

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

**“DIAGNOSTICO DE DIROFILARIASIS CANINA, POR MEDIO DE
KNOTT Y ELISA, EN EL MUNICIPIO DE CHAMPERICO
DEPARTAMENTO DE RETALHULEU, GUATEMALA”**

TESIS

Presentada a la Junta Directiva de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de
la Universidad de San Carlos de Guatemala.

Por

LESTHER LANDONI RAMOS SANCHEZ

Al conferírsele el título de:

MEDICO VETERINARIO

GUATEMALA, NOVIEMBRE DEL 2001

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

DECANO:	DR. MARIO E. LLERENA QUAN.
SECRETARIO:	LIC. ROBIN IBARRA.
VOCAL PRIMERO:	LIC. CARLOS E. SAAVEDRA V.
VOCAL SEGUNDO:	DR. FREDY GONZALES GUERRERO.
VOCAL TERCERO:	LIC. EDUARDO SPIEGELER.
VOCAL CUARTO:	BR. VALESKA MOSS.
VOCAL QUINTO:	BR. DINA REYNA.

“ASESORES”

DR. JAIME ROLANDO MENDEZ S.
DRA. MONICA BOBURG DE SANDOVAL.
DR. LUDWIG FIGUEROA HERNANDEZ.

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

En cumplimiento a lo establecido por los estatutos de la Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a consideración de ustedes el presente trabajo de tesis titulado:

**“ DIAGNOSTICO DE DIROFILARIASIS CANINA, POR MEDIO DE KNOTT Y
ELISA, EN EL MUNICIPIO DE CHAMPERICO, DEPARTAMENTO DE
RETALHULEU, GUATEMALA”**

Como requisito previo a optar el título profesional de

MEDICO VETERINARIO

TESIS QUE DEDICO:

A. DIOS TODO PODEROSO.

A MIS PADRES VICTOR HUGO RAMOS Y ELIDA ORFILIA SANCHEZ, por su amor y Apoyo brindados para alcanzar este triunfo, como recompensa a sus múltiples esfuerzos.

A MIS HERMANOS. CUKI, CHARLI, HUGO, EVEREST.

A MI CUÑADO. JORGE MARIO DAVILA BARALES.

A MIS TIOS Y PRIMOS. Por sus consejos y apoyo.

A MIS ASESORES. DR. JAIME ROLANDO MENDEZ
DRA. MONICA BOBURG
DR. LUDWIG FIGUEROA.

A MIS AMIGOS....

ACTO QUE DEDICO:

A.

DIOS

A MIS PADRES.

VICTOR HUGO RAMOS Y ELIDA ORFILIA
SANCHEZ.

A MI NOVIA.

MARIA ANDREA DIAZ ENRIQUEZ.

A MI FAMILIA.

Por su apoyo.

A MIS AMIGOS.

Por compartir momentos inolvidables.

“CONTENIDO”

	paginas
I- INTRODUCCION	01
II- HIPOTESIS	02
III- OBJETIVOS	03
IV- REVISION DE LITERATURA	04
4.1 DEFINICION	04
4.2 AGENTE ETIOLOGICO	04
4.2.1 Taxonomía	05
4.2.2 Morfología	05
4.3 HOSPEDEROS	06
4.4 CICLO DE VIDA	06
4.5 EPIDEMIOLOGIA Y EPIZOOTIOLOGIA	08
4.5.1 Prevalencia	08
4.6 FUENTE INFECCION Y MODO TRANSMISION	08
4.7 PATOGENESIS	08
4.7.1 Localización de los Parásitos	09
4.7.2 Respuesta a los gusanos vivos	10
4.7.3 Respuesta a los gusanos muertos	10
4.8 SIGNOS CLINICOS	10
4.9 LESIONES ANATOMICAS	11
4.10 DIAGNOSTICO	12
4.10.1 Historia Clínica	12
4.10.2 Examen Físico	12
4.10.3 Laboratorio Clínico	13
4.10.4 Identificación de Microfilarias	13
4.10.5 Método de Knott	13
4.10.6 Prueba de Inmunodiagnóstico	14
4.10.7 Angiocardigrafía	15
4.10.8 Radiografías	15
4.10.9 Patología Clínica	15
4.10.10 Electrocardiografía	16
4.10.11 Ultrasonografía	17

4.11 TRATAMIENTO	17
4.11.1 Selección del Paciente	17
4.11.2 Terapéutica Quirúrgica	17
4.11.3 Terapéutica Adulticida	18
4.11.4 Medicamentos Coadyuvantes en Terapéutica	19
4.11.5 Terapéutica Microfilaricida	19
4.12 PREVENCIÓN Y CONTROL	20
V- MATERIALES Y METODOS	22
5.1 DESCRIPCIÓN DEL ÁREA	22
5.2 MATERIALES	23
5.2.1. Recursos Humanos	23
5.2.2. Recursos Materiales	23
5.2.2.1. Materiales de campo	23
5.2.2.2. Materiales de laboratorio	24
5.2.3. Recursos Biológicos	25
5.2.4. Centros de Referencia	25
VI- METODOLOGIA	26
6.1 DISEÑO ESTADÍSTICO DEL ESTUDIO	26
6.1.1. Análisis de Datos	27
6.2 METODOLOGIA	28
6.2.1 Metodología de Campo	28
6.2.2 Metodología de Laboratorio	29
6.2.2.1 Prueba Serológica (ELISA)	29
6.2.2.2 Procedimiento	30
6.2.2.3 Método de Knott	30
6.2.3 Prueba Serológica Elisa	29
6.2.4 Método de Knott.	30
VII- RESULTADOS Y DISCUSIÓN	32
VIII- CONCLUSIONES	33

IX-RECOMENDACIONES	34
X-RESUMEN	35
XI- ANEXOS	36
XII- BIBLIOGRAFIA	45

TESIS QUE DEDICO:

B. DIOS TODO PODEROSO.

A MIS PADRES VICTOR HUGO RAMOS Y ELIDA ORFILIA SANCHEZ, por su amor y Apoyo brindados para alcanzar este triunfo, como recompensa a sus múltiples esfuerzos.

A MIS HERMANOS. CUKI, CHARLI, HUGO, EVEREST.

