

# **ENFERMEDAD PARASITARIA SANGUÍNEA, SU TRANSMISIÓN POTENCIAL E INFECCIÓN EN PERROS DOMÉSTICOS EN ÁVILA**

## **Parasitic blood disease, its potential transmission and infection in domestic dogs in Ávila**

*MORCHÓN GARCÍA, Rodrigo*

*Grupo GIR de dirofilariosis animal y humana,  
Área de Parasitología, Universidad de Salamanca*

*CARRETÓN GÓMEZ, Elena*

*Medicina Interna, Facultad de Medicina Veterinaria,  
Universidad de Las Palmas de Gran Canaria*

*BUENO MARÍ, Rubén*

*Departamento de Investigación y Desarrollo (I+D),  
Laboratorios Lokímica, Valencia*

*SÁNCHEZ GÓMEZ, Darío*

*Departamento de Matemáticas, Instituto Universitario  
de Física Fundamental y Matemáticas,  
Universidad de Salamanca*

### **RESUMEN**

La dirofilariosis cardiopulmonar animal es una enfermedad zoonósica sanguínea causada por el nematodo sanguíneo *Dirofilaria immitis*. Este parásito afecta a perros y gatos de todo el mundo, y puede llegar a ser mortal. Además, el humano puede infectarse de forma accidental, originando la aparición de uno o varios nódulos pulmonares de carácter benigno. España es considerado un país endémico, aunque las zonas del interior aún no han sido estudiadas en su

totalidad, como es el caso de Ávila. Teniendo en cuenta que las prevalencias en Salamanca y Madrid, provincias próximas a la de Ávila, son endémicas de esta enfermedad, con prevalencias en perros del 18 % y del 3 % respectivamente, el objetivo de este estudio fue analizar la presencia de *Dirofilaria immitis* en perros y llevar a cabo un estudio sobre la probable introducción del mosquito tigre en la ciudad de Ávila. Se analizaron un total de 104 muestras de sangre de perros que vivían en el exterior de casas o viviendas, en las que se tuvo en cuenta, además, el sexo y la edad. Además, se emplearon las fuentes de información y tecnologías disponibles para estudiar la posible introducción del mosquito tigre en la ciudad de Ávila. La prevalencia denunciada fue del 0,96 %. La zona de riesgo de vulnerabilidad establecida para la entrada de *Aedes albopictus* (el mosquito tigre) se localiza principalmente en la zona noreste de la ciudad, en donde se localizó al animal infectado. Son necesarias más investigaciones para llevar a cabo un estudio más exhaustivo de la presencia de *Dirofilaria immitis* y de sus vectores en la provincia de Ávila.

## **PALABRAS CLAVE**

*Dirofilaria immitis*, *Aedes albopictus*, Ávila, SIG.

## **ABSTRACT**

Cardiopulmonary dirofilariasis is a disease caused by the blood nematode *Dirofilaria immitis*, which mainly affects dogs and cats and can cause death. It can accidentally affect humans by causing one or more pulmonary nodules. Spain is considered an endemic country although the inland areas have not yet been fully studied, as is the case of Ávila. Considering that the prevalences in Salamanca and Madrid, provinces close to Ávila, are endemic for this disease, with prevalences in dogs of 18 % and 3 % respectively, the aim of this study was to analyze the presence of *D. immitis* in dogs and to carry out a study on the likely introduction of the tiger mosquito in the city of Ávila. A total of 104 blood samples from dogs living outside houses or dwellings were analyzed, taking into account sex and age. In addition, available sources of information and technologies were used to study the possible introduction of the tiger mosquito into the city of Ávila. The reported prevalence was 0,96 %. The risk zone of vulnerability established for the entry of *Aedes albopictus* (tiger mosquito) is mainly located in the northeastern part of the city, where the infected animal was found. Further studies are needed to carry out a more comprehensive survey of the presence of *D. immitis* and its vectors in the province of Ávila.

## **KEYWORDS**

*Dirofilaria immitis*, *Aedes albopictus*, Ávila, GIS.

## 1. INTRODUCCIÓN

*Dirofilaria immitis* es un nematodo parásito causante de la dirofilariosis cardiopulmonar, una enfermedad cosmopolita que afecta a cánidos y félidos, tanto domésticos como silvestres. Este parásito se incluye dentro del Phylum Nematoda, Clase Secernentea, Orden Spidurida, Suborden Filariina, Superfamilia Filarioidea y Familia Onchocercidae (Morchón, 2008).

Es una enfermedad zoonótica, de tal forma que en el humano puede causar nódulos pulmonares con carácter benigno, que se pueden confundir con carcinomas u otro tipo de lesiones pulmonares. Este hecho hace que su conocimiento sea importante, tanto desde el punto de vista de la sanidad animal como de la salud pública, para así disponer de métodos que permitan un diagnóstico diferencial y se incremente el número de investigaciones sobre esta parasitosis. No obstante, se han realizado importantes avances en el campo del diagnóstico y del tratamiento en perros, fundamentalmente con la incorporación de excelentes medicamentos y el desarrollo de técnicas quirúrgicas microinvasivas, que permiten la extracción de los vermes, cuando su número no aconseja un tratamiento filaricida (Morchón et ál., 2012).

El ciclo biológico de *Dirofilaria immitis* es indirecto, por tanto, se desarrolla en dos hospedadores: uno definitivo, que son hospedadores vertebrados, y otro intermediario que actúa como vector. Los hospedadores definitivos son perros y gatos, tanto domésticos y silvestres, siendo el perro el reservorio principal y del que más datos se conocen. La acción vectorial es ejercida por hospedadores intermediarios, como son los mosquitos culícidos pertenecientes a los géneros *Culex* spp., *Aedes* spp., *Anopheles* spp., *Culiseta* spp. y *Coquillettidia* spp., entre otros. Al menos 70 especies son consideradas vectores potenciales de *D. immitis* aunque, la capacidad vectorial real se ha demostrado en muchas menos (Fig. 1) (Morchón et ál., 2012).



**Fig. 1.** Mosquitos culícidos (*Culex theileri*, *Aedes aegypti*, *Ae. albopictus*) que actúan como vectores de la dirofilariosis cardiopulmonar.

Los vermes adultos se localizan en la arteria pulmonar y en el ventrículo derecho del corazón, siendo esta su localización definitiva (Fig. 2). Las hembras fecundadas ponen microfilarias ( $L_1$ ) que son tomadas de la sangre periférica por los vectores cuando se alimentan sobre individuos infectados. En el vector, las microfilarias llegan al abdomen y migran a los tubos de Malpighi donde mudan dos veces, pasando a  $L_2$  y  $L_3$ , proceso que depende de la temperatura ambiental. Con una media de 22 °C, las dos mudas se producen en 16-20 días. Las  $L_3$  migran hacia la probóscide de los vectores y, cuando el vector vuelve a alimentarse de sangre de un hospedador, le inocula estas larvas en el tejido subcutáneo. Estas llegan al torrente sanguíneo donde mudan a  $L_4$  en los siguientes días, y a adultos inmaduros a los 58-70 días postinfección. Las  $L_4$  llegan a su localización definitiva, donde terminan de madurar sexualmente a los 6 meses postinfección en el perro y a los 7-8 meses en el gato. Finalmente, Las hembras fecundadas vuelven a poner microfilarias en el torrente sanguíneo hacia los 7-9 meses postinfección. Las hembras pueden producir microfilarias durante 10 años y estas sobreviven alrededor de 2 años en el perro (Simón et ál., 2012).



