Dirofilaria immitis* EN CÁNIDOS Y FÉLIDOS SILVESTRES  
DEL CLUB AUTO SAFARI CHAPÍN, BRITO, GUANAGAZAPA,  
ESCUINTLA”**

Que fuera aprobado por la Honorable Junta Directiva de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Como requisito previo a optar el título de:

**MÉDICA VETERINARIA**

## **ACTO QUE DEDICO:**

- A DIOS Y JESUCRISTO:** Por darme la vida, por haberme concedido todas las posibilidades para estudiar, por llevarme de su mano y lograr llegar a hacer y ser los que soy hasta el día de hoy.
- A VERÓNICA TOCA:** Mi madre, por darme todo a su alcance para poder cumplir mis sueños, porque a pesar de cualquier circunstancia siempre ha estado, está y sé que estará junto a mí.
- A RODRIGO MONROY:** My daddy, por enseñarme tanto, por apoyarme y darme los alientos necesarios cuando creía ya no poder. Por sus consejos en las decisiones más difíciles y por su amor incondicional.
- A MI HERMANA:** Linda Lisbeth Asturias Toca (QPD) por cuidarme desde el cielo y ser un motivo más para ser mejor cada día.
- A EDUARDO ASTURIAS:** Mi hermanito, por darme ánimos, por incentivar me a perseguir mis sueños y por permitirme disfrutar de tantas momentos inolvidables junto a él.
- A MIS HERMANOS:** Rodrigo Andrés Monroy Toca y Emerson Monroy por animarme a culminar mis estudios.
- A CLAUDIA CRUZ:** Mi cuñada favorita, por sus infinitos consejos, por recordarme que nada es imposible, por jamás dejarme sola y apoyarme en cada momento que necesité su ayuda.
- A MIS SOBRINAS (OS):** Por permitirme ser su ejemplo, por mostrarme un amor puro y sincero. Los amo, quiero llegar a ser alguien en quien siempre puedan confiar.

- A ALEXANDRA MORALES:** Porque 15 años no bastarán para una amistad que no tiene barreras, por incentivarme a siempre seguir adelante a pesar de cualquier desafío.
- A MARIELA PÉREZ:** (Marielita bebé), por recordarme que aunque tengo permitido equivocarme, soy capaz de lograr cualquier cosa. Gracias por hacer de lo mejor los últimos años de la carrera.
- A ESTUARDO DARDÓN:** El mejor amigohermanoprimo del mundo mundial, por compartir juntos tantos momentos, por nunca dejarme sola y apoyarme en cada proyecto.
- A ANDRÉS LUTIN:** Por estar dispuesto a ayudarme ante cualquier circunstancia, por sus palabras de aliento y por permitirme hablar de cualquier tema con él.
- A SHARON CASTRO:** Sharito, por su amistad. Encontré a una amiga tan genial como tú en un momento inesperado, te has convertido en mi confidente y un gran apoyo para mi vida.
- A TIFFANY SAMAYOA:** Mi gorda, por su sinceridad y consejos en mi vida, por su apoyo en situaciones difíciles y su amistad siempre.
- A TEAM MIWIS:** Por permitirme gozar de los mejores viajes por Guatemala, la nación que nos da libertad y gran felicidad.
- A MIS MASCOTAS:** Por ayudarme a conocer por primera vez el amor puro, por ser la mayor influencia a ser Médica Veterinaria y permitirme conocer de cerca que si tienen un espíritu.
- A TODOS LOS ANIMALES:** Porque para mí no hay seres más puros sobre la tierra, porque la Veterinaria es mi pasión y porque vivo para ellos, porque sin ellos no existiría esta maravillosa profesión.

## **AGRADECIMIENTOS:**

- A DIOS:** Por su infinita inspiración para realizar mi trabajo de graduación, por la sabiduría y el conocimiento que me ha permitido adquirir.
- A LA USAC:** La Universidad de San Carlos de Guatemala por abrir sus puertas, por ser la única universidad con una Facultad con la carrera de Medicina Veterinaria en Guatemala.
- A LA FMVZ:** La Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia por ser mi casa de estudios por casi 7 años.
- A M. Sc. EDY MEOÑO:** Por darme su incondicional apoyo, por tenerme paciencia para realizar este trabajo de investigación y sobre todo por tratarme como su colega y amiga.
- A M. A. MANUEL RODRÍGUEZ:** Por incentivarme desde el principio a realizar este tema como mi trabajo de graduación a pesar de las dificultades por las que atravesé.
- A LA UNIDAD DE PARASITOLOGÍA:** Por abrir sus puertas y darme todos los recursos para procesar las muestras de mi investigación.
- A M. Sc. CARLOS SAAVEDRA:** Por toda su ayuda durante mi carrera en la Facultad y su apoyo incondicional en las decisiones profesionales que he tomado.
- A CLUB AUTO SAFARI CHAPIN:** Por haberme permitido realizar mi Ejercicio Profesional Supervisado (E.P.S), por permitirme realizar mi trabajo de investigación y por darme la oportunidad de gozar de la mejor experiencia de mi vida.

- A Lic. LEONEL GARCÍA (QPD):** Por confiar en mis capacidades para llevar a cabo los proyectos de investigación y de campo en las Instalaciones del Safari.
- A CARLOS CUC (QPD):** Por su apoyo, su confianza y su amistad, por ser un ejemplo de humildad, por haberme apoyado en los proyectos que llevé a cabo.
- A ALLAN CORDÓN:** Por todo el apoyo que obtuve de él para llevar a cabo mi Plan de Trabajo y por comprender mi Visión del Safari.
- A M. V. GUSTAVO GONZÁLEZ:** Por su apoyo y sus enseñanzas durante el transcurso de mi E.P.S. y mi investigación.
- A M. V. KURT DUCHEZ** Por darme la oportunidad de continuar mi formación profesional en el área de Fauna Silvestre dentro de las Instalaciones del Zoológico La Aurora.
- A LUISA GONZÁLEZ:** Por brindarme la ayuda necesaria para obtener las muestras para mi investigación y estar pendiente de la misma.

# ÍNDICE

<b>I.</b>	<b>INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>1</b>
<b>II.</b>	<b>HIPÓTESIS .....</b>	<b>3</b>
<b>III.</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>4</b>
	3.1 Objetivo General:.....	4
	3.2 Objetivos Específicos: .....	4
<b>IV.</b>	<b>REVISIÓN DE LITERATURA: .....</b>	<b>5</b>
	4.1 <i>Dirofilaria immitis</i> .....	5
	4.1.1 Taxonomía .....	5
	4.1.2 Morfología .....	5
	4.1.3 Ciclo evolutivo .....	6
	4.1.4 Distribución geográfica.....	7
	4.1.5 Epidemiología.....	7
	4.2.6 Historia .....	8
	4.2 <i>Dirofilariasis</i> .....	8
	4.2.1 Definición .....	8
	4.2.2 Sinónimos .....	9
	4.2.3 Patogénesis .....	9
	4.2.4 Enfermedad en los animales silvestres .....	11
	4.2.5 Importancia en salud pública.....	11
	4.2.6 Diagnóstico .....	12
	4.2.7 Hallazgos clínicos: .....	16
	4.2.8 Tratamiento .....	17
	4.2.8.1 Tratamiento adulticida.....	17
	4.2.8.2 Tratamiento microfilaricida:.....	19

4.2.9	Prevención y control.....	19
4.2.9.1	En humanos.....	19
4.2.9.2	En animales.....	20
4.3	Reportes en félidos y cánidos silvestres.....	20
<b>V.</b>	<b>MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>24</b>
5.1	Materiales.....	24
5.1.1	Recursos humanos.....	24
5.1.2	Recursos materiales.....	24
5.1.3	Recursos biológicos.....	25
5.1.4	Recursos farmacológicos.....	25
5.1.5	Recursos químicos.....	26
5.1.5	Centros de referencia.....	26
5.1.6	Área de estudio.....	26
5.2	Metodología:.....	27
5.2.1	Tamaño de la muestra.....	27
5.2.2	Programación del muestreo.....	27
5.2.3	Contención química de los animales.....	27
5.2.3.1	Cánidos y félidos medianos y grandes.....	27
5.2.3.2	Cánidos y félidos pequeños.....	28
5.2.4	Toma de muestras.....	28
<b>VI.</b>	<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>29</b>
<b>VII.</b>	<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>36</b>
<b>VIII.</b>	<b>RECOMENDACIONES.....</b>	<b>37</b>
<b>IX.</b>	<b>RESUMEN.....</b>	<b>38</b>
	<b>SUMMARY.....</b>	<b>39</b>
<b>X.</b>	<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>40</b>

<b>XI. ANEXOS .....</b>	<b>45</b>
-------------------------	-----------

## ÍNDICE DE CUADROS

### **Cuadro No. 1**

Cánidos silvestres presentes en la colección.....25

### **Cuadro No. 2**

Félidos silvestres presentes en la colección.....25

### **Cuadro No. 3**

Resultados de la Prueba de Knott, obtenidos de 10 cánidos silvestres  
del Club Auto Safari Chapín.....29

### **Cuadro No. 4**

Resultados de la Prueba de Knott, obtenidos de 9 félidos silvestres  
del Club Auto Safari Chapín.....33

## ÍNDICE DE FIGURAS

### **Figura No. 1**

Microfilarias de *D. immitis* en muestra de sangre de un macho  
de *C. latrans*.....31

### **Figura No. 2**

Microfilarias de *D. immitis* en muestra de sangre de hembra  
No. 1 de *C. latrans*.....31

### **Figura No. 3**

Microfilarias de *D. immitis* en muestra de sangre de hembra  
No. 2 de *C. latrans*.....32

### **Figura No. 4**

Microfilaria de *D. immitis* en muestra de sangre de una hembra de *P. leo*. .....34

## I. INTRODUCCIÓN

Son muchos los factores que ponen en riesgo la supervivencia de la fauna silvestre. Algunas de las principales causas son: la pérdida de hábitat, el tráfico ilegal, el avance de la frontera urbana y agrícola, entre otras. Otro factor importante es la transmisión de enfermedades provenientes de animales domésticos a animales silvestres. Un grupo de animales especialmente vulnerables son los carnívoros silvestres, algunos de los cuales se encuentran en grave peligro de extinción.