A MI CUÑADO. JORGE MARIO DAVILA BARALES.

A MIS TIOS Y PRIMOS. Por sus consejos y apoyo.

A MIS ASESORES. DR. JAIME ROLANDO MENDEZ
DRA. MONICA BOBURG
DR. LUDWIG FIGUEROA.

A MIS AMIGOS....

I. "INTRODUCCION"

El rápido avance de la población canina especialmente en Guatemala, ha generado la necesidad de estudios investigativos sobre las enfermedades más importantes de esta especie y principalmente aquellas que son transmisibles o que de una u otra forma afectan al hombre (zoonosis)

La *Dirofilariasis* canina es una enfermedad parasitaria, causada por la *Dirofilaria immitis*, transmitida por un agente vector (mosquito *Anopheles* sp.) Es de distribución mundial, más a nivel de trópicos y subtrópicos, por lo que se seleccionó el municipio de Champerico en el departamento de Retalhuleu para realizar este estudio, pues en él se presentan las condiciones ecológicas y medio ambientales adecuadas para el desarrollo de la misma.

Así mismo, ella puede ser una de las afecciones más importantes de este departamento del país, pues el medio ecológico existente en el área, su ubicación geográfica, y su estado climático es ideal para que se establezca esta parasitosis, las condiciones garantizan el desarrollo del mosquito vector.

Como se mencionó anteriormente la *Dirofilariasis* es una enfermedad parasitaria zoonótica, por lo que es de importancia su estudio en salud pública, se caracteriza porque la mayor parte de los animales afectados resultan asintomáticos desconociendo su estado de enfermedad y portador, siendo posible su diagnóstico a través de radiografías cuando existe lesión pulmonar, por lo que con este estudio se pretende determinar la efectividad de dos métodos de diagnóstico como lo son la PRUEBA DE ELISA y MÉTODO DE KNOTT, así como la determinación de la prevalencia de la enfermedad en la zona del estudio.

II. "HIPOTESIS"

Existe una correlación entre el método de ELISA y el método de KNOTT para el diagnóstico de *Dirofilariasis canina*”

III. "OBJETIVOS"

GENERALES:

- Contribuir a ampliar el conocimiento de *Dirofilariosis* Canina, debido a que es una enfermedad zoonótica.

ESPECIFICO:

- Realizar la comparación entre el método de Elisa y el método de Knott, para el diagnóstico de *Dirofilariosis* canina.

- Determinar la prevalencia de *Dirofilaria immitis* en perros del área rural y urbana del municipio de Champerico, departamento de Retalhuleu, por medio de la prueba de ELISA y método de KNOTT.

IV. "REVISION DE LITERATURA"

"DIROFILARIASIS CANINA"

4.1 "DEFINICION"

La Dirofilariasis es un problema común en muchas áreas de nuestro país y del mundo, más que todo a nivel tropical y subtropical, la enfermedad ha sido endémica en el sureste del golfo de México, así como también en los Estados Unidos, durante más de 50 años. (3)

La afección conocida como Dirofilariasis o Enfermedad de los vermes del corazón del perro, es ocasionada por la infestación de Dirofilaria immitis, en su fase adulta o fase larvaria (microfilaria), observando los signos clínicos principalmente en perros, aunque los gatos y húmeros pueden contraer la enfermedad. (8)

La enfermedad tiene una distribución cosmopolita a nivel del mar. Es común en trópicos y subtrópicos y raras veces en áreas de mayor elevación y latitud, frecuentemente ocurre en donde las poblaciones de mosquito son altas, especialmente en sudeste, medio oeste y mar Atlántico de Asia y América. (7).

4.2 "AGENTE ETIOLOGICO"

La dirofilariasis canina es resultado de la infección de "Dirofilaria immitis", y se trasmite a perros a través de la inoculación del parásito cuando el mosquito se alimenta de la sangre del hospedador. (3)

4.2.1 TAXONOMIA:

PHYLUM:	Nemathelminthes.
ORDEN:	Spirurida.
SUBORDEN:	Filariata
FAMILIA:	Filariidae
GENERO:	Dirofilaria.
ESPECIE:	immitis. (10)

4.2.2 MORFOLOGIA:

La Dirofilaria immitis es un verme o gusano blanquecino, cilíndrico, con extremo anterior adelgazado y con una pequeña abertura oral circular, la cual está rodeada de seis eminencias minúsculas o papilas. El esófago es relativamente largo (1.5mm). (14, 5)

Los machos adultos miden de 12 a 18 centímetros de largo por 2 a 2.5 mm. de ancho. Su extremo posterior está enrollado en espiral, sin bursa y provisto de dos pequeñas aletas laterales y de 4 a 5 pares de papilas pequeñas posanales. Las hembras adultas miden 25 a 30 centímetros de largo por 1 a 1.6mm de ancho, el extremo posterior con dos papilas, vulva con labios gruesos situada a 2.5cm de la abertura oral, la cola es redondeada. (14, 7)

Las microfilarias carecen de vainas, miden de 307 a 322 micras de largo por 6.8 a 7.1 micras de ancho, mientras que Lapage reporta que miden 218 -239 micras de largo. Están provistas de capuchón cefálico romo y una parte caudal larga y terminada en punta; son descartadas por las hembras adultas al torrente sanguíneo en esta forma. (7, 14, 9).