**Fig. 2.** Gusanos adultos machos y hembras de *Dirofilaria immitis* extraídos de la cavidad derecha del corazón de un perro infectado.

El hombre puede resultar infectado por *D. immitis* tras la picadura de un vector y la inoculación de L<sub>3</sub> pero, al no ser un hospedador adecuado (accidental), las larvas en estado de L<sub>3</sub>/L<sub>4</sub>, o son destruidas por el sistema inmunitario o se embolizan en alguna de las microarterias pulmonares, produciendo un nódulo pulmonar benigno, que puede confundirse en radiología con un carcinoma (Simón et ál., 2012).

*Dirofilaria immitis* alberga bacterias endosimbiontes de la especie *Wolbachia pipientis*. Estas bacterias pertenecen al orden Rickettsiales ( $\alpha$ -2-Proteobacteria) y están presentes en todas las fases de desarrollo, siendo más abundantes según aumenta el tamaño de las larvas de *D. immitis*. Se localizan en la hipodermis y en los órganos reproductores de las hembras, en pequeños grupos o en grupos numerosos, y participan en la muda, en la embriogénesis y en la respuesta inmune e inflamatoria del hospedador definitivo infectado (Carretón et ál., 2020).

Estas bacterias intracelulares de las filarias fueron descubiertas en los años setenta gracias a varios estudios realizados mediante el uso del microscopio electrónico. Los simbiosiontes de las filarias fueron ignorados durante 2 décadas, hasta que Sironi y colaboradores en el año 1995 identificaron la bacteria presente en *D. immitis* como perteneciente al complejo *Wolbachia*, aplicando métodos de biología molecular (Morchón et ál., 2008). En los nematodos, aún no se conoce el papel biológico de *Wolbachia*, pero sí se han aportado datos sobre la importancia de su relación endosimbiótica. *Wolbachia* se presenta en proporciones variables entre gusanos individuales y diferentes etapas de desarrollo. En adultos de *D. immitis*, *Wolbachia* se encuentra predominantemente en todas las células hipodérmicas de los cordones laterales. En las hembras, *Wolbachia* también está presente en los ovarios, los ovocitos y las etapas embrionarias en desarrollo dentro del útero. No se ha evidenciado su presencia en el sistema reproductor masculino, lo que sugiere que la bacteria se transmite por vía materna a través del citoplasma del óvulo y no a través del espermatozoides (Carretón et ál., 2020).

Está ampliamente aceptado que la presencia de *W. pipientis* en los gusanos adultos de *Dirofilaria immitis* y otras filarias es vital para su supervivencia y reproducción, estableciendo una relación de simbiosis. Un proceso simbiótico es aquel en el que se establece una relación íntima y constante entre dos especies diferentes y un organismo endosimbionte aquel que vive dentro del cuerpo o células de otro organismo. Muchos casos de endosimbiosis son obligatorios, es decir, ni el endosimbionte ni el hospedador pueden sobrevivir el uno sin el otro. Estos hechos se demostraron a través de estudios en los que se administraron tetraciclina y derivados en animales y humanos con infecciones filariales. En estos, después del tratamiento, se observaron varios efectos perjudiciales sobre el nematodo, siendo el más notable el bloqueo de

la producción de embriogénesis y microfilarias, y el bloqueo del desarrollo de L<sub>3</sub> a gusanos adultos. También se reveló la existencia de efectos adulticidas, tanto en *Dirofilaria immitis*, como en otras filarias que afectan al ganado (*Onchocerca ochengi*) y en filariasis humanas. Así, los experimentos con medicamentos antibacterianos en filarias condujeron constantemente a efectos perjudiciales sobre el nematodo del hospedador, lo que respalda la hipótesis de que *Wolbachia* es requerida por el propio nematodo. Varios estudios han demostrado que la bacteria también puede regular la respuesta inmune del hospedador, contribuyendo así a la tolerancia inmune que es característica de estas infecciones parasitarias a largo plazo. Así, el hecho de que los parásitos adultos puedan sobrevivir durante años en hospedadores inmunocompetentes probablemente se deba a la capacidad del parásito para evitar o modular la respuesta inmune. En otros estudios se ha administrado oxitetraciclina para eliminar *Wolbachia*, lo que causó que las barreras de neutrófilos de los gusanos se desgranularan, y también atrajo a los eosinófilos, que dañaron a los gusanos tras la desgranulación (Carretón et ál., 2020).

En los hospedadores infectados con nematodos filariales, *Wolbachia* es liberada después de las mudas larvales, el recambio microfilarial y la muerte de gusanos de forma natural o debido a fármacos antiparasitarios. Se ha demostrado que su liberación está asociada con la regulación positiva de citocinas proinflamatorias, el reclutamiento de neutrófilos y un aumento de las inmunoglobulinas específicas. Los estudios llevados a cabo en humanos infectados con *Onchocerca volvulus*, *Brugia malayi* y *Wuchereria bancrofti* han demostrado que las reacciones adversas a la terapia filaricida con ivermectina están asociadas con la presencia de *Wolbachia* y/o a su ADN en el torrente sanguíneo, y que los niveles máximos de esta bacteria correlacionaban con los niveles de citocinas proinflamatorias. En perros y gatos infectados por *D. immitis* se ha observado una interacción entre *Wolbachia* y el sistema inmune humoral. En un estudio se ha demostrado que gatos infectados por *D. immitis* desarrollaron una respuesta inmune IgG contra la proteína de superficie mayoritaria de *Wolbachia* en su forma recombinante (WSPr). Estudios adicionales han confirmado este hecho y que la respuesta de anticuerpos IgG contra WSPr aumenta después de la terapia larvicida. En perros, se ha demostrado que la infección por *D. immitis* también produce una respuesta inmune con anticuerpos circulantes contra WSPr, y que estas proteínas activan neutrófilos polimorfonucleares caninos induciendo actividad quimiocinética y producción de IL-8. Además, los anticuerpos anti-WSPr también están presentes en la orina de los perros infectados, lo que sugiere que los antígenos derivados de bacterias pueden desempeñar un papel en la glomerulonefritis inmuno-mediada. La presencia de la bacteria en los tejidos del animal, una vez que los gusanos de *D. immitis* han muerto de forma natural o debido a un tratamiento adulticida y desaparecen de la arteria pulmonar o del ventrículo derecho del corazón, es suficiente para causar lesiones en los pulmones, riñones,

el hígado y el bazo. También se ha observado una respuesta inflamatoria severa del tejido vascular después de una terapia adulticida intensiva, tal vez debido a esta liberación de *Wolbachia*. Además, esta respuesta inmune se ha observado tras la inoculación de larvas 3 en estudios en modelo murino, lo que indica que el papel de *Wolbachia* puede ser más significativo en la respuesta inflamatoria en la dirofilariosis en las primeras etapas de la infección (Morchón, 2008; Carretón et ál., 2020).