La *Dirofilaria immitis*, es un nematodo filarioideo que provoca la dirofilariasis conocida comúnmente como enfermedad del gusano del corazón. Es una enfermedad parasitaria zoonótica de distribución mundial. Es transmitida en países tropicales y subtropicales, por mosquitos *Aedes*, *Culex*, *Anopheles* y *Mansonia*, los cuales funcionan como huéspedes intermediarios. Este parásito afecta principalmente a perros domésticos y con menor frecuencia a gatos. (Alonso et al., 2007)

A nivel mundial han habido reportes de distintos casos en los que se ha determinado la presencia de *D. immitis* en cánidos y félidos silvestres. Entre 1976-1977 se determinó la infección en zorros rojos (*Vulpes fulva*), zorros grises (*Urocyon cinereoargenteus*), y coyotes (*Canis latrans*) en Indiana (Kazacos y Edberg, 1977). Han sido reportados casos aislados en félidos silvestres, en 2009 una oncilla (*Leopardus tigrinus*), diagnosticada en Brasil (Filoni y Edberg, 1977) y en 2013 un león africano (*Panthera leo*), en España (Ruiz et al., 2006). En 2013 fue realizado un estudio en pumas de montaña (*Puma concolor*) y se reportó un 12.4% de prevalencia (Foley et al., 2013). En Guatemala no se han realizado estudios sobre dirofilariasis en animales silvestres, tampoco se han hecho reportes de casos aislados.

El presente estudio determinó la presencia de microfilarias de *D. immitis* circulantes, en sangre de cánidos y félidos de la colección privada “Club Auto Safari Chapín” mediante la prueba de Knott. La colección cuenta con diferentes especies de cánidos y félidos, algunas de las cuales se encuentran en grave peligro de extinción, tales como: jaguares (*Panthera onca*), ocelotes (*Leopardus pardalis*), pumas (*P. concolor*), entre otras. Debido a que esta zona de vida se caracteriza por tener una gran cantidad de mosquitos, existía la posibilidad de encontrar casos positivos en estas especies, sobre todo porque ya se ha diagnosticado esta enfermedad en perros de la zona. (Reyes, 2016).

## II. HIPÓTESIS

Existe presencia de microfilarias circulantes del nematodo *Dirofilaria immitis* en los cánidos y félidos silvestres del Club Auto Safari Chapín de Brito, Guanagazapa, Escuintla.

### III. OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo General:

- Generar información sobre la presencia de *Dirofilaria immitis* en cánidos y félidos silvestres en cautiverio en Escuintla, Guatemala.

#### 3.2 Objetivos Específicos:

- Determinar la presencia de microfilarias de *D. immitis* en los cánidos del Club Auto Safari Chapín mediante la prueba de Knott.
- Determinar la presencia de microfilarias de *D. immitis* en los félidos del Club Auto Safari Chapín mediante la prueba de Knott.

## IV. REVISIÓN DE LITERATURA:

### 4.1 *Dirofilaria immitis*

#### 4.1.1 Taxonomía

Filo: Nematoda

Clase: Secernentea

Subclase: Spiruria

Orden: Spirurida

Familia: Onchocercidae

Género: *Dirofilaria*

Especie: *Dirofilaria immitis*

(Johnstone et al., 1997)

#### 4.1.2 Morfología

El parásito adulto macho mide de 12 a 16 cm de largo y las hembras de 25 a 30 cm. Son vermes delgados de color blanco, el esófago mide de 1.25 a 1.50 mm. El extremo final de los machos es curvo y en espiral y la cola tiene unas alas laterales pequeñas. Posee de 4 a 6 papilas ovales, en las hembras, la vulva se sitúa justo detrás del esófago. Las hembras son vivíparas y las microfilarias pueden encontrarse en cualquier momento, habiendo en mayor número por las noches y en los meses de verano. Las microfilarias miden 300  $\mu$  de largo y 6  $\mu$  de ancho y pueden vivir más allá de 2 años en la sangre del perro, pero sólo 1 mes en la sangre del gato (Johnstone et al., 1997).

#### 4.1.3 Ciclo evolutivo

Las especies de mosquitos vectores adquieren las larvas en su primer estadio (microfilarias) cuando se alimentan de un huésped infectado. El desarrollo de las microfilarias hasta el segundo (L<sub>2</sub>) y tercer estadios larvarios (L<sub>3</sub>) ocurre dentro del mosquito en 1 - 4 semanas, en función de la temperatura ambiental. Esta fase de desarrollo requiere un menor tiempo cuando la temperatura ambiental es >30°C. Cuando maduran, las larvas infectantes migran hasta el *labium* del mosquito. Cuando el mosquito se alimenta, las larvas infectantes emergen a través de la punta del *labium* junto con una pequeña cantidad de hemolinfa y son depositadas sobre la piel del huésped. Las larvas migran hacia el interior de la herida provocada por la picadura, comenzando así la parte mamífera de su ciclo biológico. Un típico mosquito *Aedes* puede albergar la fase de desarrollo de un número reducido de larvas de *D. immitis*, generalmente <10 larvas por mosquito (Alonso et al., 2007).

En cánidos y otros huéspedes susceptibles, las larvas infectantes (L<sub>3</sub>) mudan al cuarto estadio (L<sub>4</sub>) en 2-3 días. Tras permanecer en el tejido subcutáneo durante cerca de 2 meses, mudan a adultos jóvenes (L<sub>5</sub>) que migran a través de los tejidos del huésped, llegando a las arterias pulmonares ~50 días después. Los vermes adultos (los machos ~15cm de longitud, las hembras de ~25cm) se desarrollan preferentemente en las arterias pulmonares de los lóbulos caudales del pulmón durante los siguientes 2-3 meses. Residen principalmente en las arterias pero pueden desplazarse al interior del ventrículo derecho cuando la carga parasitaria es elevada. Las hembras gestantes generan microfilarias 6 - 7 meses tras la infección (Alonso et al., 2007).

Las microfilarias se detectan normalmente en los cánidos infectados que no reciben profilaxis a base de macrólidos. No obstante del 25% a >50% de los cánidos infectados pueden no tener microfilarias circulantes. Por lo tanto, el número de microfilarias circulantes no se relaciona de una manera importante con la carga de

hembras adultas de *Dirofilaria*. Los adultos viven generalmente 3-5 años, mientras que las microfilarias pueden sobrevivir de 1-2 años esperando un mosquito huésped intermediario (Alonso et al., 2007).

La mayoría de los perros son muy susceptibles a la infección por *Dirofilaria* y la mayoría de larvas infectantes (L<sub>3</sub>) se transforman en adultos. Los hurones (mustélidos) son huéspedes susceptibles y los gatos domésticos pueden presentar resistencia. Un porcentaje inferior de los gatos expuestos desarrollan infecciones por adultos y la carga parasitaria suele ser de sólo 1-3 vermes. Otra prueba de la resistencia relativa de los gatos es el corto período de supervivencia de muchas larvas en las arterias pulmonares; los vermes adultos probablemente no sobreviven más allá de los 2 años. En los gatos, se han descrito migraciones aberrantes a diferentes órganos incluido el sistema nervioso central (SNC) (Alonso et al., 2007).

#### **4.1.4 Distribución geográfica**

Se han registrados casos de dirofilariasis en la mayoría de los países con clima templado, semitropical o tropical (Alonso et al., 2007).

#### **4.1.5 Epidemiología**

Los principales factores que condicionan la difusión de la enfermedad son ambientales, tales como la temperatura y la humedad; además, depende de la densidad de los mosquitos vectores y de la presencia de los huéspedes definitivos en los que el parásito completa su desarrollo y se reproduce. Hay varios mamíferos, como el gato, el zorro, la rata almizclera, el lobo, la nutria y el lobo marino que sirven como huéspedes naturales, y el humano, como un huésped accidental (Alonso et al., 2007).

#### **4.2.6 Historia**

Esta enfermedad fue descubierta en perros hace aproximadamente un siglo, y reportada en gatos en los años veinte (Quiroz, 1994). La primera observación fue realizada en 1626, por Francesco Birago en la necropsia de un perro de caza de su propiedad. Años más tarde, el médico francés J.B. Panthot publicó una nota sobre la presencia de 31 vermes en el ventrículo derecho de una perra usada para demostraciones anatómicas junto con el primer dibujo del parásito. Entre 1806 y 1875 la existencia de dirofilariasis canina fue reportada en Italia, Estados Unidos, Japón, China y Brasil (Barahona, 2013). Desde entonces se han desarrollado diferentes pruebas diagnósticas y tratamientos contra el parásito, así como medidas de prevención (Quiroz, 1994).

### **4.2 Dirofilariasis**

#### **4.2.1 Definición**

La dirofilariasis es una infección causada por el nematodo filarioideo *D. immitis*. Al menos 70 especies de mosquitos pueden servir como huéspedes intermediarios; *Aedes*, *Anopheles* y *Culex* son los géneros que actúan con mayor frecuencia como vectores. La infección patente puede manifestarse en numerosas especies animales, tanto silvestres como de compañía. En los animales de compañía, la dirofilariasis se observa principalmente en perros y con menor frecuencia en gatos y hurones. En los animales de compañía, el riesgo de infección es más elevado en perros y gatos criados al aire libre. Aunque cualquier perro, casero o criado al aire libre, puede ser infectado, la mayoría de infecciones se diagnostican en perros de talla media a grande con una edad comprendida entre los 3 – 8 años (Alonso et al., 2007).

Las tasas de dirofilariasis en otros animales de compañía como gatos y hurones, tienden a igualar a las de los perros de la misma región geográfica pero, normalmente con un menor prevalencia. No se ha detectado una preferencia por determinadas edades en hurones o gatos, pero sí se ha descrito una mayor susceptibilidad de los gatos machos con respecto a las hembras. Pueden infectarse hurones y gatos, tanto domésticos como criados al aire libre. En los gatos, no son factores de predisposición otras infecciones, como la causada por el virus de la leucemia o de la inmunodeficiencia felina (Alonso et al., 2007).

#### **4.2.2 Sinónimos**

Enfermedad del gusano del corazón, dirofilariasis.

#### **4.2.3 Patogénesis**

La gravedad de la enfermedad cardiopulmonar en los perros está determinada por el número de vermes, la respuesta inmunitaria del huésped, la duración de la infección y el nivel de actividad del huésped. Las dirofilarias adultas vivas producen irritación mecánica de la íntima y las paredes de las arterias pulmonares, dando lugar a engrosamiento perivascular con células inflamatorias, incluyendo la infiltración de un alto número de eosinófilos. Los vermes vivos parecen tener un efecto inmunodepresor. Sin embargo, la presencia de vermes muertos conlleva reacciones inmunes y la subsiguiente enfermedad pulmonar en áreas del pulmón no relacionadas directamente con las dirofilarias muertas. Las infecciones a largo plazo dan lugar a lesiones crónicas y a la subsecuente cicatriz, debido a todos los factores mencionados (es decir, irritación directa, muerte del verme y respuesta inmunitaria). Los perros activos tienden a desarrollar una enfermedad más grave que los inactivos para una misma carga parasitaria. El esfuerzo frecuente incrementa la patología arterial pulmonar y puede precipitar la presencia de síntomas clínicos observables incluyendo insuficiencia cardíaca congestiva (ICC).

Las altas cargas parasitarias suelen ser consecuencia de infecciones adquiridas a partir de numerosas exposiciones a mosquitos (Alonso et al., 2007).