Las larvas depositadas no tienen vaina, se encuentran en forma permanente en la sangre periférica con tendencia a la periodicidad, máximo a las 18 hrs. y mínimo a las 6 horas. (5, 11)

4.3 "HOSPEDEROS"

"HOSPEDERO INTERMEDIARIO"

Los hospederos intermediarios y vectores son los mosquitos picadores hematófagos donde existen 60 especies involucradas, entre ellos están

Géneros Culex: *C. pipiens, C. fatigans, C. quinquefasciatus.*

Genero Aedes: *A. hyrcanus, A. stictius, A. trivittatus, A. vexans.*

Género Anopheles: *A. quadrimaculatus, A. punctipennis. (1,11).*

"HOSPEDERO DEFINITIVO"

Entre los principales hospederos definitivos donde se desarrolla la enfermedad son mamíferos de mucho rango, entre ellos perro, zorro, coyote, lobo, nutria, hurón, primates y en especial el hombre por ser una zoonosis importante. (1)

4.4 "CICLO DE VIDA"

Uno de los rastros prominentes en el ciclo de la dirofilariasis es que requieren de un artrópodo para el desarrollo de su ciclo vital, los parásitos adultos, hembras, machos, viven en tejidos o cavidades orgánicas. Las hembras son vivíparas, incuban los huevos dentro del útero y liberan embriones denominados microfilarias, que se alojan en la sangre circulante o piel. Las microfilarias son ingeridas por el artrópodo durante el acto alimentario. En el interior del mosquito, la microfilaria sigue su desarrollo hasta llegar a larva del tercer estadio principalmente en sus túbulos malpighianos o riñones del artrópodo luego emigra hacia las partes bucales del huésped invertebrado. Cuando este se vuelve a alimentar, inocular la larva infectante, que penetra en el organismo del animal vertebrado, donde sigue su evolución para llegar a su madurez sexual y postura de microfilarias. (1)

Los mosquitos hembras son huéspedes intermedios y adquieren la larva en el primer estadio (microfilaria) durante la alimentación de perros infectados. La larva se desarrolla dentro del mosquito hasta el tercer estadio en 2- 2.5 semanas.

La larva del tercer estadio (L3) infecta al perro por el piquete que produce el mosquito en la herida cuando se alimenta, la transmisión es rara en las épocas frías y meses secos del año. La larva migra a través del tejido subcutáneo y la adventicia vascular por unos 100 días. Durante este tiempo ocurren dos mudas, los adultos jóvenes entran al sistema vascular de 3-3.5 meses después de la infección.

Los gusanos adultos jóvenes de Dirofilaria immitis llegan a las pequeñas arterias pulmonares 5-6 meses después de la infección.

La infección patente, demostrada por microfilaremia, ocurre aproximadamente seis meses después de la transmisión por el mosquito. (3)

Las concentraciones de microfilarias aumentan en los seis meses siguientes y después disminuyen sino ocurre superinfección. (3)

Las infecciones ocultas inmunomediadas ocurren en presencia de un exceso persistente de anticuerpos del huésped, la adherencia de los leucocitos dependientes de anticuerpos causa el atrapamiento de microfilarias en la microcirculación pulmonar. (3)

Los complejos microfilaria - leucocitos son engullidos por los fagocitos del sistema fagocítico mononuclear, dando como resultado inflamación granulomatosa progresiva, en ocasiones da lugar a granulomatosis eosinofílica pulmonar, causando neumonitis alérgica. (3, 1)

Los parásitos adultos pueden sobrevivir hasta cinco años, las microfilarias viven hasta más de dos años (6)

4.5 "EPIDEMIOLOGIA Y EPIZOOTIOLOGIA"

4.5.1 PREVALENCIA.

Las infecciones por dirofilariasis son más comunes en climas tropicales y subtropicales, las tasas de infección son mayor en las costas pacíficas y parte atlántica, tan lejos como 250Km tierra dentro. (3, 6)

Los perros machos se infectan con mayor frecuencia, tal vez por la mayor exposición a los exteriores, los perros alojados fuera de casa tienen 4-5 veces más riesgo de infección por dirofilarias, también los perros de razas grandes y medianas tienen mayor exposición a la infección que los de razas pequeñas. Se hace mención más en perros de 4-7 años de edad, y en áreas endémicas en animales jóvenes. (3)

4.6 "FUENTE DE INFECCION Y MODO TRANSMISION"

El reservorio principal de Dirofilaria immitis es el perro y la transmisión se realiza por el mosquito, el hombre se infecta de forma accidental. Después que una persona es inoculada por un mosquito de larvas del tercer estadio, la mayoría de ellas muere en el tejido conjuntivo subcutáneo. Sin embargo algunas se pueden escapar del tejido conjuntivo y seguir con su crecimiento y migrar hacia los pulmones. En muchas especies de mosquitos la microfilaria puede alcanzar el desarrollo de larva infectante, pero no todas ellas tienen la misma eficiencia como vectores. (1)

4.7 "PATOGENESIS"

El parásito adulto ejerce importante acción de obstrucción, principalmente en corazón derecho y arteria pulmonar interfiriendo con el paso normal de la sangre y cierre de las válvulas. Otros diferentes estados evolutivos son arrastrados por la corriente sanguínea provocando problemas de embolia en pulmón, cerebro y otros tejidos. Las vermes por sus

movimientos ejercen una acción irritativa sobre el endotelio de los vasos dando lugar a endoarteritis y endocarditis con hipertrofia compensadora. (12)

La migración de formas juveniles al pulmón es una explicación de la neumonitis eosinofílica que se observa en perros jóvenes con manifestaciones de tos. La llegada de parásitos inmaduros a la arteria pulmonar causa una respuesta inflamatoria y el desarrollo de neumonía. Las lesiones vasculares son un estímulo para la formación de trombos que son arrastrados a las ramas pequeñas de la arteria pulmonar. La tromboembolia es una causa de neumonía y tos en perros con parásitos adultos. La dirofilariasis en su fase de disfunción cardiovascular termina con congestión de falla cardíaca. Cuando está presente gran cantidad de vermes adultos en el corazón derecho afectan el paso de la sangre y el cierre de la válvula del corazón derecho y de la arteria pulmonar. La hipertensión pulmonar y dilatación de la arteria pulmonar son la consecuencia de la esclerosis vascular pulmonar y de la oclusión señalada. (12)

La presencia del parásito adulto en el corazón da como consecuencia incompetencia de la válvula tricúspide y semilunar, con un incremento de la resistencia del sístole. El trabajo del corazón está aumentado pero hay un desequilibrio entre el trabajo y el daño cardíaco. El mecanismo compensatorios la hipertrofia, el volumen adicional de sangre produce congestión, como consecuencia hay aumento del tamaño del hígado, bazo, pulmones y ascitis.