La dirofilariosis cardiopulmonar canina es una enfermedad cosmopolita. Está presente en lugares con climas templados, semitropicales y tropicales de todo el mundo. En los últimos años se ha constatado su expansión desde zonas endémicas a zonas previamente consideradas libres de la enfermedad. Esto se debe al incremento de las temperaturas debido al cambio climático, la formación de nuevas zonas de cultivo, la urbanización de nuevas áreas en las que se crean microclimas adecuados para el mantenimiento de los mosquitos transmisores, la introducción de nuevas especies de mosquitos potencialmente transmisores en zonas donde no existían previamente, y al aumento del libre transporte y comercio de animales reservorios de la enfermedad. Además, el interés de la comunidad científica también ha contribuido al aumento en el número de denuncias en zonas donde previamente no se conocía esta enfermedad (Morchón et ál., 2012).

Se han denunciado prevalencias de la dirofilariosis cardiopulmonar canina entre el 0,24 y el 80 % a lo largo de todo el mundo. Esta enfermedad está presente en América del Norte, Central, y del Sur. Cabe destacar a Estados Unidos al ser uno de los países en donde más se ha estudiado esta enfermedad desde el punto de vista epidemiológico. Las prevalencias más elevadas se han observado en los estados de la costa atlántica y en el valle del río Misisipi. En Méjico, la prevalencia en perros oscila entre el 10 y el 40 % a lo largo de la costa del golfo de Méjico. En los países de América Central y del Sur existen pocos estudios en donde las prevalencias son muy variables, dependiendo de la técnica de diagnóstico empleada. Así, podemos encontrar prevalencia de entre el 0,8 y el 60 %. En Australia, la dirofilariosis animal es endémica en las costas del norte, del oeste y en todo el sur con una prevalencia media del 10 %. En África, *D. immitis* está presente en diferentes regiones como Egipto, Marruecos, Kenia, Mozambique, Angola, Tanzania, Nigeria, República de Sudán, Sierra Leona, etc. En Asia y la región del Pacífico, las prevalencias alcanzan valores muy elevados en las zonas costeras y en las islas (50-70 %) como, por ejemplo, en Corea, Japón, Tailandia, Irán y Malasia, que son países endémicos (Simón et ál., 2012).

En Europa, la dirofilariosis cardiopulmonar es endémica en los países mediterráneos y del sur como Portugal, España, Francia, Italia, Grecia y Turquía, y se ha expandido hacia los países del centro y norte de Europa, como Austria,

Suiza, Alemania, Croacia, Serbia, Eslovenia, Ucrania y el sur de Rusia entre otros (Morchón et ál., 2012). España, aún siendo considerado un país endémico, no han llevado a cabo estudios en el centro de la meseta peninsular, con la excepción de algunas provincias. Las prevalencias más elevadas las encontramos en zonas irrigadas del interior y el suroeste de la península ibérica, las provincias mediterráneas y en las islas Canarias (Morchón et ál., 2012; Simón et ál., 2012; Montoya-Alonso et ál., 2016, 2017; Diosdado et ál., 2018). En la península ibérica, las prevalencias oscilan entre el 5,6 % (valle del río Ebro) y el 36,7 % (Huelva) (Morchón et ál., 2012). El valle del río Tormes, en la provincia de Salamanca, constituye una zona endémica de dirofilariosis en la que Pérez Sánchez et ál. (1989) encontraron parasitados el 33,3 % de los perros muestreados y, en la actualidad la prevalencia ronda el 18 % con escasos perros microfilarémicos (Diosdado et ál., 2018).

La dirofilariosis cardiopulmonar canina es una enfermedad crónica, vascular y pulmonar y que en sus últimas fases afecta a la cavidad derecha del corazón de los perros. Esta enfermedad se puede agudizar al producirse tromboembolismos, por lo que se la puede considerar como una enfermedad grave y potencialmente fatal. Los vermes adultos, las microfilarias, los antígenos circulantes eliminados por los parásitos y las bacterias endosimbiontes del género *Wolbachia* son las causas de la patología de esta enfermedad (ESDA, 2017).

En primer lugar, se produce una inflamación en la pared de las arterias que es la clave de toda la patología debido a los daños mecánicos causados por los movimientos de los vermes, la acción de células inmunitarias y la muerte súbita de algunos parásitos. Como consecuencia, las células endoteliales filtran neutrófilos y plaquetas, cuyos productos activos estimulan la multiplicación de las células del músculo liso, que invaden el lumen vascular en forma de vellosidades (Furlanello et ál., 1998). La gravedad de este proceso está directamente relacionada con la duración de la infección y con el número de vermes presentes. Además de la endarteritis se producen reacciones antígeno-anticuerpo que activan el complemento, alterando la función endotelial y aumentando la permeabilidad vascular, y aumentando la lipoproteína de baja densidad (LDL) en el plasma, lo que estimula la proliferación de las células del músculo liso hacia la íntima. La endarteritis proliferativa causa una reducción del calibre de las arterias pulmonares, y una pérdida de elasticidad de sus paredes, vasoconstricción, fibrosis y el consiguiente endurecimiento de los vasos con el consecuente aumento de la permeabilidad de las paredes vasculares y el incremento de la presión sanguínea como consecuencia de los fenómenos obstructivos, lo que facilitan la salida de líquido al parénquima cercano, causando daños tanto a nivel intersticial como alveolar. Se producen, por tanto, graves lesiones alveolares, fibrosis y reducción del intercambio gaseoso (Morchón et ál., 2008; Carretón et ál., 2020).

El estado de hipertensión pulmonar conduce inicialmente a una dilatación del ventrículo derecho, acompañada de hipertrofia compensatoria, que generalmente tiene escasa eficacia. La persistencia de la hipertensión pulmonar, agravada en ocasiones por el aumento del ritmo cardíaco como consecuencia de la actividad física y de fenómenos tromboembólicos, determina una dilatación irreversible de toda la parte derecha del corazón que causa insuficiencia cardíaca congestiva. El miocardio se ve afectado por edema, fibrosis e isquemia que agravan la situación. También se produce insuficiencia valvular como consecuencia del agrandamiento de las cámaras atrio-ventriculares, o por la presencia de vermes en el interior del corazón. Todos estos procesos determinan la aparición de un estado congestivo que afecta primariamente el hígado y el riñón. A veces se presentan variantes clínicas con desarrollo agudo, como el síndrome de vena cava. Actualmente parece claro que la causa es la localización súbita de una gran masa de vermes adultos en el atrio ventricular derecho y no en la vena cava posterior, como se suponía en el pasado. Cursa con hemólisis intravascular, anemia, hemoglobinuria y shock cardiocirculatorio (Morchón et ál., 2008).