En los lugares con climas templados, los perros jóvenes sin profilaxis expuestos a un elevado número de picaduras de mosquitos, corren el riesgo de contraer infecciones graves, que causan un síndrome de la vena cava, al año siguiente de la exposición. Por lo general, debido al tamaño del verme y a las más pequeñas dimensiones de la vasculatura pulmonar, los perros pequeños no toleran las infecciones ni el tratamiento tan bien como los perros grandes (Alonso et al., 2007).

Los mediadores de la inflamación relacionados con la *Dirofilaria* que inducen la respuesta inmune en pulmones y riñones (glomerulonefritis por inmunocomplejos) causan vasoconstricción y posiblemente, broncoconstricción. La salida de plasma y mediadores inflamatorios desde los pequeños vasos y capilares causan inflamación del parénquima pulmonar y edema. La vasoconstricción arterial pulmonar causa mayor velocidad del flujo sanguíneo, sobre todo en situaciones de esfuerzo y la fricción resultante daña aún más el endotelio. El proceso de daño endotelial, vasoconstricción, incremento de la velocidad de flujo sanguíneo e isquemia local constituye un círculo vicioso. La inflamación acompañada de isquemia puede dar lugar a una fibrosis intersticial irreversible (Alonso et al., 2007).

La patología arteria pulmonar en gatos y hurones es similar a la de los perros, aunque las pequeñas arterias desarrollan una hipertrofia muscular más grave. La trombosis arterial está causada tanto por los coágulos como por los vermes alojados dentro de la estrecha luz de las arteriolas. En los gatos, los cambios en el parénquima pulmonar relacionados con las dirofilarias muertas son diferentes a los observados en perros y hurones. Más que el edema celular y daño del tipo I encontrados en los perros, los gatos experimentan hiperplasia celular tipo II, lo que causa una significativa barrera a la oxigenación, lo que es más significativo, debido

a la restringida capacidad de sus arterias pulmonares y a la enfermedad subsecuente. Tanto hurones como gatos, tienen mayor probabilidad de morir por una infección de *Dirofilaria* (Alonso et al., 2007).

#### **4.2.4 Enfermedad en los animales silvestres**

Los reservorios en fauna silvestre incluyen a lobos, coyotes, zorros, focas grises de California, leones marinos y mapaches (Alonso et al., 2007). Las nutrias han sido descritas como huéspedes definitivos de la enfermedad (Matsuda et al., 2003).

#### **4.2.5 Importancia en salud pública**

Algunas especies de filarias, por lo común observadas en animales silvestres o domésticos, en ocasiones infectan a las personas, pero raras veces se presenta microfilaremia (Riache et al., 2001). Se ha demostrado que la *D. immitis* también puede transmitirse al humano por la picadura de mosquitos infectados (Alonso et al., 2007).

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, provocando reacciones granulomatosas denominadas “lesiones en moneda”. 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 (Alonso et al., 2007; Sánchez et al., 2011). El tratamiento quirúrgico es suficiente; sin tratamiento las lesiones son imposibles de diferenciar de un tumor pulmonar (Ro et al., 1989).

Se han diagnosticado ya más de ochenta casos de filariosis pulmonar en humanos, causados por *D. immitis*, la mayoría de ellos en el sudeste de los Estados Unidos, veinte casos en Australia y diez casos en Japón. Las características epidemiológicas y clínicas aún se discuten de los casos se desconocen (Sánchez et al., 2011).

#### **4.2.6 Diagnóstico**

El test de detección de antígeno es la prueba diagnóstica preferida para perros asintomáticos o cuando se busca la verificación de una posible infección por dirofilarias. Este es el test diagnóstico más sensible a disposición de los profesionales de la veterinaria. Incluso en áreas donde la prevalencia de la infección por *Dirofilaria* es elevada, aproximadamente 20% de los perros infestados pueden no ser microfilarémicos. También la profilaxis mensual con macrólidos induce la latencia embrionaria en las hembras de *Dirofilaria* (Alonso et al., 2007).

Los tests disponibles para detección del antígeno son muy sensibles y específicos. Para determinar cuándo el test puede resultar útil, es recomendable añadir un período de predetección a la fecha aproximada en la que la infección pudo haber sido posible. Un intervalo razonable es 7 meses. En general, no hay necesidad de realizar la prueba para detección de antígeno o las microfilarias antes de los 6 meses de edad. El nivel de antigemia está directamente relacionado con el número de vermes maduros hembras presentes. Al menos el 90% de los perros que albergan más de tres hembras adultas darán positivo a la prueba. Por lo general, las reacciones positivas rápidas y fuertes se correlacionan con cargas relativamente altas de gusanos. Para las sospechas de baja carga parasitaria, los tests de laboratorio comerciales en placa de microtitulación con pocillos (ELISA) son las pruebas más sensibles (Alonso et al., 2007).

En los perros la ecocardiografía es poco relevante como herramienta diagnóstica. La observación de vermes en el ventrículo derecho del corazón y la vena cava se relaciona con altas tasas de infección con o sin síndrome de la vena cava. La hipertensión pulmonar crónica grave causa hipertrofia ventricular derecha, aplanamiento del septo ventricular, disminución de la carga del ventrículo izquierdo y velocidad alta de regurgitación en las válvulas tricúspide y pulmonar. El Ecocardiograma de los perros infestados suele ser normal. Los patrones de hipertrofia ventricular derecha se observan cuando hay hipertensión pulmonar crónica grave y están relacionados con una manifiesta o inminente insuficiencia cardíaca derecha. Las alteraciones del ritmo cardíaco están en general ausentes o son leves, pero la fibrilación auricular es una complicación esporádica en los perros con la enfermedad clase III (Alonso et al., 2007).

El diagnóstico de la dirofilariasis en gatos está basado en la historia clínica y la exploración, grado de sospecha, radiografías torácicas, ecocardiografía y serología. Los gatos pueden desarrollar una respuesta positiva al test antigénico ocho meses después de la inoculación de las larvas. No obstante el test antigénico se considera demasiado incierto, como prueba inicial en gatos, ya que las infecciones unisexuales son comunes en ellos, pueden darse infecciones ligeras con un bajo número de hembras maduras, insuficiente para ser detectable (Alonso et al., 2007).

Algunos gatos pueden desarrollar la enfermedad antes que exista una antigenemia detectable entre los cinco a ocho meses después de la infección. Los anticuerpos frente a la *Dirofilaria*, producidos por el 90% de los gatos, pueden aparecer de dos a tres meses después de la infección de las larvas y están en general presentes durante 5 meses. No obstante, los anticuerpos pueden persistir durante varios meses después de la muerte del gusano. También, los anticuerpos inducidos por larvas pueden persistir después de que la profilaxis con macrólidos haya sido instaurada y los pre-adultos hayan sido eliminados. Por eso, una

respuesta positiva al test de detección de anticuerpos es sólo una indicación de la exposición al parásito y no necesariamente de una infección. En conjunción con otros hallazgos, la seropositividad a los anticuerpos puede ser útil para establecer el diagnóstico clínico de la dirofilariasis felina. No se ha observado la presencia de falsos positivos como resultado de reacciones cruzadas. Un resultado negativo al test de detección de anticuerpos indica con más de 90% de probabilidad, la ausencia de infección (Alonso et al., 2007).

En los gatos, los gusanos pueden verse habitualmente en la ecocardiografía. Pueden observarse líneas hipercoicas paralelas, procedentes de la cutícula del gusano, en el ventrículo derecho y las arterias pulmonares. Las cargas parasitarias altas pueden asociarse con la presencia de gusanos en el ventrículo derecho. La ecocardiografía es más importante en gatos, que en perros, debido a la mayor dificultad del diagnóstico y a la gran sensibilidad de la prueba realizada por manos expertas (Alonso et al., 2007).

Además de las pruebas diagnósticas específicas, tanto en gatos como en perros están indicados el recuento sanguíneo completo, un perfil bioquímico, el urianálisis y especialmente las radiografías torácicas. Los datos de laboratorio suelen ser normales. Son frecuentes la eosinofilia y la basofilia y juntamente sugieren una dirofilariasis oculta o una enfermedad alérgica pulmonar. La eosinofilia surge cuando las larvas L<sub>5</sub> llegan a las arterias pulmonares. Posteriormente, los recuentos de eosinófilos pueden variar pero son normalmente altos en los perros con infecciones ocultas inmunomediadas, sobre todo si se desarrolla neumonía eosinofílica (Alonso et al., 2007).

La hiperglobulinemia puede estar presente en perros y gatos debido a la estimulación antigénica. La hipoalbuminemia en perros está relacionada con glomerulonefritis por inmunocomplejos grave o con la insuficiencia cardíaca derecha. Las concentraciones séricas de alanina transaminasa (ALT) y fosfatasa

alcalina en ocasiones están incrementados pero no se corresponde bien con una función hepática anormal, si no con la eficacia del tratamiento adulticida o con un riesgo de toxicidad del fármaco. El análisis de orina puede revelar la proteinuria que puede ser valorada semicuantitativamente por un aumento de la ratio proteína: creatinina. En ocasiones, la glomerulonefritis grave o la amiloidosis pueden dar lugar a una hipoalbuminemia y a un síndrome nefrótico. Los perros con hipoalbuminemia secundaria a la enfermedad glomerular pierden también antitrombina III y tienen riesgo de presentar enfermedad tromboembólica. La hemoglobinuria está relacionada con la enfermedad clase III cuando los glóbulos rojos son lisados en la circulación pulmonar por el depósito de fibrina. Está indicado el tratamiento con heparina (75-100 U/kg, SC, 3 v/d). La hemoglobinuria es también un síntoma típico del síndrome de la vena cava (Alonso et al., 2007).

En perros, la radiografía torácica proporciona la mayoría de la información sobre la gravedad de la enfermedad y es una buena herramienta de valoración para los perros con síntomas clínicos compatibles con dirofilariasis. Las infecciones de clase III se caracterizan por una arteria pulmonar principal grande y dilatada y arterias lobulares caudales tortuosas. Si el diámetro de estas últimas es mayor o igual a 1,5 veces el diámetro de la novena costilla en su punto de superposición, está presente en la forma grave de la enfermedad. También puede observarse el crecimiento ventricular derecho. Con frecuencia, en caso de enfermedad avanzada, pueden observarse infiltrados de aspecto esponjoso, mal definidos y de extensión variable en el parénquima que rodea las arterias lobulares caudales. El infiltrado puede aumentar en jaula de confinamiento y con o sin dosis antiinflamatorias de un corticosteroide (Alonso et al., 2007).

En los gatos, los cambios cardíacos son menos frecuentes. Las arterias lobulares caudales suelen ser relativamente grandes, pero son mayores en la infección de dirofilarias. Los infiltrados irregulares en el parénquima pueden estar presentes también en los gatos con síntomas respiratorios. La arteria pulmonar

principal habitualmente no es visible debido a su posición relativa en la línea media (Alonso et al., 2007).