Los parásitos están localizados en forma aberrante en ojo, vena cava, cerebro aorta y ventrículo izquierdo. (12, 14)

El inicio de la enfermedad y la gravedad reflejan de manera importante el número de dirofilarias adultas, que varían de 1 a más de 250 por perro. Su período de incubación varía según la intensidad de la infestación 1-6 meses. el período de prepatencia 6-9 meses, período de patencia es de 5-6 años. (10, 11)

4.7.1 LOCALIZACION DE LOS PARASITOS.

Cuando la carga de parásitos se excede más de 50 en un perro de 25Kg casi todos los gusanos se localizan en las arterias pulmonares. Una carga mayor de 75 gusanos se relaciona

con los gusanos en la aurícula derecha. y el síndrome de la vena cava se relaciona con un población de 100 gusanos.(3)

4.7.2 RESPUESTAS A LOS GUSANOS VIVOS.

El daño al endotelio arterial pulmonar y la subsecuente proliferación de la mioíntima más a menudo afecta a los lóbulos pulmonares caudal e intermedios. El agrandamiento arterial del lóbulo pulmonar , la tortuosidad y la obstrucción de las ramas pequeñas inician a las pocas semanas de la infección. Se obstruye el flujo sanguíneo intrapulmonar conforme la enfermedad progresa y la sangre se desvía a los lóbulos menos afectados, las pequeñas arterias se dañan y extravasan plasma y células inflamatorias dentro del parénquima pulmonar circundante. (3, 6).

4.7.3 RESPUESTA A LOS GUSANOS MUERTOS.

La enfermedad más intensa ocurre en respuesta a los fragmentos de gusanos muertos que son acarreados dentro de las pequeñas arteriolas, la adaptabilidad vascular pulmonar y el flujo sanguíneo se alteran, lo que da lugar a la hipertensión pulmonar y aumento de postcarga del ventrículo derecho.(3)

4.8 "SIGNOS CLINICOS"

La Dirofilaria immitis vive en el ventrículo derecho y arteria pulmonar del perro, y casi siempre forma un manojito que comprende ambos sexos del parásito. Cuando el número de parásitos es pequeño, la infección transcurre de forma asintomática. En la dirofilariasis sintomática de larga duración, los signos son predominantes en tos crónica, pérdida de vitalidad y en casos graves insuficiencia cardíaca. La congestión pasiva o crónica que se desarrolla en varios órganos puede producir ascitis, la trombosis puede ocasionar infartos pulmonares con muerte súbita. Hay hemoglobinuria y muerte en 24 a 72 hrs. (1)

La duración y severidad de la infección, conjuntamente con la reacción individual del huésped ante el parásito, determinará la severidad de los signos clínicos. (7)

Los signos clínicos relacionados con la infección por dirofilaria reflejan la carga de parásitos adultos, la duración de la infección y la interacción huésped-parásito. (8)

Los signos pulmonares más comunes en perros con moderada o intensa infección son intolerancia al ejercicio, tos, disnea, estertores crepitantes, hemoptisis ocurre en la enfermedad avanzada, se ve antes del tratamiento pero es más común después del mismo. Después de la muerte de los gusanos se ve aumento en la densidad de los alvéolos pulmonares. Existe síncope en la enfermedad intensa de la arteria pulmonar y el aumento de presión venosa central por insuficiencia cardíaca congestiva derecha. La hemoglobinuria se da junto con síndrome de la vena cava (obstrucción por gusanos) y en veces cuando la enfermedad grave de la arteria pulmonar causa trombocitopenia o CID. (3, 7)

El síndrome nefrótico sucede cuando hay enfermedad glomerular, amiloidosis, hipoalbuminemia, ascitis, edema, hiperazoemia variable. El vómito está ausente en perros, solamente en dirofilariasis de gatos. (6)

La investigación de un paciente con la enfermedad reveló; en España en el año 1990, los hallazgos clínicos de hematología siguientes: un Hematocríto de 32%, en comparación con perros normales de 40%. El recuento de los leucocitos indica una leucocitosis de un total de 23,500, diferenciándolos en neutrófilos segmentados de 19000, neutrófilos en banda 700, linfocitos 1,400, monocitos 940, y eosinofilos 1,400. (15)

4.9 "LESIONES ANATOMICAS"

Los cambios más comunes en las arterias pulmonares son la endarteritis, proliferación de la subíntima de células musculares lisas y protusiones rugosas y vellosas en la luz. Puede ocurrir trombosis de las arteriolas más pequeñas como resultado de la muerte de los gusanos.(7)

El efecto de estas lesiones, junto con la fibrosis obstructiva es el desarrollo de hipertensión pulmonar y cardiomegalia derecha secundaria, los riñones pueden mostrar evidencias de glomerulonefritis y hemosiderosis de los túbulos sinuosos, con materiales de desecho hemático en la médula. En el síndrome caval, se pueden observar vénulas hepáticas agrandadas, venas hepáticas engrosadas y necrosis centrolobulillar. (7)

La arteria pulmonar y sus ramificaciones con frecuencia contienen gran número de gusanos del corazón, las ramificaciones más grandes muestran arterioesclerosis con cojinetes endoteliales fibrosos que obstruyen parcialmente la luz del vaso. Las ramificaciones más pequeñas pueden tener hipertrofia de la media y engrosamiento fibroso de la íntima. (13)

4.10 "DIAGNOSTICO"

El diagnóstico de la dirofilariasis depende de la presencia de microfilarias en sangre periférica, del examen de inmunodiagnóstico positivo en perros con datos clínicos o radiográficos consistentes en la enfermedad o ambos casos.

4.10.1 HISTORIA CLINICA.

La historia clínica de perros con infestaciones de dirofilariasis es muy variable, algunos perros no presentan síntomas otros tienen taquipnea, tos y la intolerancia al ejercicio, hipertensión pulmonar, ICC derecha, lo cual hace relación con la infestación. La mayoría de perros infectados por dirofilaria no han recibido terapéutica profiláctica. (3, 6)

4.10.2 EXAMEN FISICO.

Los datos son de ICC derecha, auscultación con crepitaciones, ronquidos, sonidos bronquiales aumentados, pueden ser evidentes signos de hipertensión pulmonar y descompensación cardíaca. (3)

4.10.3 LABORATORIO CLINICO.

Los estudios de laboratorio clínico dependen de la edad del paciente, presentación de la enfermedad, signos clínicos y preferencia individual del médico.