Debido a la muerte de los gusanos adultos de forma natural o por un tratamiento adulticida, se liberan al torrente sanguíneo antígenos circulantes del parásito y las bacterias endosimbiontes *Wolbachia pipientis*, que agudizan los daños vasculares y pulmonares, lo que provoca un fallo cardíaco congestivo y la muerte del animal infectado. Esta agudización de la enfermedad se debe a la aparición de trombos, que se asocia a su vez a la activación plaquetaria, al proceso de coagulación, a la presencia de tejido de los vermes en caso de muerte de estos, y a la disminución del flujo sanguíneo en las zonas donde están localizados los parásitos por la acción obstructiva de los vermes adultos en los vasos de pequeño calibre y por la inducción de reacciones inmunomediadas, pudiendo generar un shock sistémico (Morchón et ál., 2008; Carretón et ál., 2020).

Inicialmente, la infección no presenta sintomatología y esta empieza a mostrarse en cuadros avanzados de la enfermedad. Los síntomas van apareciendo progresiva y generalmente y 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, pérdida de peso y síncope. 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 ál., 2012).

El diagnóstico de la dirofilariosis canina puede realizarse mediante la aplicación de 3 tipos de técnicas distintas, no excluyentes entre sí: 1) los tests

serológicos son los más adecuados para detectar las infecciones caninas por *D. immitis*. Se basan en la detección serológica de antígenos circulantes de hembras adultas que son altamente específicos, no existiendo posibilidad de reacciones cruzadas con otros parásitos (*D. repens*, *A. reconditum*, *A. dracunculoides*). La sensibilidad también es muy elevada, pudiendo verse afectada por la cantidad de parásitos, la edad del parásito, el tamaño del perro o la calidad del test; 2) la detección de microfilarias se basa en la observación directa en sangre o mediante diferentes métodos de concentración, como el test de Knott y el test de la fosfatasa ácida, o la amplificación del ADN mediante la reacción de la polimerasa en cadena (PCR); 3) el examen radiográfico del tórax que proporciona la localización y gravedad de las alteraciones vasculares y del parénquima pulmonar, y la ecocardiografía, que permite valorar las dimensiones de las cámaras cardíacas, si hay presencia de hipertensión pulmonar, y la velocidad, dirección y características del flujo sanguíneo, así como estimar aproximada el número y localización de las filarias. Recientemente se ha empleado la medición de biomarcadores de daño cardiopulmonar que detectan tromboembolismos pulmonares con el uso del dímero-D y el daño cardíaco con la troponina I y la NT-proBNP) (Carretón et ál., 2012; American Heartworm Society, 2018).

Si el diagnóstico resulta negativo es necesario llevar a cabo la profilaxis administrando ivermectina u otros antibióticos macrólidos de forma mensual o en los periodos de calor. Si el diagnóstico es positivo, el tratamiento se debe administrar en función de la sintomatología y los resultados obtenidos en las pruebas diagnósticas. En la actualidad, los perros se clasifican en dos categorías (Carretón et ál., 2017: 1) Bajo riesgo de tromboembolismos, los cuales son asintomáticos, con parámetros bioquímicos normales y con baja carga antigénica, y 2) Alto riesgo de la aparición de trombos, los cuales presentan sintomatología relacionada con la enfermedad, test de antígenos positivos, ecocardiografía positiva e, incluso, microfilarias en la sangre.

Antes de eliminar los vermes adultos, es necesario eliminar a la bacteria *Wolbachia pipientis* ya que se puede provocar un shock séptico debido a la eliminación masiva de proteínas de *D. immitis* y de *Wolbachia pipientis*. El tratamiento con doxiciclina a dosis de 10mg/kg BID durante 4 semanas es el adecuado. Simultáneamente, se debe comenzar el tratamiento para eliminar las larvas que pudieran haber sido inoculadas recientemente en el paciente, ya que el fármaco adulticida (melarsomina diclorhidrato) no elimina a los vermes menores de 4 meses de edad. Para ello, se deben administrar lactonas macrocíclicas a dosis preventivas mensualmente durante 2 o 3 meses previamente al tratamiento adulticida. De esta manera, las larvas menores de 2 meses de edad son eliminadas mientras que las larvas mayores de 2 meses podrán alcanzar la edad suficiente para ser susceptibles a la melarsomina. Además, con su administración se comienza con la eliminación gradual de las

microfilarias, que generalmente se alarga entre 3 y 9 meses (Kramer et ál., 2005; Simón et ál., 2012; American Heartworm Society, 2018).

Una vez realizados estos tratamientos, se procede al tratamiento adulticida. La melarsomina diclorhidrato (*Immiticide*®) mediante inyección intramuscular profunda en la musculatura lumbar. El tratamiento recomendado es aplicar una primera inyección de melarsomina (2,5 mg/kg), una segunda inyección al cabo de un mes (2,5 mg/kg) y una tercera inyección pasadas 24 horas de la anterior (2,5 mg/kg). Este protocolo elimina los adultos de forma escalonada, eliminando el 50 % de los adultos (90 % machos y 10 % hembras) en la primera inyección, y el resto con la segunda y tercera inyecciones. La terapia quirúrgica se emplea como alternativa al tratamiento adulticida en perros con altas cargas parasitarias o con síndrome de vena cava, mediante la introducción transyugular de fórceps flexibles *Alligator* hasta alcanzar la cavidad cardíaca derecha y la arteria pulmonar para poder extraer los parásitos (Ishihara et ál., 1990). Posteriormente, se debe realizar un tratamiento adulticida como el descrito (Carretón et ál., 2012).

Durante el tratamiento adulticida, es vital una restricción del ejercicio para minimizar la aparición y gravedad de tromboembolismos pulmonares por la muerte de los parásitos. Sin embargo, la aparición de este fenómeno es muy frecuente; en los casos más leves puede pasar desapercibido, pero, cuando se acompaña de sintomatología, esta aparece generalmente a los 7-10 días tras la administración del fármaco adulticida, cuando la mayoría de las filarias están muriendo, aunque puede suceder hasta pasadas 4 semanas tras administración del tratamiento adulticida. El uso de glucocorticoides junto con la restricción de ejercicio es el tratamiento de elección para el manejo del tromboembolismo pulmonar. El uso de la aspirina está contraindicado. Para confirmar la eficacia del tratamiento, se debe realizar un test de antígenos a los 6 meses tras la última dosis de melarsomina. Además, se debe continuar la administración de lactonas macrocíclicas mensualmente a dosis preventivas, para evitar reinfecciones (American Heartworm Society, 2018).

Como ya hemos dicho con anterioridad, la acción vectorial es ejercida por hospedadores intermediarios que actúan de vectores de esta enfermedad (Cancrini & Kramer, 2001; Cancrini et ál., 2006). En España se han denunciado dos especies que actúan de vectores de la dirofilariosis cardiopulmonar como son *Cx. pipiens* en Salamanca y *Cx. theileri* en las islas Canarias (Morchón et ál., 2012). Una especie que ha sido reportada como vector de la enfermedad en otros países con en Italia es *Aedes albopictus*. Este vector es una especie exótica invasora, que lleva más de 10 años expandiéndose por el Mediterráneo peninsular, alcanzando también provincias del norte y del interior de España.