#### **4.2.7 Hallazgos clínicos:**

Al principio, el animal afectado muestra pocos signos de infección. Los signos dependen de la severidad de la infección, la ubicación de la filaria, el tiempo que ha estado presente, y la cantidad de daños causados al corazón, así como a los pulmones, el hígado y otros órganos, pero siempre, el animal afectado mostrará cada vez menos tolerancia al ejercicio (Fox et al., 1999). Los gusanos adultos, en el canino, forman una masa en el ventrículo derecho causando una falla cardiaca congestiva en la arteria pulmonar, mientras que las microfilarias circulan en la sangre (Sánchez et al., 2011).

Los signos reflejan la carga de gusanos adultos, la duración de la infección y la interacción huésped/parásito. Muchas veces se destacan signos respiratorios, intolerancia al ejercicio, tos, disnea, fatiga, pérdida ponderal y los crepitantes respiratorios se presentan en perros con dirofilariasis moderada y avanzada (Birchard y Sherding, 2002).

La hemoptisis se presenta en la enfermedad grave acompañada de tromboembolia pulmonar e hipertensión pulmonar. Puede verse antes, pero se presenta con mayor frecuencia después del tratamiento adulticida. La disnea aguda y las mayores densidades alveolares pulmonares pueden aparecer secundariamente a la muerte espontánea de los gusanos (Birchard y Sherding, 2002).

El síncope: Acompaña a la enfermedad arterial pulmonar grave y a la hipertensión pulmonar (Birchard y Sherding, 2002).

Presión venosa central elevada: Indica una hipertensión pulmonar grave con ICC de incipiente a avanzada. Incluye un pulso yugular prominente, venas yugulares distendidas, hepatomegalia y ascitis. La enfermedad arterial y tromboembolismo pulmonares graves pueden asociarse con epistaxis, coagulación intravascular diseminada (CID), trombocitopenia y posible hemoglobinuria (Birchard y Sherding, 2002).

Hemoglobinuria: Consecuencia de una enfermedad glomerular grave manifestada por amiloidosis o por una glomerulonefritis por inmunocomplejos. Sus manifestaciones consisten en proteinuria, hipoalbuminemia, hipercolesterolemia, azoemia, edemas periférico o ascitis. Es un signo del síndrome caval. La congestión hepática crónica secundaria a la enfermedad, puede ocasionar daño hepático permanente y cirrosis. En ocasiones, los gusanos aberrantes pueden motivar embolización del encéfalo, ojo o de otras arterias sistémicas (Birchard y Sherding, 2002).

Muchos perros son asintomáticos, presentan una infección oculta, en la cual no hay microfilarias circulantes; esto se relaciona con una respuesta inmunológica que destruye a las microfilarias dentro del pulmón (infección oculta verdadera), infección unisexual, presencia de gusanos estériles o existencia de vermes inmaduros (infección prepatente) (Birchard y Sherding, 2002).

## **4.2.8 Tratamiento**

### **4.2.8.1 Tratamiento adulticida**

Dentro de los fármacos adulticidas encontramos:

La Tiacetarsamida sódica, un organoarsénico muy utilizado en dosis de 2.2 mg/kg, por vía endovenosa, cada 12 horas durante dos días seguidos. Debe ser administrado por vía endovenosa con gran cuidado para evitar la inflamación

perivascular intensa y necrosis en el sitio de la inyección (González, 2009). En ocasiones ocurre hepatotoxicidad aguda durante el tratamiento, si se presenta anorexia total, vómitos recurrentes e ictericia debe suspenderse el tratamiento. Los signos clínicos de embolización por los vermes como fiebre, tos y hemoptisis suelen ocurrir entre cinco y diez días después del tratamiento (Acuña, 2002). Algunos autores no lo recomiendan por efectos tóxicos (Birchard y Sherding, 2002).

El Clorhidrato de Melarsamina es un organoarsénico superior en seguridad y eficacia que la Tiacetarsamida. Con dos dosis de 2.5 mg/kg por vía intramuscular con 24 horas de intervalo la eficacia es del 96%. A diferencia de la tiacetarsamida, es posible graduar la eficacia filaricida de la melarsomina según la dosis, lo que proporciona la posibilidad de eliminar en etapas los vermes de perros muy infectados y disminuir el efecto de los émbolos (Acuña, 2002).

Como medida de manejo los perros tratados deben quedar confinados en reposo durante 3 o 4 semanas tras la aplicación del tratamiento adulticida, a fin de evitar riesgos debido a las posibles complicaciones tromboembólicas por la muerte y movilización de los vermes (González, 2009). También se pueden utilizar anticoagulantes como la heparina para disminuir el riesgo de trombos (Birchard y Sherding, 2002).

Contraindicaciones tratamiento adulticida:

- Insuficiencia hepática
  - Síndrome nefrótico
  - Insuficiencia renal avanzada.
  - Combinación de ICC derecha y azoemia renal grave
  - Enfermedades graves concomitantes
- (Birchard y Sherding, 2002)

#### **4.2.8.2 Tratamiento microfilaricida:**

Antes de aplicarlo se debe terminar con el tratamiento adulticida, se recomienda realizarlo 4-6 semanas después del anterior. Debe llevarse a cabo en esta etapa final para así evitar que los perros tratados contra los vermes adultos queden como reservorios eficaces de la infección. (Acuña, 2002) La ivermectina y milbemicidaoxima son microfilaricidas muy eficaces; se acompañan de un menor número de complicaciones y son los más fáciles de utilizar (Birchard y Sherding, 2002).

Ivermectina (50 µg/kg) en dilución 1:9 (1 ml de Ivermectina por 9 ml de propilenglicol o agua) a dosis de 1 ml/ 20 kg VO, 4 semanas después del tratamiento adulticida (Birchard y Sherding, 2002). Milbemicina-oxima es un microfilaricida potente, la dosis recomendada es de 0.5 mg/Kg mensual (Acuña, 2002).

Se deben de realizar pruebas de concentración a las 3 a 4 semanas del tratamiento con ivermectina. Si la microfilaremia persiste, se debe repetir el protocolo de tratamiento. Si es detectada 3 a 4 semanas luego del segundo tratamiento, es probable que persistan parásitos adultos. En estos casos se debe evaluar con una prueba de ELISA 2 a 3 meses post tratamiento adulticida. Debe llevarse a cabo en esta etapa final para así evitar que los perros tratados con adulticida continúen como reservorios eficaces de la infección (Acuña, 2002).

#### **4.2.9 Prevención y control**

##### **4.2.9.1 En humanos**

La prevención de esta enfermedad en el humano consiste en tratar y prevenir la infección en los perros. Debido a que los intentos al momento del diagnóstico serológico de las enfermedades humanas han sido poco fiables, los procedimientos

invasivos como la toracotomía han sido necesarios para diagnosticar este parásito (Sánchez et al., 2011). La microfilaria circula en el torrente sanguíneo, pero no puede desarrollar gusanos adultos sin pasar por un huésped intermediario, "el mosquito". Como prevención y control se debe fumigar para controlar los insectos y drenar los suelos donde se crían los mosquitos (Sánchez et al., 2011).

#### **4.2.9.2 En animales**

La prevención en los perros se realiza con ivermectina. Se recomienda la utilización de repelentes para insectos en los perros y en los humanos, así como eliminar aguas estancadas que contribuyen a la proliferación de mosquitos (Sánchez et al., 2011).

### **4.3 Reportes en félidos y cánidos silvestres**

Entre octubre de 1976 y febrero de 1977, cadáveres, corazones y pulmones de 202 zorros silvestres y coyotes en Indiana fueron recolectados para determinar la prevalencia de infección de *D. immitis*. 3 de 113 (2.7%) zorros rojos (*Vulpes fulva*), 3 de 81 (3.7%) zorros grises (*Urocyon cinereoargenteus*), y 1 de 8 (12.5%) coyotes (*Canis latrans*) se encontraban infectados con *D. immitis*. Un promedio de 5 gusanos fueron recuperados de zorros y 11 gusanos fueron recuperados de coyotes. Los gusanos de los coyotes eran de un largo normal y todos los gusanos hembras contenían embriones en desarrollo y microfilarias. Los gusanos de los zorros eran pequeños y ninguna de las hembras tenía embriones en desarrollo (Filoni y Edberg, 1977).

Se determinó la presencia de *D. immitis* en zorros grises (*U. cinereoargenteus*) por medio de un examen macroscópico, muestras de sangre y sedimentos de tejidos filtrados en un muestreo de 149 zorros capturados de Alabama y Georgia durante la temporada de caza entre 1977 y 1978. No se

encontraron microfilarias en muestras de sangre de 24 de estos zorros grises. 3 de 82 zorros machos (3,7%) y 1 de 67 hembras (1,67%) estaban infectados con el Gusano del Corazón. La tasa de infección por *D. immitis* fue de 1 de 19 (5,3%) y de 3 de 130 (2,3%), en zorros grises juveniles y adultos, respectivamente. Las infecciones de un solo sexo de *D. immitis* en 4 de cada 6 zorros, con una carga máxima de ocho nematodos. En este estudio la prevalencia de la infección fue muy baja para evaluar estadísticamente la significancia de la distribución geográfica, sexo o edad (Simmos et al., 1980).

Una hembra de tigre de Bengala de 6 años de edad criada en el Parque Zoológico de Knoxville, fue encontrada muerta a medio día en su recinto exterior. Se había mostrado normal en la mañana y no tenía antecedentes de enfermedad. En la necropsia se encontraron 15 nematodos en el ventrículo derecho en el área de la válvula pulmonar y cinco en la arteria pulmonar caudal izquierda. Estos nematodos no parecían estar obstruyendo ningún vaso. Los parásitos (4 machos, 16 hembras) fueron identificadas como *Dirofilaria* probablemente *D. immitis* (Kennedy y Patton, 1981).

Entre diciembre 1986 a enero de 1987 y de diciembre 1987 a febrero de 1988 se recolectaron los cadáveres de cánidos silvestres durante dos temporadas de caza. Con la cooperación del Departamento de Conservación de Missouri, los cadáveres fueron obtenidos de cazadores, tramperos y compradores en 31 condados o grupos de condados que representan cada una de las seis áreas zoológicas de Missouri, EE.UU. Durante la temporada de 1986 a 1987, se obtuvieron 114 cadáveres (66 coyotes, 26 zorros rojos y 22 zorros grises) y durante la temporada de 1987 a 1988, se obtuvieron 334 cadáveres de cánidos silvestres (227 coyotes, 59 zorros rojos y 48 zorros grises) con un total de 448 cadáveres (293 coyotes, 85 zorros rojos y 70 zorros grises). 9 de 293 (7%) coyotes, 5 de 85 (6%) zorros rojos y 0 de 70 zorros grises estaban infectados con parásitos adultos de *D. immitis* (Wixsom et al., 1991).