La base de las pruebas de perros que se sospecha la infección es tomar hematócrito(ht), nitrógeno de la urea sanguínea (NUS), gravedad específica de la orina, frotis de sangre, examen de concentración de microfilarias. (3)

4.10.4 IDENTIFICACION DE MICROFILARIAS.

Se realiza un frotis de sangre directo, si es negativo, se indica un examen de concentración. La prueba de Knott o la de filtro miliporo es adecuada para la identificación de microfilarias. Cada método tiene ventajas y desventajas, pero su eficiencia es similar. Si los resultados son negativos se indica la prueba de inmunodiagnóstico para asegurarse que no hay infestación. (6)

La prueba de Knott y millipore son ensayos comunes para diagnosticar microfilarias, donde las microfilarias de Dirofilaria immitis deben de diferenciarse de filarias (*D. repens*, *D. conjuntivae*, *Dipetalonema dracunculoides*, *Brugia malayi*, *Brugia pahangi*, *Brugia patei*) y de las microfilarias de Dipetalonema Reconditum, en base a la morfología y técnicas de tinción con fosfatasa ácida. (7, 13)

4.10.5 METODO KNOTT.

Con este método se detectan las microfilarias que se encuentran en la sangre circulante y que corresponden a los parásitos de la familia Filaridae, que afectan a los animales domésticos y al hombre. Se utiliza para el diagnóstico de nemátodos de los géneros Dirofilaria immitis y Dipetalonema sp. que parasitan a los carnívoros. (5)

Para realizarlo se necesita mostrar al animal en dos horarios del día solamente temprano del día y al atardecer del día, ya que es la hora en que las microfilarias están en mayor circulación dentro del cuerpo, se utilizará formol 2% y azul de metileno 1:1000. Obteniendo un centímetro de sangre de la vena safena o radial del canino.(4)

Depositar el centímetro de sangre obtenido en un tubo de centrifuga que contenga 9ml de formol al 2%., luego centrifugar la muestra a 1500 rpm durante 5-10 minutos, después se decanta el líquido sobrenadante y al sedimento se le agrega 1-2 gotas de azul de metileno, homogenizar y colocar una pequeña cantidad en un portaobjetos, para ser observado en el microscopio a 100X o 450X.

Las larvas de *Dirofilaria* se diferencian con las de *Dipetalonema* en que son de mayor tamaño, menos curvas, y no tienen ningún crecimiento en pulgas y *Anopheles quadrimaculatus*. (6, 12)

4.10.6 PRUEBA DE INMUNODIAGNOSTICO.

Prueba cuando se sospecha de dirofilariasis y no hay microfilarias. El serodiagnóstico de antígeno para dirofilarias adultas en perros se lleva a cabo por prueba de ELISA y Aglutinación de Látex. La prueba de ELISA es la abreviación del sistema de inmunoabsorción de anticuerpos ligados a enzimas desarrollado por los científicos suecos Engwall y Perlmann, logrando desplazar el radioinmunoensayo (RIA), las enzimas ligadas a los anticuerpos o antígenos reemplazan a los isótopos que se usan en RIA. ELISA se explotan en el desarrollo rápido de nuevos juegos de diagnóstico, las ventajas de los métodos biotécnicos residen en su simplicidad, velocidad, sensibilidad y conveniencia. Esta última ventaja incluye capacidad de realizarlo en el consultorio o en la granja. Las pruebas de inmunodiagnóstico son de elección de perros que reciben terapéutica preventiva en forma crónica con ivermectina o moxidectina. Da resultados sobre antígenos de parásitos adultos. (3, 7)

4.10.7 ANGIOCARDIOGRAFIA.

También se ha empleado como método de diagnóstico, mediante la técnica de cámara lenta, puede seguirse la marcha del medio de contraste a través del corazón y de los pulmones, comprobándose la presencia de Dirofilaria immitis en forma de estrías manchas o estructuras reticulares del medio de contraste. (8, 9)

4.10.8 RADIOGRAFIAS.

Entre los problemas más notorios en las placas radiográficas están la Enfermedad de la Arteria Pulmonar, Enfermedad del Parénquima Pulmonar o la Neumonía Alérgica. sabiendo que las radiografías del tórax son la prueba diagnóstica más importante para determinar la gravedad de la dirofilariasis, debido a sus cambios pulmonares y cardíacos que sufren en la enfermedad los pacientes. (3, 5, 6)

Las radiografías del tórax son útiles para demostrar ensanchamiento del ventrículo derecho y arteria pulmonar, así como la enfermedad del parénquima; los cambios se desarrollan pronto, después de la infección y parece estar relacionada con la severidad de la enfermedad. La radiografía se debe hacer a todos perros enfermos y viejos. (15)

Las posiciones descritas son: Toraco Lateral, en recumbencia lateral izquierda, Toraco DorsoVentral, con recumbencia esternal; radiograficamente no hay cambios patognomónicos, más bien se evalúa la severidad de la enfermedad. (15)

4.10.9 PATOLOGIA CLINICA.

No existe ninguna lesión patognomónica para la infestación por dirofilaria. La eosinofilia y basofilia son las anormalidades más comunes en perros; la leucocitosis neutrofilica con desviación a la izquierda ocurre con tromboembolia pulmonar. Hay azoemia prerenal por deshidratación y la ICC derecha, puede haber daño hepático con aumento de ácidos biliares y

enzimas sanguíneas. La proteinuria es más notoria en pacientes con amiloidosis renal. La hemoglobinuria junto con trombocitopenia, se observan en síndrome de la vena cava y en la neumopatía tromboembólica intensa. (3)

En el caso de que los perros presentan negativo el diagnóstico de microfilarias con una prueba positiva de anticuerpos de microfilarias constituyen una clara indicación de la enfermedad provocada por el gusano del corazón. El levamisol el yoduro de ditiazanina, los organofosforados, pueden limpiar la sangre y eliminar las microfilarias, por lo que influyen en resultados de los exámenes de sangre. La eosinofilia, basofilia, monocitosis son comunes en la dirofilariasis; mientras que la proteína plasmática es de 5-6 g/dl en perros con la enfermedad.(8).