El «mosquito tigre», como así se le llama comúnmente, es una especie eminentemente urbana, muy antropofílica y que pica en horario diurno; por tanto, suele causar relevantes problemas por su acción hematofágica, fundamentalmente en parques y jardines urbanos. Su propagación a escala mundial está íntimamente relacionada con la actividad humana, aumento en el transporte de mercancías y personas asociado a la globalización e incremento sostenido en la temperatura terrestre vinculado al cambio climático. El mosquito tigre es considerado por la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN), una de las 100 especies exóticas invasoras más dañinas del mundo, siendo vector de enfermedades como el dengue, chikungunya y zika, aparte de más de otros 20 patógenos y arbovirus. Asimismo, hay que sumar que su picadura puede resultar muy molesta, provocando perjuicios en la calidad y hábitos de vida. Como consecuencia de todo ello se ven especialmente perjudicados los sectores del turismo y la sanidad, por tanto, el mosquito tigre representa una especie muy nociva y justifica el esfuerzo necesario para su gestión por parte de las autoridades de sanidad ambiental competentes (Bueno Marí y Jiménez Peydró, 2012).

El mosquito tigre fue detectado por primera vez en España en el año 2004, concretamente en la localidad barcelonesa de Sant Cugat del Vallès (Aranda et ál., 2006), debido a un importante aumento de las consultas médicas provocadas por su molesta picadura. Desde entonces, la expansión de la especie ha sido constante por el este peninsular, habiéndose evidenciado su presencia en el resto de Cataluña, Comunidad Valenciana, Murcia, Andalucía, Aragón, Madrid y Extremadura, entre otras (Bueno Marí & Jiménez Peydró, 2012; Collantes et ál., 2015; 2016). Por tanto, su introducción en la península ibérica se ha producido desde Cataluña, y de ahí se ha expandido por dos vertientes, una sería por todo el litoral mediterráneo y otra a través de Aragón, Madrid y Extremadura, aunque hay datos que podrían demostrar que su presencia en Extremadura viene por la conexión con Portugal y su presencia también en este país (Osório et ál., 2018).

Teniendo en cuenta estos antecedentes previos, los objetivos de este trabajo fueron, en primer lugar, estudiar la presencia de la dirofilariosis cardiopulmonar en perros en Ávila, ya que existen dos provincias endémicas próximas como son Salamanca y Madrid, donde la prevalencia media en perros es del 18 % e incluso ya se han identificado casos humanos con nódulo pulmonar en Salamanca, y del 3 % en Madrid, y, en segundo lugar, estudiar las vías de entrada potenciales en la ciudad de Ávila, ya que en la provincia de Madrid ha sido identificada esta especie y que en la provincia de Ávila existe un gran intercambio de mercancías y personas con regiones con presencia consolidada del mosquito. Con este estudio se amplía la información aportada en la revisión previamente publicada en el libro *Investigar el pasado para entender el presente: homenaje al profesor Carmelo Luis López* en el año 2019.

## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1. Material biológico

En colaboración con 4 clínicas veterinarias de la ciudad de Ávila se han obtenido un total de 104 muestras de sangre de perros que procedían de la ciudad de Ávila y de sus proximidades. En todos los casos hemos tenido el consentimiento verbal del dueño para llevar a cabo este estudio. Todos ellos llevaban su chip correspondiente y estaban censados. El número de muestras recolectadas se recogen en las tablas 1, 2 y 3 teniendo en cuenta el sexo, la edad, si vivían o no fuera de las viviendas de sus propietarios y la raza respectivamente. Las muestras de sangre se obtuvieron mediante punción en la vena safena y se obtuvieron 3 ml de sangre en dos vacutainer para llevar a cabo los análisis pertinentes.

Sexo		Tipo de vivienda	
Hembra	61	Interior	9
Machos	43	Exterior	95
<b>Total</b>	104		

**Tabla 1. Número de muestras de sangre de perro teniendo en cuenta su sexo y si pertenecían fuera o dentro de las viviendas.**

Edad	N.º muestras
Menor de 1	5
1-4	44
5-9	37
Mayor de 10	18
<b>Total</b>	104

**Tabla 2. Número de muestras de sangre de perro teniendo en cuenta su edad.**

Raza	N.º muestras
Alaskan Malamute	1
American staff	1
American Staffordshire	2
American terrier	1
Beagle	6

Bichón maltés	1
Border collie	2
Boxer	5
Braco	11
Labrador	8
Foxterrier	4
Mastín español	6
Golden retriever	2
Pastor alemán	10
Podenco	21
San Bernardo	4
Setter	1
Spaniel breton	14
Teckel	4
<b>Total</b>	<b>104</b>

**Tabla 3. Número de muestras de sangre de perro teniendo en cuenta su raza.**

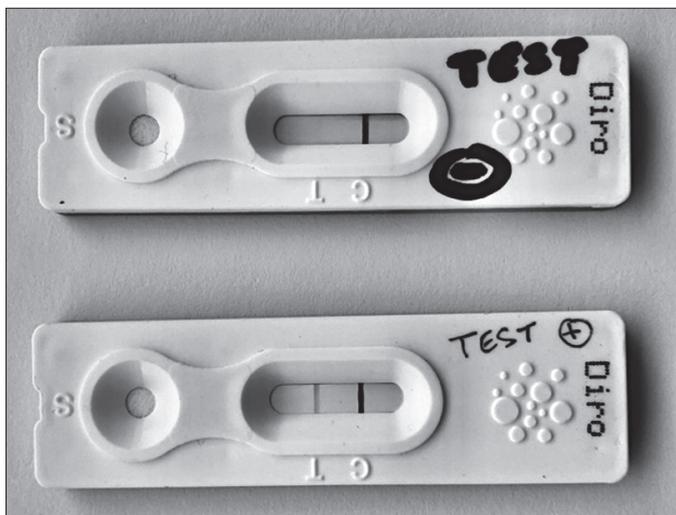
## **2.2. Análisis de Knott**

El recuento de microfilarias fue mediante la técnica de Knott modificada (Diosdado et ál., 2018). A 1 ml de sangre se le añadieron 9 ml de formol al 2 % y se centrifugó a 1500 rpm durante 5 minutos. El sobrenadante se eliminó y en el sedimento se añadieron 4 gotas de azul de metileno. Finalmente, se añadieron dos gotas de la solución resultante en un portaobjetos, se puso encima un cubreobjetos y se visualizaron con un microscopio con los objetivos de 10x y 40x para llevar a cabo el recuento de microfilarias.

## **2.3. Análisis para la detección de antígenos de *D. immitis***

Dos ml de sangre se incubaron a 4 °C durante 30 minutos y se centrifugaron a 2500 rpm durante 10 minutos para obtener el suero de cada perro, que fue almacenado a -20 °C hasta su procesado. Las muestras de suero se procesaron mediante el test de Uranotest *Dirofilaria* (Uranovet, España) para la detección de antígenos circulantes de *D. immitis* siguiendo las instrucciones del fabricante (Figura 3). En cada test se añadieron 10 µl de suero de cada muestra de perro a analizar. Se añadieron 3 gotas de la solución reveladora

(*Developing buffer*) en los mismos pocillos en donde se añadió el suero del perro. A los 15 minutos se procedió a la interpretación de los resultados, dejando de ser válida a partir de los 20 minutos. Si el test tenía una sola banda, la muestra sería negativa, pero si tenía dos, la muestra era positiva.