En 2009 se reportó que una oncilla (*Leopardus tigrinus*) de origen desconocido fue atendida por un veterinario clínico en el pueblo de Ubatuba, São Paulo, Brasil. El examen clínico reveló postración, hipotermia (34-35°C), disnea, hemoptisis y anisocoria. El animal murió a las 24 horas, el cambio más significativo encontrado en el estudio radiológico fue el agrandamiento cardíaco compatible con enfermedad cardíaca congestiva. El ventrículo derecho se encontraba agrandado y el grosor de sus paredes se había reducido respecto a las otras dimensiones de los otros compartimientos del corazón, indicativo a hipertrofia excéntrica. Se encontraron parásitos filarioideos en corazón y se identificaron por microscopía óptica como filarias adultas de *D. immitis*. Dos hembras y un macho en el ventrículo derecho y una hembra en el ventrículo izquierdo. En la evaluación histopatológica, en los pulmones se muestra proliferación fibromuscular arteriolar, fibrosis interalveolar difusa, inflamación eosinofílica perivascular, hemosiderosis, y la presencia de microfilarias intravasculares en las arterias pequeñas (Filoni et al., 2009).

En 2013 un León Africano (*Panthera leo*) macho de 20 años, que nació y creció en el “Aitana Safari Park” en Alicante, España, murió posterior a un prolongado período de depresión, pérdida de peso y pobre condición física. Sin signos clínicos de dirofilariasis como lo son la diarrea y la tos. Al realizar la necropsia se observó la carcasa deshidratada y delgada. Al revisar los pulmones se observó la presencia de tres nódulos redondos, con medidas aproximadas de 50 x 40 mm, con coloración grisácea, particularmente en los lóbulos diafragmáticos. Se realizaron cortes histológicos, pero no se observó ninguna microfilaria, en el ventrículo derecho del corazón se encontraron dos hembras adultas y un macho. Se tomó una muestra de sangre para realizar el método de Knott y no se observaron microfilarias (Ruiz et al., 2006).

En 2013 se realizó un estudio en Pumas de montaña (*Puma concolor*) en California, en la cual se realizó un perfil serológico para patógenos felinos, usando 490 muestras recolectadas desde 1990 a 2008. Los patógenos detectados por

estudios serológico incluyeron: Virus de Panleucopenia felina (39.0%), calicivirus felino (33.0%), coronavirus felino (FCoV, 15.1%), herpesvirus felino (13.0%), Gusano del Corazón (12.4%), Virus de Leucemia felina (5.4%), y virus del distemper canino (3%) (Foley et al., 2013).

## **V. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **5.1 Materiales**

#### **5.1.1 Recursos humanos**

Estudiante Tesista

2 Médicos Veterinarios asesores

Médico Veterinario del Parque

Asistente para la toma de muestras

Jauleros de cada área

Técnico de Laboratorio

#### **5.1.2 Recursos materiales**

Cerbatana de 1.8m marca Dan-Inject

Dardos de 3ml y 5ml comerciales Dan-Inject

Red de Mano

Kennel

Tubos de ensayo de 10ml

Jeringas de 1 ml

Jeringas de 3ml

Agujas 21G x 1 ½”

Agujas 22G x 1 ½”

Marcador Permanente Negro

Centrífuga

Tubos de Centrífuga

Pipeta de 1ml

Portaobjetos

Microscopio óptico

### 5.1.3 Recursos biológicos

**Cuadro No. 1 Cánidos silvestres presentes en la colección**

	<b>Nombre Común</b>	<b>Nombre Científico</b>	<b>Total</b>
1	Zorra Gris	<i>Urocyon cinereoargenteus</i>	7
2	Coyote	<i>Canis latrans</i>	3
		<b>Total</b>	<b>10</b>

**Cuadro No. 2 Félidos silvestres presentes en la colección**

	<b>Nombre Común</b>	<b>Nombre Científico</b>	<b>Subtotal</b>
1	León	<i>Panthera leo</i>	7
2	Jaguar	<i>Panthera onca</i>	7
3	Puma	<i>Puma concolor</i>	14
4	Ocelote	<i>Leopardus pardalis</i>	4
5	Jaguarundi	<i>Puma yagouarundi</i>	3
6	Tigrillos	<i>Leopardus wiedii</i>	8
		<b>Total</b>	<b>43</b>

### 5.1.4 Recursos farmacológicos

Xilacina al 10%

Ketamina al 10%

Yohimbina 0.2%

### **5.1.5 Recursos químicos**

Alcohol Etilico al 75%

Formalina al 2%

Azul de Metileno

### **5.1.5 Centros de referencia**

Biblioteca de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Biblioteca del Departamento de Parasitología de la Escuela de Veterinaria

Internet

### **5.1.6 Área de estudio**

El Club Auto Safari Chapín se encuentra ubicado en el km 87.5 de la carretera a Taxisco, en el municipio de Guanagazapa, Escuintla. Según Holdrige se encuentra en la zona de vida “Bosque muy húmedo subtropical cálido”. (Laboratorio de Información Geográfica, 2002). Sus coordenadas son las siguientes: Latitud Norte 14° 5' 52.369” y Longitud Oeste 90° 37' 34.819”.

## **5.2 Metodología:**

### **5.2.1 Tamaño de la muestra**

De la población total se utilizaron para el estudio las muestras obtenidas de 10 cánidos y 9 félicos.

### **5.2.2 Programación del muestreo**

Se procedió a tomar las muestras de sangre, ajustándose a la programación del manejo médico de los animales, lo cual incluyó: programa de trabajo dental (endodoncia y extracción de piezas), programa de desparasitación, casos clínicos y emergencias. Esta programación fue dispuesta por el Médico Veterinario a cargo de toda la colección.

### **5.2.3 Contención química de los animales**

#### **5.2.3.1 Cánidos y félicos medianos y grandes**

En coyotes, leones, jaguares, pumas y ocelotes se utilizó contención química mediante el uso de la teleinyección. El equipo utilizado consistió en una cerbatana de 1,8 metros y dardos comerciales de 1.5ml y 3ml. Los fármacos utilizados fueron xilacina 10%; 2mg/kg y Ketamina 10%; 2mg/kg administrados intramuscularmente. Al concluir con los procedimientos contemplados se revirtió el efecto de la xilacina mediante la administración de yohimbina 0.2% a dosis de 0.125mg/kg vía intravenosa lenta. “El Médico Veterinario González especificó que el mencionado protocolo es el utilizado para la anestesia por su persona dentro del parque” (González, G. comunicación personal, 4 de marzo de 2011).

### **5.2.3.2 Cánidos y félidos pequeños**

En zorras grises y tigrillos fueron capturados con red de mano y se administró la anestesia mediante inyección intramuscular directa con jeringas de 1ml y aguja 21G x 1 ½". Los fármacos utilizados fueron xilacina 10% 2mg/kg y ketamina 10% 2mg/kg. Al concluir con los procedimientos contemplados se revirtió el efecto de la xilacina mediante la administración de yohimbina 0.2% a dosis de 0.125mg/kg vía intravenosa lenta. "El Médico Veterinario González especificó que el mencionado protocolo es el utilizado para la anestesia por su persona dentro del parque" (González, G. comunicación personal, 4 de marzo de 2011)

### **5.2.4 Toma de muestras**

Luego que la contención química se realizó con éxito y era seguro entrar en contacto con el espécimen, se tomó entre 1ml y 2ml de sangre con jeringa de 3 ml y Aguja de 22G x 1 ½" de la vena cefálica, safena o femoral. Se colocó 1 ml de la muestra tomada en un tubo de ensayo con 9 ml de Formalina al 2% previamente identificado y se homogeneizó con movimientos suaves. Los tubos fueron almacenados en un lugar fresco hasta llevarlos al laboratorio de Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria (FMVZ) y Zootecnia de la Universidad de San Carlos (USAC) para realizar la prueba de Knott (Figuroa, 2007).

## VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se determinó la presencia de *D. immitis* en los grupos de cánidos y félidos, mediante la prueba de Knott. Fueron muestreados tres coyotes, siete zorras grises, tres pumas, un león, un tigrillo, dos jaguares y dos ocelotes, para un total de 19 animales de una población susceptible de 53 especímenes (35.84%). Del total de los animales muestreados, 6 fueron positivos a *D. immitis* (31.57%) y 13 negativos (68.43%).

Del grupo de cánidos estudiados, resultaron positivos a *D. immitis* cuatro de diez animales (40%). De las siete zorras grises muestreadas, una resultó positiva (14.29%), mientras que todos los coyotes (100%) fueron positivos a la prueba. (Ver cuadro No. 3).

**Cuadro No. 3. Resultados de la prueba de Knott, obtenidos de 10 cánidos silvestres del Club Auto Safari Chapín.**

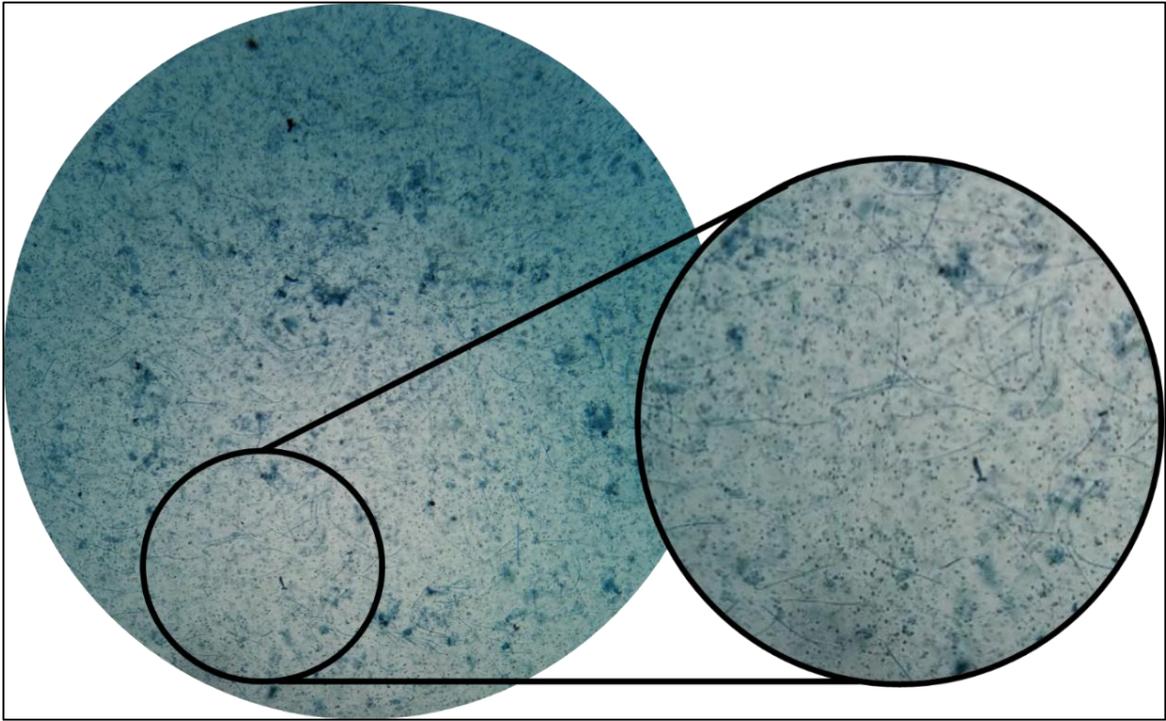
ESPECIE	POSITIVOS	NEGATIVOS	TOTAL
Coyotes ( <i>C. latrans</i> )	3	0	3
Zorras Grises ( <i>U. cinereoargenteus</i> )	1	6	7
<b>Total</b>	<b>4 (40%)</b>	<b>6 (60%)</b>	<b>10</b>