4.10.10 ELECTROCARDIOGRAFIA.

La electrocardiografía es útil en animales con enfermedad grave, especialmente para evaluar arritmias, en perros con hipertensión pulmonar notable es común un patrón de hipertrofia ventricular derecha y se encuentra casi en 90% de los perros con ICC derecha franca. Perros con infestaciones notables se altera el ritmo cardiaco, la fibrilación auricular es lo más común, más en razas grandes. (6)

La hipertrofia ventricular derecha, así como las arritmias pueden ser detectadas en perros con dirofilarias severas. El diagnóstico electrocardiográfico de la hipertrofia ventricular derecha, parece coincidir con la insuficiencia cardíaca congestiva, esta prueba es muy útil en el perro con insuficiencia cardíaca congestiva, tolerancia disminuida al ejercicio y dilatación severa del ventrículo derecho en la radiografía. (7)

4.10.11 ULTRASONOGRAFIA.

Puede verse agrandamiento ventricular derecho mediante ultrasonografía de modo M y bidimensional (2-D) en pacientes con hipertensión pulmonar grave. Los parásitos se ven en ventrículo derecho y arteria pulmonar principal durante la ultrasonografía . (3)

4.11 "TRATAMIENTO"

El objetivo del tratamiento es eliminar todas las dirofilarias adultas con un adulticida y todas las microfilarias con un microfilaricida, y lograr esto con un mínimo de toxicidad por los fármacos y un grado tolerable de tromboembolia pulmonar debido a los parásitos muertos.(3)

La filariasis humana se combate mediante el control masivo de artrópodos vectores, con insecticidas que han demostrado que ser muy efectivos.(1)

4.11.1 SELECCIÓN DEL PACIENTE.

Aunque en la mayoría de los perros infectados con dirofilaria pueden ser tratados con éxito, existen excepciones. La terapéutica adulticida en gatos no se utiliza. La experiencia es limitada en el tratamiento de perros viejos, las dirofilarias no son progresivas en perros viejos que tienen infestaciones crónicas con carga baja de parásitos. La terapéutica sola con aspirina es una alternativa razonable. (3)

4.11.2 TERAPEUTICA QUIRURGICA.

La extracción quirúrgica de los vermes se ha propuesto como medio para evitar la tromboembolia masiva en el corazón o los pulmones por vermes muertos, cuando previamente

ha existido terapia química o infestación masiva de vermes vivos. Entre las diferentes técnicas quirúrgicas que se mencionan están:

Arteriotomía pulmonar, usando un clamp de satinsky.

Arteriotomia pulmonar con interrupción del flujo sanguíneo del corazón, pinzando las venas cavas anterior y posterior.

Técnica de punción ventricular, que consiste en insertar unas pinzas alligator a través de la sutura de bolsa de tabaco, en la pared ventricular derecha, inmediatamente proximal a la arteria pulmonar, y extraer los nemátodos por inserciones sucesivas. No requiere la oclusión del retorno venoso del corazón.

Se ha descrito un técnica llamada aproximación media esternal al corazón con una ventriculotomía de 3 a 5 cc de longitud en la incisión, lo que da más acceso al corazón y a los vasos, y para extraer los vermes.(8, 9)

4.11.3 TERAPEUTICA ADULTICIDA.

El único agente adulticida es la Tiacetarsamida Sódica, ha sido probado ser efectivo en perros. Las medidas pretratamiento son alimentar al paciente media hora antes de la inyección para verificar la anorexia. Se examina en busca de bilirrubina, ictericia, fiebre, depresión y disnea. Se corrigen los problemas deshidratación azoemia prerenal y azoemia primaria. (NUS 40- 120 mg/dl). (5)

Se administra el fármaco (tiacertasamida Sódica) 2.2 mg/kg cada 8-15 horas intravenosa, en total de 4 inyecciones. Se inyecta cada una en venas periféricas lo más distales posibles. Eliminar la posibilidad de extravasación en cada caso evaluado previamente con la inyección de solución salina. No utilizar catéteres intravenosos debido a que contribuyen a flebitis y rotura de las venas y tienden a causar una falsa sensación de seguridad, no aplicar varias inyecciones en el mismo sitio.(1)

El almacenaje de la Tiacetarsamida debe ser en el refrigerador y desecharlo si tiene color amarillento o precipitados y nunca administrarlo en pacientes con Insuficiencia Hepática, Síndrome Nefrótico, Insuficiencia Renal Avanzada, Combinación de ICC derecha y Azoemia intensa, trastornos que pongan en peligro la vida del paciente como Cáncer Metástasico. (3, 9)

La persistencia de parásitos adultos hembras, después de la terapéutica adulticida se debe sospechar cuando existe presencia de las microfilarias en el torrente sanguíneo; diciendo que el tratamiento adulticida es ineficaz, por lo que se debe repetir. (3)

4.11.4 MEDICAMENTOS COADYUVANTES EN TERAPEUTICA ADULTICIDA.

Aspirina, reduce las lesiones arteriales pulmonares y mejora el flujo sanguíneo intrapulmonar; en perros con enfermedad grave se administra 5mg/kg cada 24 horas, iniciando 15 días antes de la terapia adulticida y continuando 30 días después. (8,12)

Los Corticosteroides reducen la enfermedad en el parénquima pulmonar pero la exacerban en la arteria pulmonar.

4.11.5 TERAPEUTICA MICROFILARICIDA.

Siempre se debe completar la terapia adulticida para empezar con la microfilaricida; la Ivermectina es el fármaco más efectivo contra las microfilarias y no presenta complicaciones y es el más fácil de usar.

La Ivermectina se administra 50mg/kg en dilución 1:9 con propilen glicol, en dosis de 1ml/20Kg. Se debe dar 4 semanas después del tratamiento adulticida, se administra por la mañana y se observa al paciente en todo el día para ver si hay signos de intoxicación como vómito, depresión, diarrea y alteraciones hemodinámicas, si se sospecha de inestabilidad

cardiovascular, se administra solución Ringer Lactato 20ml/kg, con un corticosteroide soluble (Dexametasona).