**Fig. 3.** Resultado del test de Uranotest *Dirofilaria* (Uranovet, España) de un perro positivo (Test +) y de un perro negativo (Test -).

#### **2.4. Obtención de datos sobre las variables que pueden afectar al ciclo biológico del mosquito tigre**

Se han obtenido un conjunto de datos-ciudad (variables urbanísticas, ambientales, sociodemográficas, etc.), que han permitido detectar, caracterizar y posteriormente analizar los diferentes factores que definen las vías de entrada más probables de *Aedes albopictus*, los hábitats o focos de cría posibles. Estos datos se han obtenido a través de las Tecnologías de la Información y la Comunicación (TIC), de la Diputación de Ávila y del Ayuntamiento del Ávila. Podemos asociar ubicaciones del mapa con fenómenos del mundo real e interpretar y captar información esencial entre infinidad de contenido detallado mostrado en cada visualización de mapa. Los mapas se utilizan para descubrir e investigar patrones, como pueden ser las características de una población dentro de una ciudad o las migraciones de los antílopes entre sus hábitats de invierno y de verano. El análisis espacial es uno de los aspectos más interesantes y destacables de SIG pudiendo combinar información de numerosos orígenes independientes y obtener resultados, mediante la aplicación de un conjunto amplio y sofisticado de operadores espaciales.

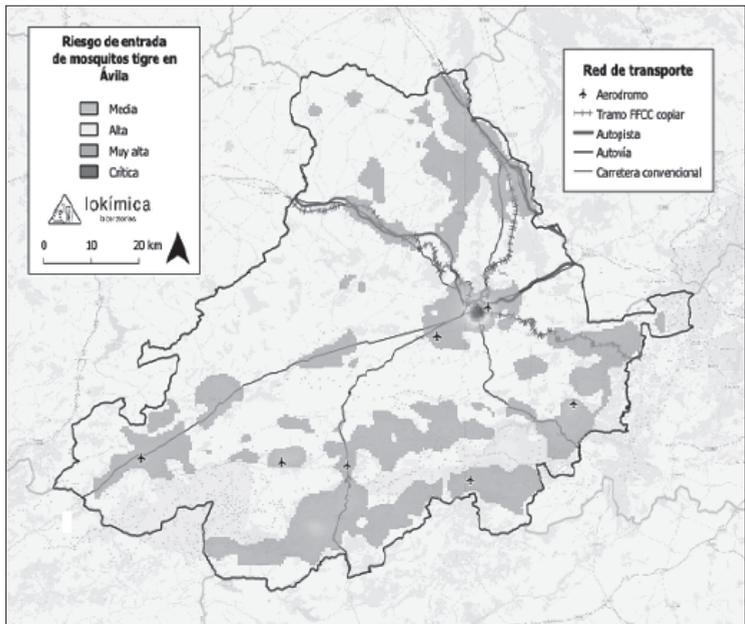
### 3. RESULTADOS

La prevalencia media de *D. immitis* en perros fue del 0,96 %. Por lo que se refiere al sexo, solo se detectó una hembra positiva al test de antígenos circulantes de *D. immitis*, que estaba en el rango de 5-9 años de edad. La raza de este perro era podenco y se localizaba entre la carretera Villacastín-Vigo y la calle Teresa de Calcuta. En ninguno de los casos existieron diferencias significativas por edad, sexo, tipo de vivienda y raza.

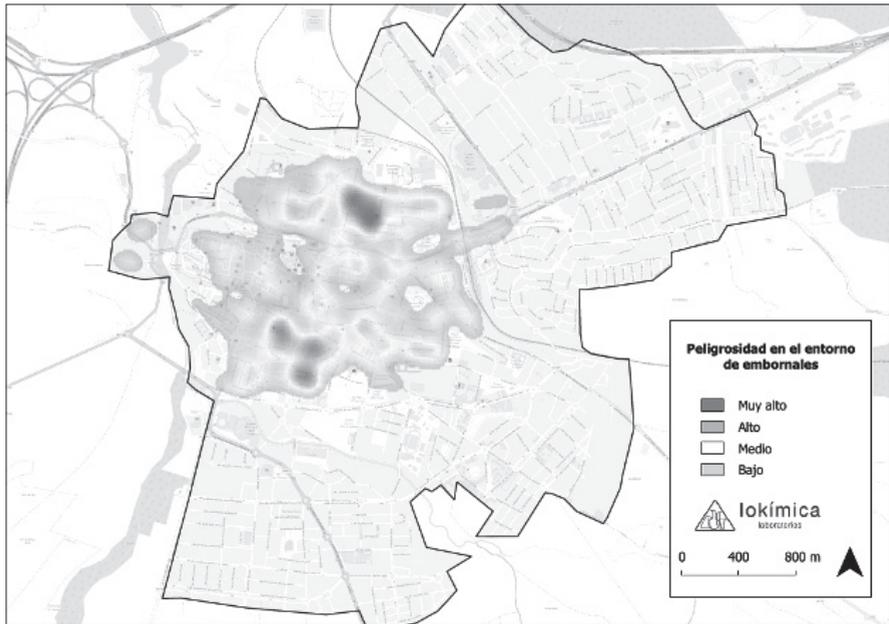
A través de las Tecnologías de la Información y la Comunicación (TIC) y el Sistema de Información Geográfico (GIS) hemos diseñado y organizado la información geográfica por medio de capas temáticas y obtener así información mediante geoprocésamiento y, posteriormente, la visualización análisis, comparación e interpretación de los resultados analíticos. En las Figs. 4-7 se muestran los diferentes mapas realizados con el GIS.

Como se pueden observar en la Fig. 4, la capital abulense es el punto de peligrosidad más alto de toda la provincia para la entrada de *Aedes albopictus*. La forma de entrada de riesgo mayor es a través de carreteras y de aeródromos, así como por el transporte de mercancías por tren, lo que implica que la ciudad de Ávila tenga un riesgo de entrada crítico, ya que Madrid, en donde el vector está establecido desde hace algunos años, tiene una gran comunicación con la capital abulense.

En la ciudad de Ávila (Figs. 5-7), las zonas cercanas al parque de las Hervencias, al jardín de la Viña, parques próximos al paseo de Don Carmelo, al monasterio de la Encarnación y al acceso a la muralla por la puerta del Carmen, son las zonas con una alta vulnerabilidad para el establecimiento del vector en el entorno privado. Al mismo tiempo, todas las zonas cercanas con agua, ríos, parques, regadíos, etc., que están tanto dentro como fuera de la ciudad, están expuestas a que exista un peligro de establecimiento del mosquito tigre.



**Fig. 4.** Peligrosidad de entrada de *Aedes albopictus* teniendo en cuenta las vías y las paradas de los viajeros y mercancías en la provincia de Ávila.



**Fig. 5.** Peligrosidad del entorno teniendo en cuenta los imbornales en Ávila (los imbornales de recogida de aguas pluviales son los principales criaderos estructurales del mosquito tigre en áreas públicas de las ciudades mediterráneas).