Fuente: Elaboración Propia

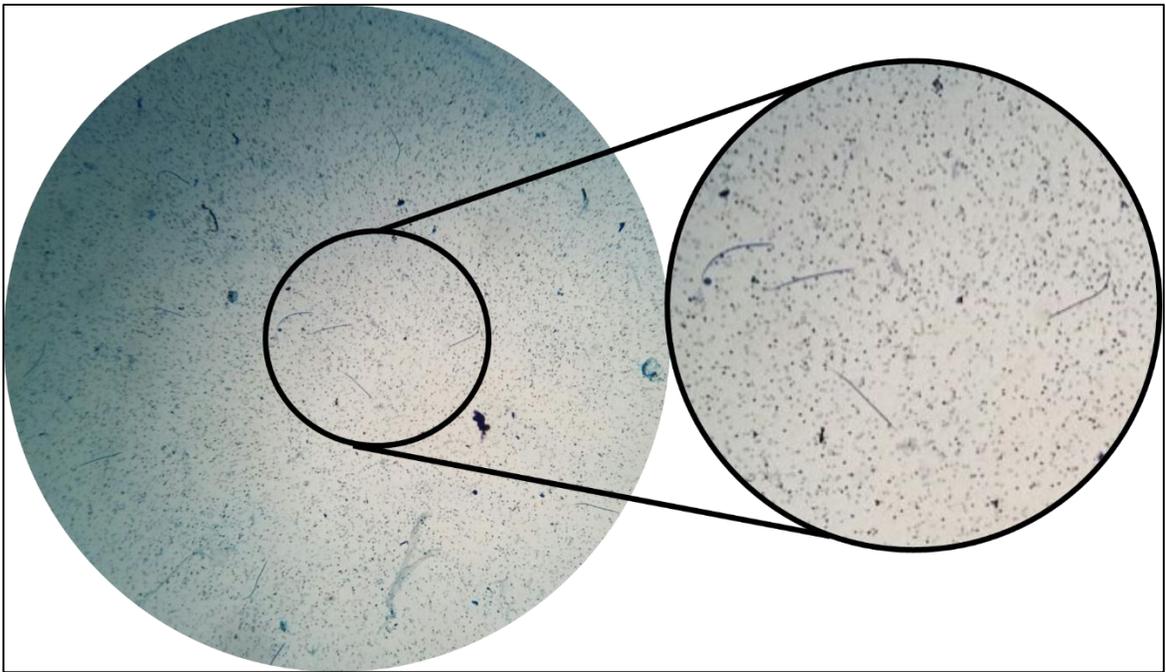
En el diagnóstico positivo de la zorra gris solo se observó una microfilaria por campo. En un estudio de *D. immitis* en esta especie, se determinó que las filarias hembras encontradas en el corazón no alcanzan su madurez sexual (Kazacos, 1977), por lo que se sugiere que las microfilarias observadas en las muestras de esta especie fueron inoculadas por mosquitos en su estadio L<sub>5</sub>. También existe la posibilidad de que sean provenientes de hembras sexualmente maduras alojadas

en el corazón. Por lo tanto aun cuando seis de siete especímenes resultaron negativos a la prueba de Knott (85.71%), no se descarta la posibilidad de una infección de *Dirofilarias*, en estos animales.

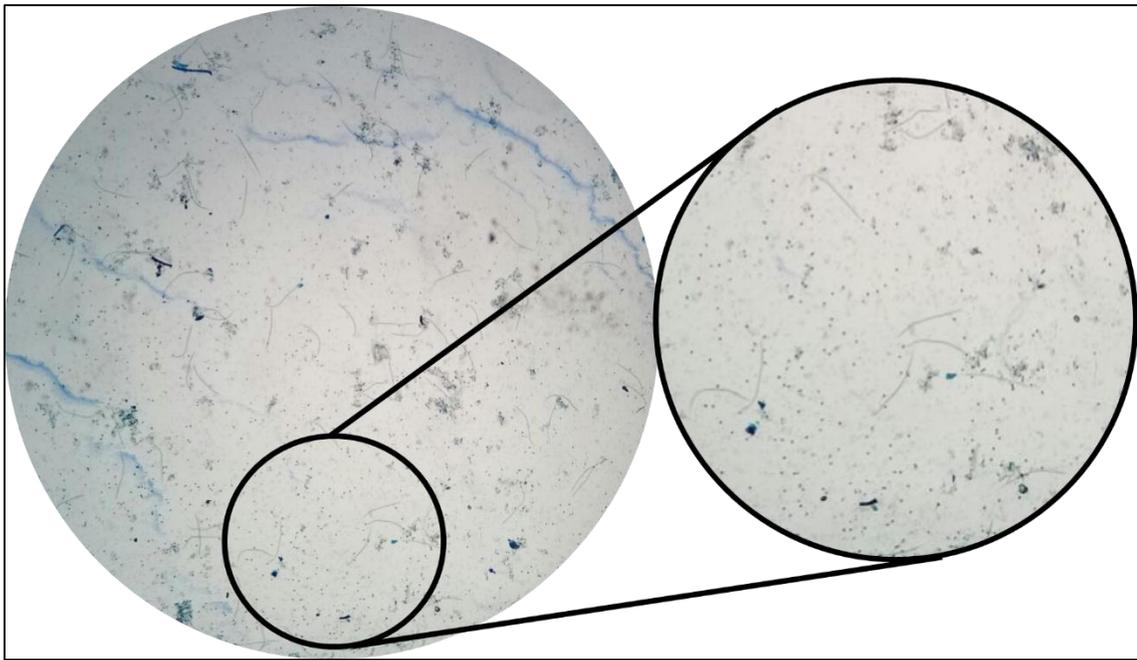
La especie más afectada en el grupo de cánidos fue *C. latrans* con el 100% de los especímenes positivos, esto sugiere que la especie es más susceptible que la zorra gris. Cabe mencionar que al momento de examinar las muestras al microscopio se observó una gran cantidad de microfilarias por campo. Alonso et al. (2007) reportaron que una poca cantidad de microfilarias observadas en la prueba de Knott no determinan una alta carga parasitaria. Sin embargo en este caso una alta carga de microfilarias sugeriría una alta carga de parásitos adultos, incluyendo por supuesto muchas hembras sexualmente maduras (Ver figuras 1, 2 y 3). Debido a que las microfilarias (L<sub>1</sub>) pueden vivir hasta dos años en el torrente sanguíneo esperando a que un mosquito las ingiera, su permanencia en circulación tiene un efecto acumulativo. Los perros son muy susceptibles a la infección por *Dirofilaria* y la mayoría de larvas infectantes (L<sub>3</sub>) (36% - 65%) se transforman en adultos (Cordero, 1999). El coyote es un reservorio importante para el parásito en el continente americano. Por consiguiente, la localidad estudiada es un foco de *D. immitis* debido a que los coyotes (reservorios) y perros ambulantes (huéspedes definitivos), mantienen el ciclo biológico del parásito. La cercanía filogenética entre el perro y el coyote, puede ser una de las causas por las cuales el perro doméstico se vea más afectado que otras especies (Vilà, 1999).



**Figura No. 1. Microfilarias de *D. immitis* en muestra de sangre de un macho de *C. latrans*.**



**Figura No. 2. Microfilarias de *D. immitis* en muestra de sangre de hembra No. 1 de *C. latrans*.**



**Figura No. 3. Microfilarias de *D. immitis* en muestra de sangre de hembra No. 2 de *C. latrans*.**

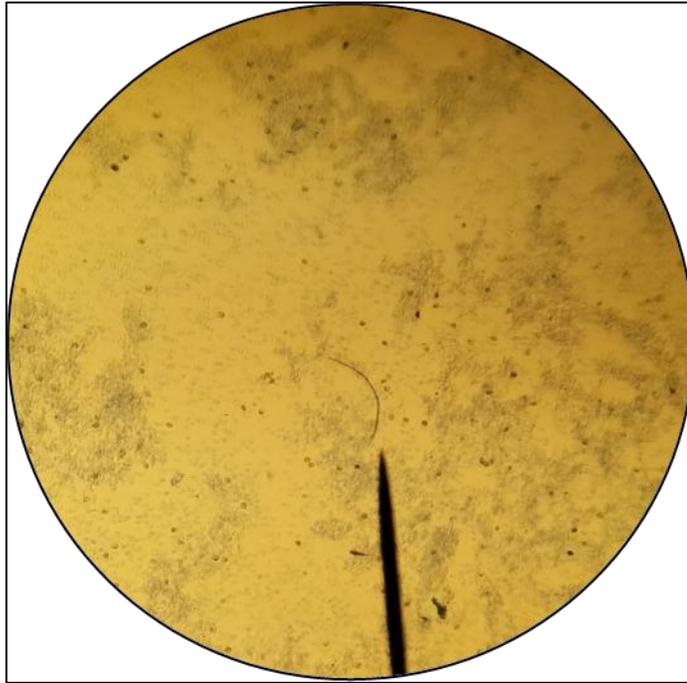
Con respecto a los resultados obtenidos en félidos, se determinó la presencia de *D. immitis* en una hembra de *P. leo* y en un macho de *L. wiedii*, equivalentes a dos de las seis especies estudiadas (33.33%). De los nueve individuos muestreados dos resultaron positivos (22.22%), una hembra de león africano y un macho de margay. (Ver cuadro No. 4). Las microfilarias detectadas pueden ser provenientes de hembras sexualmente maduras o bien inoculadas por mosquitos. La enfermedad provocada por el parásito ha sido diagnosticada en otros países como causa de muerte en un león africano en España (Ruiz et al., 2006) y en una oncilla en Brasil (Filoni et al., 2009). Cabe mencionar que es el primer reporte de la presencia de este parásito en félidos silvestres en Guatemala.