Se realiza el examen de concentración de filarias a las 3 semanas, si es positivo se repite el protocolo de Ivermectina, lo que indica la posibilidad de que exista gusanos adultos por lo que se necesita repetir la dosis adulticida de la terapéutica. Si es negativo se indica terapia profiláctica. (3, 6).

El Oxido de Mibemicina es una agente microfilaricida pero no se debe usar para esta enfermedad, ni tampoco la terapéutica microfilaricida en ausencia de microfilarias. (6).

4.12 " PREVENCIÓN Y CONTROL "

Las medidas preventivas son determinar, por medio de la detección, cuáles son los vectores o vector; identificar la hora y lugares donde se alimentan, localizar sus criaderos. Si el vector pica en la noche, se debe combatir a los mosquitos adultos por medio de rociamiento de los edificios con un insecticida de acción residual adecuado y uso de tela metálica en las casas y mosquiteros, así como repelentes de insectos. También se deben eliminar los pequeños criaderos como neumáticos viejos, cáscara de los cocos Etc. Controlar al vector con larvicidas biodegradables y educar al público sobre el modo de transmisión y los métodos de control de mosquitos. (2, 9)

El control de los vectores es el procedimiento fundamental; en zonas de alta edemicidad es esencial la evaluación precisa de la bionomía de los mosquitos vectores, la prevalencia e incidencia de la enfermedad y los factores ambientales causantes de la transmisión en cada localidad. (2)

El Dietilcarbamicina 3mg/kg es un fármaco inyectado diariamente profiláctico eficaz. Si el dueño deja de administrarlo 2 días seguidos no se debe reiniciar el tratamiento preventivo antes de realizar un examen de concentración de microfilarias. Su vida de acción es corta debido a que afecta mudas L3 y L4 a 9-12 días después de la infección. (6)

Se inicia la aplicación antes de la temporada del mosquito y se continúa 1 mes después de la primera helada, y nunca iniciar el tratamiento con perros con dirofilaremia, ya que puede desarrollarse reacción anafiláctica. La combinación de Dietilcarbamicina con Oxibendazol, es un producto popular en regiones donde las helmintiasis intestinales son prevalentes; un efecto colateral ocasional del oxibendazol se caracteriza por aumento de la actividad de las enzimas hepáticas, ictericia e insuficiencia hepática. (3, 6)

La Ivermectina 5-6 Mcg/kg mensualmente, es un fármaco eficaz preventivo; si se olvida el tratamiento un mes se puede reiniciar sin ningún problema. Una fórmula masticable de Ivermectina y Pamoato de Pirantel es un preventivo efectivo contra dirofilariasis que también actúa contra uncinaria y ascarides. La administración crónica de Ivermectina suprime las microfilarias en perros positivos pero no mata al parásito adulto, y es efectivo en collie cuando se usa como dice la instrucción. (3).

El Oxido de Mibemicina 0.5 - 0.9mg /kg es un medicamento eficaz como preventivo de dirofilaria en perros y gatos, dándose mensualmente; también controla uncinariasis, ancilostomas, tricuros y toxócaras.

La Moxidectina 1- 3 mg/kg es un preventivo eficaz, de administración una vez al mes.

Todos los fármacos preventivos pueden matar microfilarias. Por esta razón la administración crónica puede originar infestaciones ocultas no microfilarémicas.(3)

V." MATERIALES Y METODOS"

5.1 " DESCRIPCIÓN DEL AREA DE TRABAJO"

El presente trabajo de tesis se realizó en el municipio de Champerico, Departamento de Retalhuleu, Guatemala.

El departamento de Retalhuleu posee una población de 19,345 habitantes según el censo de 1996, su extensión territorial es de 1,856 Km cuadrados, está limitando:

Al norte con Quetzaltenango,

Al sur con Océano Pacífico,

Al Este con Suchitepéquez

Al oeste con Quetzaltenango y Departamento de San Marcos.

La mayor parte del territorio de este departamento está ubicada en la Costa Sur, por lo que es poco accidentado; el municipio de Champerico en general puede dividirse en dos zonas geográficas: la zona cercana a la costa, con alturas de 0 a 700 mts. sobre el nivel del mar, que tiene un paisaje muy plano y clima caluroso (32 grados centígrados). Siendo este municipio un puerto pesquero, con gran acumulación de aguas estancadas a la orilla del mar, por lo que es posiblemente un área de supervivencia para el mosquito vector de la dirofilariasis. La costa en sí consiste en playas de arena negra y esteros con bocabarras.

El clima es cálido, pero las lluvias son constantes. Es un área sumamente hidrificada con varios ríos, entre los que se incluyen el río Samalá, Sis, Ocos, Oc, los cuales corren hacia el sur desembocando en el Océano Pacífico, el cual es el límite sur de todo el municipio de Champerico., que también cuenta con varias lagunas costeras, como las de la Meza. .

5.2. MATERIALES.

5.2.1 RECURSOS HUMANOS:

Para la realización del presente trabajo de investigación se contó con el siguiente personal:

- El estudiante tesista.
- Asesores profesionales de los departamentos de Parasitología y Salud Pública de la USAC.
- Un médico veterinario y propietarios de clínicas veterinarias y agropecuarias ubicadas en el área de estudio.
- Personal de la Escuela Municipal de Champerico.
- Grupo de Estudiantes de Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia que dieron su colaboración al momento de tomar la muestra sanguínea.
- Propietarios de los perros.
- Técnicos de Laboratorio de parasitología de la Facultad de Veterinaria y Zootecnia.

5.2.2 RECURSOS MATERIALES:

5.2.2.1 Materiales de Campo.

- Hielera con Refrigerantes.
- Material de sujeción de perros (bozal, bastón ahorcador, lazos, pitas)

- Vehículo y gasolina.

- Bata blanca.

- Estetoscopio

- Termómetro.

- Ficha de apuntes de datos del perro.

- Ficha de resultados de la prueba.

- Tubos de ensayo sin anticoagulante.

- Jeringas desechables de 5cc.

- Formol al 2%

- Azul de metileno 1:1000

- Cinta Adhesiva.

- Algodón

5.2.2.2 Materiales de Laboratorio.

- 3 Kits de Diagnóstico de Dirofilaria (Nombre comercial, dirocheck Prueba de Elisa)

- 1 Centrífuga

- tubos de 15 ml para centrífuga.