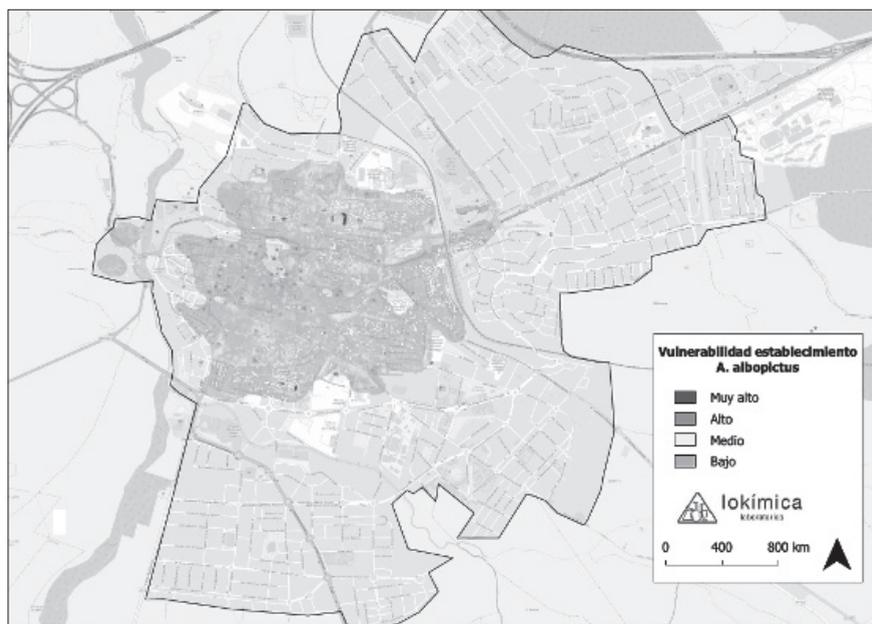


Fig. 6. Vulnerabilidad del establecimiento de *Aedes albopictus* en Ávila (unión de la información de imbornales y vegetación).

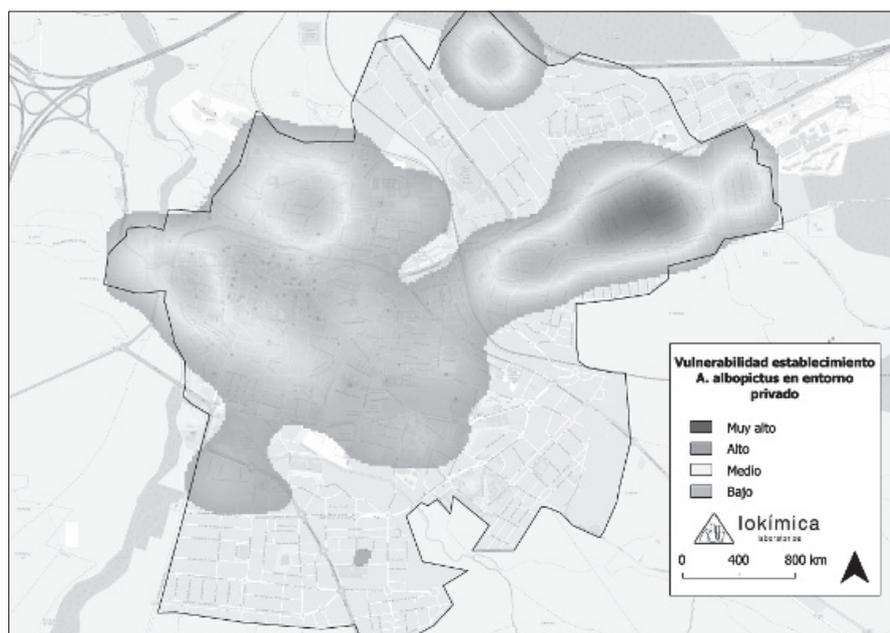


Fig. 7. Vulnerabilidad del establecimiento de *Aedes albopictus* en el entorno privado de la ciudad de Ávila.

#### 4. DISCUSIÓN

La dirofilariosis cardiopulmonar es una zoonosis que requiere de varios factores para que se produzca la transmisión entre hospedadores y de la acción de vectores concretos en una zona determinada. Entre estos factores cabe destacar factores ambientales como temperatura media y humedad elevada, la existencia de vectores y la de hospedadores definitivos en el lugar de cría de estos vectores, siendo estos reservorios del parásito. Los vectores son organismos ectotérmicos, es decir, que dependen de la temperatura y la humedad del medio que les rodea, de tal forma que, en condiciones óptimas (temperatura media de 23 °C y humedad superior al 80 %), es posible que el vector se reproduzca y que las microfilarias muden a larva 2 y a larva 3 en una media de 14 días (Simón et ál., 2012). A estos factores hay que añadirle el manejo de zonas agrícolas con zonas de regadío, periurbanas con la fabricación de urbanizaciones en zonas destinadas con anterioridad a la agricultura, y cada vez más en urbanas por el efecto isla de calor. Todo ello supone un importante problema de salud en los países desarrollados de los animales de compañía (Simón et ál., 2012; Montoya-Alonso et ál., 2014, 2017; Kartashev et ál., 2014).

El presente estudio demuestra la existencia de dirofilariosis en la población de perros en la ciudad de Ávila. En concreto en la zona noreste de la ciudad, localizada entre la carretera Villacastín-Vigo y la calle Teresa de Calcuta, con urbanizaciones y parques cercanos, lugares propicios para que se dé el ciclo biológico del mosquito y del parásito. Esto, junto con las temperaturas medias registradas, proporciona las condiciones adecuadas para el desarrollo de las poblaciones de vectores.

Se detectó la infección de un perro de la raza podenco en la franja de 5-9 años de edad como ya se ha reportado en otros (Montoya-Alonso et ál., 2016). Según Simón et ál. (2014), el riesgo de infección en esta zona es moderado-alto. En este estudio se tenía en cuenta la temperatura, la humedad, la pluviosidad y las zonas de regadío, entre otros factores. Coincide, además, que en esta zona de la ciudad es la que tiene una alta vulnerabilidad para el establecimiento de *Ae. albopictus* en el entorno privado. Al mismo tiempo, todas las zonas cercanas con agua, ríos, parques, regadíos, etc., que están tanto dentro como fuera de la ciudad, están expuestas a que exista un peligro de establecimiento del mosquito tigre. En estas áreas de mayor riesgo para la llegada y establecimiento de este vector sería conveniente iniciar de cara a 2021 un programa de vigilancia activa mediante trampas de oviposición recolectadas periódicamente, a fin de detectar la posible presencia de la especie de forma temprana y poder así acometer acciones de control eficaces en la limitación de la expansión de la especie.

## 5. CONCLUSIONES

Es la primera vez que se denuncia la presencia de la dirofilariosis cardiopulmonar, causada por *D. immitis*, en Ávila con una prevalencia media del 0,96 %. Hay que tener en cuenta que las prevalencias medias en Madrid y Salamanca son del 1,6 y del 6,8 % respectivamente.

Los perros de caza, de la raza podenco, son los más expuestos hasta la fecha, debido a que todo ellos tienen una gran actividad durante el día en el campo y, muchos de ellos, viven fuera de las viviendas de sus propietarios.