**Cuadro No. 4. Resultados de la Prueba de Knott, obtenidos de 9 félidos silvestres del Club Auto Safari Chapín.**

<i>ESPECIE</i>	<i>POSITIVOS</i>	<i>NEGATIVOS</i>	<i>TOTAL</i>
León ( <i>P. leo</i> )	1	0	1
Jaguar ( <i>P. onca</i> )	0	2	2
Puma ( <i>P. concolor</i> )	0	3	3
Ocelote ( <i>L. pardalis</i> )	0	2	2
Margay ( <i>L. wiedii</i> )	1	0	1
<b>Total</b>	<b>2 (22.22%)</b>	<b>7 (77.78%)</b>	<b>9</b>

Fuente: Elaboración Propia

La hembra de león que fue positiva, murió durante el transcurso del estudio, sin signos clínicos evidentes de dirofilariasis. En la necropsia no se encontraron filarias en el corazón, lo que respalda la teoría de que las microfilarias observadas en la prueba de Knott fueron inoculadas por mosquitos (Ver figura No. 4). Se observaron nódulos amarillentos en los pulmones, los cuales son compatibles con lesiones provocadas por el parásito en su estado juvenil (Ruiz et al., 2006). Sin embargo, también deben considerarse otras posibles causas. Las infecciones en gatos domésticos suelen ser graves, inespecíficas y con mayor mortalidad (Cordero et al., 1999). No fueron enviados tejidos a patología para el diagnóstico diferencial de *D. immitis*.



**Figura No. 4. Microfilaria de *D. immitis* en muestra de sangre de una hembra de *P. leo*.**

Los tres pumas muestreados fueron negativos a la prueba de Knott. En gatos domésticos, *D. immitis* además de afectar el corazón y pulmones, provoca infecciones aberrantes en el SNC, ojos y riñones (Ruíz et al., 2006). En el historial médico de los pumas se han mencionado signos nerviosos y problemas de ceguera. Asumiendo que en félidos silvestres los procesos infecciosos llevan el mismo curso que en los gatos es necesario considerar las infecciones aberrantes por *D. immitis* en estos casos.

Se han realizado estudios en donde algunas especies de félidos silvestres incluidas en los géneros *Leopardus* (Filoni et al., 2009), *Panthera* (Kennedy y Patton, 1981; Ruiz et al., 2006; Furtado y Filoni, 2008) y *Puma* (Foley et al., 2013) se encontraban positivas a *D. immitis*. Sin embargo en este estudio no se determinó la presencia del parásito en los especímenes muestreados de *L. pardalis*, *P. onca* y *P. concolor*.

El estudio establece un riesgo potencial en la diseminación del parásito del corazón en el área de estudio. En primer lugar, la transmisión de una especie a otra por medio de los mosquitos es posible debido a la poca especificidad de presas y a su capacidad de volar distancias entre 50 m a 50 km dependiendo de la especie (Verdonschota y Besse-Lototskaya, 2014). En segundo lugar, la presencia de coyotes libres en el área cuyo ámbito de hogar es de hasta 6.69 km<sup>2</sup> (Marín et al., 2015), lo cual los hace un reservorio importante. La presencia de perros domésticos y las condiciones climáticas adecuadas también favorecen el desarrollo de la dirofilariasis. Por lo tanto esta enfermedad puede convertirse en un serio problema de salud pública al diseminarse hacia poblaciones humanas.

Toda persona expuesta a los mosquitos en esta zona corre el riesgo de contraer *D. immitis*. Aunque afortunadamente este parásito no causa daños graves en el ser humano, las lesiones en moneda causadas por el parásito en pulmones pueden confundirse con algunas enfermedades pulmonares (Sánchez et al., 2011). La enfermedad ha sido mencionada como “el gran imitador de tumor pulmonar metastásico primario” (Ro et al, 1989). Un diagnóstico incorrecto de este parásito conlleva a procedimientos invasivos innecesarios y perjudiciales.

Se recomienda realizar otros estudios de la enfermedad tanto en ésta como en otras colecciones de fauna silvestre. Generar nueva información y profundizar más en este tema, permitirá entender mejor el comportamiento de esta enfermedad y desarrollar programas de control efectivos. Las estrategias de control deben estar enfocadas a reducir los riesgos de diseminación hacia otras poblaciones susceptibles.

## VII. CONCLUSIONES

- Existe la presencia de microfilarias circulantes de *D. immitis* en los cánidos del Club Auto Safari Chapín.
- Existe la presencia de microfilarias circulantes de *D. immitis* en los félidos del Club Auto Safari Chapín.

## VIII. RECOMENDACIONES

- Realizar pruebas complementarias más sensibles y específicas (PCR), en cánidos y félidos, para determinar la prevalencia de la enfermedad en cada especie en esta colección.
- Realizar tratamientos preventivos mensuales con macrólidos a todas las especies susceptibles en las áreas donde esta enfermedad es endémica.
- Implementar el uso de repelentes de forma rutinaria para prevenir esta y otras enfermedades transmitidas por mosquitos; principalmente las personas que laboran en la colección sujeta al estudio y en general, las que viven en áreas endémicas.
- Llevar a cabo un estudio del comportamiento de esta enfermedad en animales susceptibles de vida libre, en Guatemala.
- Considerar que el manejo clínico de los animales silvestres en cautiverio representa un estrés, por lo que cada vez que se anestesia algún espécimen se deberían realizar exámenes de laboratorio completos, para llevar un registro y determinar su estado de salud.
- Tomar en cuenta las infecciones de *D. immitis* como diagnóstico diferencial en enfermedades pulmonares en humanos.

## IX. RESUMEN

El nematodo *Dirofilaria immitis* provoca la Dirofilariasis conocida como “enfermedad del gusano del corazón”. Es una enfermedad parasitaria zoonótica de carácter mundial, que se disemina principalmente en los países tropicales y subtropicales, a través de mosquitos que funcionan como vectores. Afecta principalmente a perros y gatos domésticos, sin embargo, existen reportes de carnívoros silvestres con esta enfermedad.

Este estudio se llevó a cabo en la colección privada “Club Auto Safari Chapín” ubicado en Guanagazapa, Escuintla. La colección cuenta con diversas especies susceptibles, de las cuales fueron muestreadas las siguientes: zorras grises (*Urocyon cinereoargenteus*), coyotes (*Canis latrans*), leones (*Panthera leo*), jaguares (*Panthera onca*), pumas (*Puma concolor*), ocelotes (*Leopardus pardalis*), y tigrillos (*Leopardus wiedii*). En una localidad cercana a la colección privada se reportó dirofilariasis canina. El objetivo del presente estudio fue determinar la presencia de microfilarias de *D. immitis* circulantes en sangre de cánidos y félidos silvestres.

Se tomaron muestras de sangre y para el diagnóstico las muestras fueron procesadas en el laboratorio de Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de San Carlos, mediante la Prueba de Knott. Del total de los animales muestreados, 6 fueron positivos (31.57%) y 13 negativos (68.43%), determinándose la presencia del parásito en las dos especies de cánidos y en dos de las especies de félidos, siendo *C. latrans* la especie con el 100% de los individuos positivos. En este lugar las condiciones climáticas, la presencia de perros domésticos, la abundancia de mosquitos favorecen la presencia, reproducción y distribución del parásito, lo cual es congruente con el alto porcentaje (32%) de los animales positivos.

## SUMMARY

The nematode *Dirofilaria immitis* causes Dirofilariasis known as "heartworm disease". It is a parasitic disease of global distribution, mainly in tropical and subtropical countries, through mosquitoes who acts as vectors. It mainly affects domestic dogs and cats, but there are reports of wild mammals with this disease.

This study was realized in the private collection "Club Auto Safari Chapín" located in Guanagazapa, Escuintla. The collection has several susceptible species, of which the following were sampled: gray foxes (*Urocyon cinereoargenteus*), Coyotes (*Canis latrans*), lions (*Panthera leo*), jaguars (*Panthera onca*), pumas (*Puma concolor*), ocelots (*Leopardus pardalis*), and tigers (*Leopardus wiedii*). Heartworm disease has been diagnosed in domestic dogs in a nearby area that made important the study in wild animals of the area.

Blood samples were taken and for diagnosis the samples were processed in the FMVZ-USAC Parasitology laboratory, using the Knott Test. From the total of the sampled animals, 6 were positive (31.57%) and 13 negative (68.43%), the presence of the parasite was determined in the two species of canids and in two of the species of felids. The most affected species were coyotes (*C. latrans*) where 100% of the specimens were positive. In this place the climatic conditions, the presence of domestic dogs and the abundance of mosquitoes favor the presence, reproduction and distribution of the parasite.

## X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Alonso, R. et al. (2007). Manual Merck de Veterinaria. Sexta Edición. Editorial Océano.
2. Acuña, P. (2002). Determinación de la prevalencia de *Dirofilaria immitis* en los distritos de San Martín de Porres, Lima y Rímac. (Doctoral dissertation) Tesis de Médico Veterinario. Facultad Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima.
3. Barahona Mijangos, G. (2013). Determinación de la presencia de anticuerpos circulantes de *E. canis*, *Anaplasma phagocytophilum*, *Borrelia burgdorferi* y antígenos circulantes de *Dirofilaria immitis*, a través de la prueba rápida de Elisa, en perros, del municipio de Siquinalá, Escuintla. Tesis (Licenciatura), Universidad de San Carlos, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Guatemala.
4. Birchard, S y Sherding, R. (2002). Manual clínico de procedimientos en pequeñas especies. Editorial McGraw Hill. Madrid, España.
5. Cordero del Campilo, M.; Rojo Vásquez, F.A; Martínez Fernández, A.R.; Sánchez Acedo, C.; Hernández Rodríguez, S.; Navarrete López-Cozar, J.; Diez Baños, P.; Quiroz Romero, H. y Carvalho Varela, M. (1999). Parasitología Veterinaria. Editorial McGraw Hill, España.
6. Figueroa Hernández, L.E.; Rodríguez Zea, M.E. (2007). Manual de técnicas diagnósticas en parasitología veterinaria. Departamento de Parasitología. Universidad de San Carlos, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Guatemala.

7. Filoni, C., Pena, H. F. D. J., Gennari, S. M., Cristo, D. S., Torres, L. N., & Catão-Dias, J. L. (2009). Heartworm (*Dirofilaria immitis*) disease in a Brazilian onchilla (*Leopardus tigrinus*). *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 29(6), 474-478.
8. Foley, J. E., Swift, P., Fleer, K. A., Torres, S., Girard, Y. A., & Johnson, C. K. (2013). Risk factors for exposure to feline pathogens in California mountain lions (*Puma concolor*). *Journal of wildlife diseases*, 49(2), 279-293.
9. Fox, R.; Sisson, D. y Moïse, N. (1999). *Textbook of Canine and Feline Cardiology. Principles and Clinical Practice*. W. B. Saunders Company. EE.UU.
10. Furtado, M. M., & Filoni, C. (2008). Diseases and their role for jaguar conservation. *Cat News, Special*, (4), 35-40.
11. González, M. (2009). *Dirofilaria immitis* en perros. Universidad Autónoma de Yucatán. México
12. Johnstone, C.; Knight, D.H. y Lok, F.B. (1997). *Parasitology Dirofilaria immitis*. Universidad de Pennsylvania, Estados Unidos.
13. Kazacos, K. R., & Edberg, E. O. (1979). *Dirofilaria immitis* infection in foxes and coyotes in Indiana. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 175(9), 909-910.
14. Kennedy, S., & Patton, S. (1981). Heartworms in a Bengal tiger (*Panthera tigris*). *The Journal of Zoo Animal Medicine*, 12(1), 20-22.

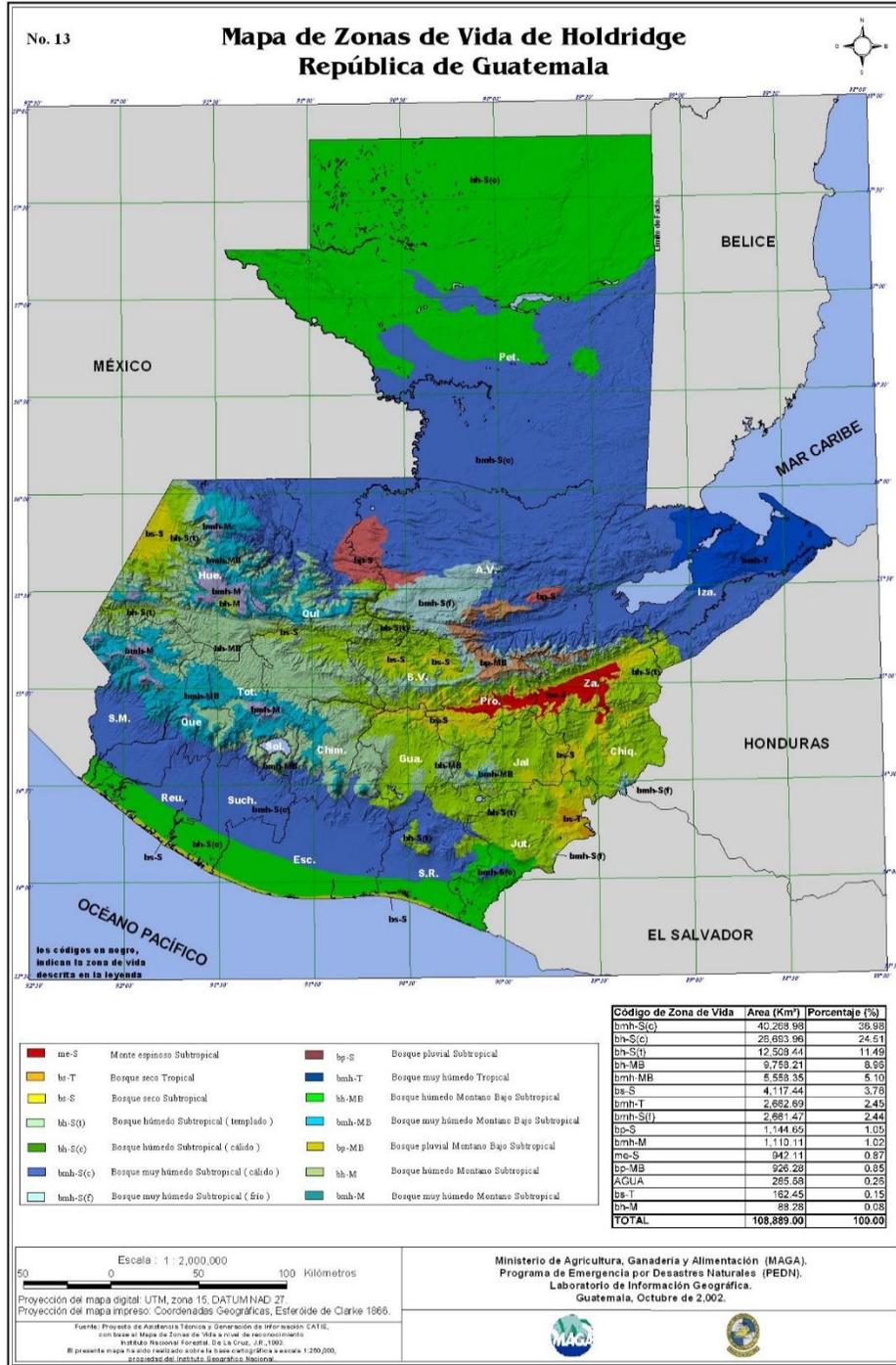
15. Laboratorio de Información Geográfica. (2002). Mapa de zonas de vida Holdridge, República de Guatemala. Guatemala.
16. Matsuda, K., Baek, B. K., & Lim, C. W. (2003). Eurasian otter (*Lutra lutra*), a definitive host for *Dirofilaria immitis*. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 34(2), 200-201.
17. Marín-Sánchez, A. I., Briones-Salas, M., López-Wilchis, R., & Servín, J. (2015). Ámbito hogareno del coyote (*Canis latrans*) en un bosque templado de la sierra Madre de Oaxaca, México. *Revista mexicana de biodiversidad*, 86(2), 440-447.
18. Quiroz, R. (1994). *Parasitología y enfermedades parasitarias de animales domésticos*. Editorial Noriega. Mexico.
19. Reyes Beherens, R.T. (2016) Diagnóstico de Filariasis canina, mediante la coloración de Romanowsky, en aldeas el zunzo y Monterrico del municipio de Taxisco, Santa Rosa. Tesis (Licenciatura), Universidad de San Carlos, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Guatemala.
20. Riache, R., Godoy, R., Godoy, D. y Del Curto, O. (2001). *Dirofilariasis Pulmonar*. Laboratorio Privado de Patología y Citología. Argentina.
21. Ro, J. Y., Tsakalakis, P. J., White, V. A., Luna, M. A., Chang-Tung, E. G., Green, L. y Ayala, A. G. (1989). Pulmonary dirofilariasis: the great imitator of primary or metastatic lung tumor. A clinicopathologic analysis of seven cases and a review of the literature. *Human pathology*, 20(1), 69-76.

22. De Ybanez, M. R., Martínez-Carrasco, C., Martínez, J. J., Ortiz, J. M., Attout, T., & Bain, O. (2006). *Dirofilaria immitis* in an African lion (*Panthera leo*). *Veterinary record*, 158(7), 240.
23. Sánchez Klinge, M. E., Calvo Robayo, P., & Mutis Barreto, C. A. (2011). *Dirofilaria immitis*: a zoonoses present on a global level. *Revista de Medicina Veterinaria*, (22), 57-68.
24. Simmons, J. M., Nicholson, W. S., Hill, E. P., & Briggs, D. B. (1980). Occurrence of (*Dirofilaria Immitis*) in gray fox (*Urocyon Cinereoargenteus*) in Alabama and Georgia 1 2 3. *Journal of Wildlife Diseases*, 16(2), 225-228.
25. Snyder, D. E., Hamir, A. N., Hanlon, C. A., & Rupprecht, C. E. (1989). *Dirofilaria immitis* in a raccoon (*Procyon lotor*). *Journal of wildlife diseases*, 25(1), 130-131.
26. Verdonschot, P. F., & Besse-Lototskaya, A. A. (2014). Flight distance of mosquitoes (Culicidae): a metadata analysis to support the management of barrier zones around rewetted and newly constructed wetlands. *Limnologica-Ecology and Management of Inland Waters*, 45, 69-79.
27. Vieira, F. M., Luque, J. L., & Muniz-Pereira, L. C. (2008). Checklist of helminth parasites in wild carnivore mammals from Brazil. *Zootaxa*, 1721, 1-23.
28. Vilà, C., Maldonado, J. E., & Wayne, R. K. (1999). Phylogenetic relationships, evolution, and genetic diversity of the domestic dog. *Journal of Heredity*, 90(1), 71-77.

29. Wixsom, M. J., Green, S. P., Corwin, R. M., & Fritzell, E. K. (1991). *Dirofilaria immitis* in coyotes and foxes in Missouri. *Journal of Wildlife Diseases*, 27(1), 166-169.

# **XI. ANEXOS**

# Anexo No. 1. Mapa de las zonas de vida Holdridge de Guatemala



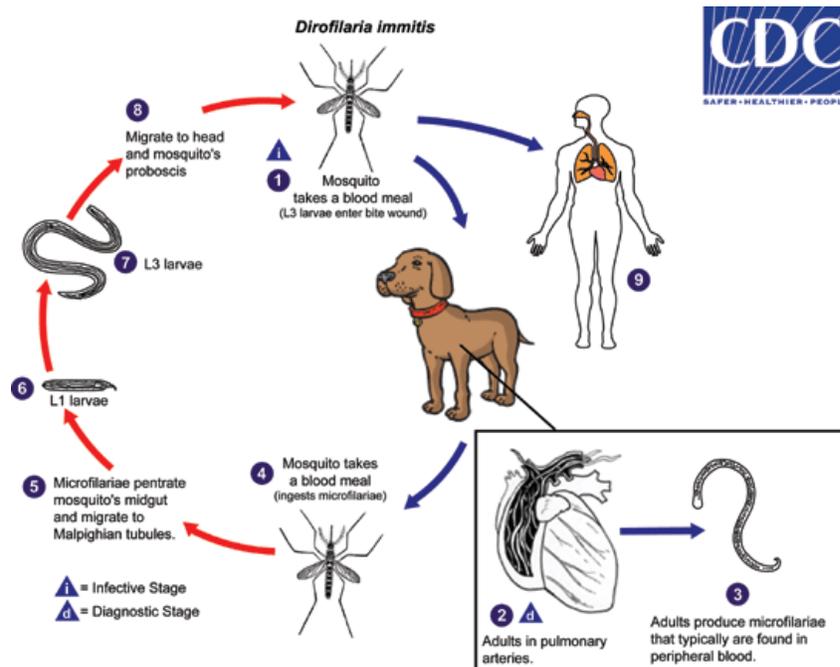
Fuente: Laboratorio de Información Geográfica, 2002.

## Anexo No. 2. Coordenadas del Club Auto Safari Chapín



Fuente: Google Earth, 2016

## Anexo No. 3 Ciclo Evolutivo de *Dirofilaria immitis*



Fuente: Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC), 2012

## Anexo No. 4 Cladograma del perro



**Figure 1.** (a) Relationship of carnivores based on DNA hybridization data (Wayne et al. 1989). Family and superfamily groupings are indicated. (b) Phylogenetic tree of canids based on 2,001 bp from the mitochondrial DNA (cytochrome *b*, cytochrome *c* oxidase I, and cytochrome *c* oxidase II genes) (Wayne et al. 1997). Neighbor-joining tree based on a Kimura two-parameter model of sequence divergence with a transition/transversion ratio of 6. Black circles indicate species of the genus *Canis*. The position of the dog in this tree was determined using 736 bp of cytochrome *b* sequence (Wayne 1993). (c) Neighbor-joining tree of wolf (W) and dog (D) haplotypes based on 261 bp of mitochondrial DNA control region I sequences (Vilá et al. 1997). Dog haplotypes are grouped in four clades, indicated I-IV.

Fuente: Vela et al, 1999