El que existan ya perros infectados y un riesgo de vulnerabilidad de entrada del vector *Aedes albopictus* en Ávila, hace sospechar que esta enfermedad puede ir en aumento si no se toman las medidas de control recomendadas por la *European Society of Dirofilariosis and Angiostrongilosis*, destinadas al tratamiento preventivo de los perros y al control del vector.

Son necesarias más investigaciones para llevar a cabo un estudio más exhaustivo de la presencia de *Dirofilaria immitis* en la provincia de Ávila y en la propia capital y llevar a cabo un estudio sobre la presencia de *Aedes albopictus* mediante la puesta de trampas de mosquitos adultos y la recolección de larvas y pupas.

## BIBLIOGRAFÍA

American Heartworm Society (2018). Recuperado de: <https://www.heartworm-society.org/images/pdf/2018-AHS-Canine-Guidelines.pdf>

Aranda, C.; Eritja, R. y Roiz, D. (2006). First record and establishment of the mosquito *Aedes albopictus* in Spain. *Medical and Veterinary Entomology*, 20: 150-152.

Bueno Marí, R. y Jiménez Peydró, R. (2012). Health implications of the establishment and spread of *Aedes albopictus* in Spain. *Revista Española de Salud Pública*, 86: 319-330.

Carretón, E.; Morchón, R. y Montoya-Alonso, J. A. (2012). Capítulo 1. Dirofilariosis cardiopulmonar canina. En: Montoya-Alonso, José Alberto; Carretón, Elena. *Dirofilariosis. Pautas de manejo clínico*. Barcelona: Multimédica Ediciones Veterinarias, pp. 1-130.

Carretón, E.; Montoya-Alonso, J. A.; Falcón-Cordón, Y.; Falcón-Cordón, S.; Diosdado, A.; Gómez, P. J.; González-Miguel, J.; Simón, F. y Morchón, R. (2017). Sintomatología, diagnóstico, tratamiento y control de la dirofilariosis cardiopulmonar. *Argos*, 187: 36-38.

- Carretón, E.; Falcón, Y.; Matas, J. I.; Costa N. y Morchón R. (2020). *Wolbachia pipientis*: más que una simple bacteria. Revista de Enfermedades Infecciosas e Inmunología Veterinaria, 5: 2-11.
- Collantes, F.; Delacour, S.; Alarcón-Elbal, P. M.; Ruiz-Arrondo, I.; Delgado, J. A.; Torrell-Sorio, A.; Bengoa, M.; Eritja, R.; Miranda, M. Á.; Molina, R. y Lucientes, J. (2015). Review of ten-years presence of *Aedes albopictus* in Spain 2004-2014: known distribution and public health concerns. Parasite and Vectors, 8: 655.
- Collantes, F.; Delacour, S.; Delgado, J. A., Bengoa, M., Torrell-Sorio, A., Guinea, H., Ruiz, S. y Lucientes, J. (2016). Updating the known distribution of *Aedes albopictus* (Skuse, 1894) in Spain 2015. Acta Tropica, 164: 64-68.
- Diosdado, A.; Gómez, P. J.; González-Miguel, J.; Simón, F. y Morchón, R. (2018). Current Status of Canine Dirofilariosis in an Endemic Area of Western Spain. Journal of Helminthology, 92: 520-523.
- ESDA (2017). Recuperado de: <https://www.esda.vet/wp-content/uploads/2017/11/GUIDELINES-FOR-CLINICAL-MANAGEMENT-OF-CANINE-HEARTWORM-DISEASE.pdf>
- Kartashev, V.; Afonin, A.; González-Miguel, J.; Sepúlveda, R.; Simón, L.; Morchón, R. y Simón, F. (2014). Regional warming and emerging vector-borne zoonotic dirofilariosis in the Russian Federation, Ukraine and other post-Soviet states from 1981 to 2011 and projection by 2030. Biomed Research International, 2014: 1-11.
- Kramer, L.; Tamarozzi, F.; Morchón, R.; López-Belmonte, J.; Martín-Pacho, J. R.; Marcos-Atxutegui, C. y Simón, F. (2005). Immune response to and tissue localization of the *Wolbachia* surface protein (WSP) in dogs with natural heartworm (*Dirofilaria immitis*) infection. Veterinary Immunology and Immunopathology, 106: 303-308.
- Montoya-Alonso, J. A.; Carretón, E.; García-Guasch, L.; Expósito, J.; Armario, B.; Morchón R. y Simón F. (2014). First epidemiological report of feline heartworm infection in the Barcelona metropolitan area (Spain). Parasites & Vectors, 7: 506.
- Montoya-Alonso, J. A.; Carretón, E.; Morchón, R.; Silveira-Viera, L.; Falcón, Y. y Simón, F. (2016). The impact of the climate on the epidemiology of *Dirofilaria immitis* in the pet population of the Canary Islands. Veterinary Parasitology, 216: 66-71.

- Montoya-Alonso, J. A.; Morchón, R.; Falcón-Cordón, Y.; Falcón-Cordón, S.; Simón, F. y Carretón, E. (2017). Prevalence of heartworm in dogs and cats of Madrid, Spain. *Parasite & Vectors*, 10: 354.
- Morchón, Rodrigo. (2008). Mecanismos celulares y moleculares de la patología vascular de la dirofilariosis cardiopulmonar. El papel de las filarias y de los endosimbiontes del género *Wolbachia*. Facultad de Biología, Universidad de Salamanca. Recuperado de: [https://gredos.usal.es/jspui/bitstream/10366/17703/1/DBAPEEQA\\_Mecanismos celulares moleculares patologia.pdf](https://gredos.usal.es/jspui/bitstream/10366/17703/1/DBAPEEQA_Mecanismos celulares moleculares patologia.pdf)
- Morchón, R.; Carretón, E.; González-Miguel, J. y Mellado-Hernández, I. (2012). Heartworm Disease (*Dirofilaria immitis*) and Their Vectors in Europe - New Distribution Trends. *Frontiers and Physiology*, 3: 196.
- Osório, H. C.; Zé-Zé, L.; Neto, M.; Silva, S.; Marques, F.; Silva, A. S. y Alves, M. J. (2018). Detection of the Invasive Mosquito Species *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Diptera: Culicidae) in Portugal. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 15: 820.
- Pérez-Sánchez, R.; Gómez-Bautista, M. y Grandes, A. E. (1989). Canine Filariasis in Salamanca (Northwest Spain). *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 83: 143-50.
- Simón, F.; Siles-Lucas, M.; Morchón, R.; González-Miguel, J.; Mellado, I.; Carretón, E. y Montoya-Alonso, J. A. (2012). Human and animal dirofilariosis: the emergence of a zoonotic mosaic. *Clinical Microbiology Reviews*, 25: 507-544.
- Simón, L.; Afonin, A.; López-Díez, L. I.; González-Miguel, J.; Morchón, R.; Carretón, E.; Montoya-Alonso, J. A.; Kartashev, V. y Simón, F. (2014). Modelo geoambiental para la predicción del riesgo potencial de transmisión de *Dirofilaria* en España. *Argos*, 137: 38-40.