- Porta y Cubreobjetos.
- Equipo Óptico (microscopio)
- Gradilla

5.2.3 RECURSOS BIOLÓGICOS:

- Perros para la toma de muestra.
- Suero sanguíneo de los perros.
- Sangre de los perros.

5.2.4 CENTROS DE REFERENCIA:

- Biblioteca de Facultad de Medicina Veterinaria y zootecnia. (USAC)
- Biblioteca personal del investigador.
- Departamento de Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.
- Biblioteca del INCAP.
- Asociación de Parasitología Tropical.
- Biblioteca de Facultad de Ciencias Médicas. (USAC)

VI. "METODOLOGIA"

6.1. "DISEÑO ESTADISTICO DEL ESTUDIO"

"POBLACION TOTAL DE PERROS EN EL MUNICIPIO DE CHAMPERICO DEPARTAMENTO DE RETALHULEU"

MUNICIPIO	PERROS RURALES	PERROS URBANOS	
CHAMPERICO	4,342	3,456	= 7,798 (*)

POBLACION TOTAL CANINA ES DE 7,798

" NUMERO TOTAL DE LA MUESTRA PARA ESTUDIO"

$$n = \frac{(NZ pq)}{(d (N-1) + Z pq)}$$

n= Numero total de la muestra.
Z= Confiabilidad del estudio. (1.96)
N= Numero total de la población.
p= Prevalencia.
q= 1-p. (0.5)
d= Error. (0.05)

$$n = \frac{(7798)(1.96) (0.5)(0.5)}{((0.05) (7,798-1)+1.96 (0.5)(0.5))}$$

n= 365 perros es la muestra total

(*) Instituto Nacional de Información y Documentación Estadística (INE), 2001
Consulta Personal.

"PORCENTAJE POBLACION URBANA Y RURAL POR MUNICIPIO"

POBLACION TOTAL MUNICIPIO -----100%
POBLACION URBANA MUNICIPIO----- X

% POBLACION RURAL= 100 - % POBLACION URBANA.

7,798-----100%
4,342-----X

POBLACION RURAL 55% POBLACION URBANA 45%

"MUESTRA DE POBLACION URBANA Y RURAL POR MUNICIPIO"

NUMERO TOTAL MUESTRA POR MUNICIPIO-----100%
X-----% POBLACION URBANA

MUNICIPIO	POBLACION URBANA	POBLACION RURAL
CHAMPERICO	165 perros	200 perros.

6.1.1 "ANALISIS DE DATOS"

Para el análisis estadístico de los resultados se utilizó la prueba de CHI CUADRADO, logrando relacionar la procedencia (urbana-rural) de la muestra y los métodos de diagnóstico de la enfermedad. Se uso también la prueba de COEFICIENTE DE KAPPA y Prueba para Determinar el Grado de Concordancia que existe entre los dos métodos de diagnóstico.

6.2 METODOLOGIA:

Para la realización de este estudio se estimó aleatoriamente 365 muestras de sangre y sueros de perros, los cuales fueron divididos en perros del área urbana y rural del municipio de Champerico, departamento de Retalhuleu. De las cuales 198 muestras fueron para el área rural y 167 para el área urbana.

Para la toma de la muestra se contó con la ayuda de propietarios de los animales y médicos veterinarios de clínicas veterinarias del lugar. Teniendo en cuenta que fue al inicio del día y al atardecer del día la realización del procedimiento.

Otra parte de la muestra se tomó en la Jornada Nacional de vacunación anti-rábica del municipio que fue programada para el mes de junio del año 2001, contando con la ayuda de 3 estudiantes de la Facultad de Veterinaria como voluntarios y personal de escuela municipal de Champerico, realizando la propaganda de la misma campaña mediante la radio "LA TESORITO" en todo el departamento de Retalhuleu por varios días seguidos. La recolección completa de las 365 muestras se realizó desde el mes de enero a septiembre del año 2001, siendo 9 meses de muestreo

6.2.1 METODOLOGIA DE CAMPO:

(Toma de muestras)

A. La obtención de la muestra de sangre fue en las venas safena o cefálica del perro, por medio de jeringas desechables, obteniendo 5cc.de sangre, por perro. Recolectando los datos del animal en la ficha de datos. (Anexo I).

B. La sangre se depositó en los tubos de ensayos identificados previamente, con anticoagulante y sin ningún anticoagulante, para lograr recolectar el suero y la sangre de la misma.

C. Una vez coagulada la sangre se separó el suero y se almacenó en refrigeración y/o congelación en tubos estériles.

D. Un centímetro de la sangre pura se agregó 9ml de formol al 2% para preservarla y trasladarla al laboratorio.

E. Los tubos estériles tuvieron que ser identificados previamente, para evitar errores; un tubo contenía sangre con su preservante y el otro tubo suero sanguíneo del mismo animal.

F. Toda muestra identificada fue transportada en refrigeración al laboratorio de Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, donde se realizó la prueba de laboratorio con el Kit de Diagnóstico ELISA y el método comparativo de KNOTT.

6.2.2 METODOLOGIA DE LABORATORIO:

(Procesamiento de la muestra)

6.2.2.1 Prueba Serológica (ELISA)

En una placa de microtitulación, tubo de ensayo o placas especiales, se colocó el antígeno apropiado, luego se colocó el suero del paciente a investigar, sobre el mismo antígeno mencionado. Si en el suero existen anticuerpos, estos se unieron al antígeno conocido; en esta etapa pueden usarse varias diluciones del suero para determinar la titulación de ELISA.

Posteriormente, se agregó sobre la unión antígeno-anticuerpo un conjugado, con el que se obtiene una nueva unión. antígeno-anticuerpo-conjugado.

Para visualizar si realmente ha ocurrido esas uniones en los componentes se agrega un sustrato, el cual reacciona con la enzima presente en el conjugado, produciendo un color, lo que indica la presencia de anticuerpos, luego el resultado de la prueba se lee con un instrumento llamado lector de ELISA. El aparato puede simplemente registrar el punto en que una preparación puede ser considerada positiva y negativa por el color que resulta.

La variación del color está correlacionada con la concentración de anticuerpos en el suero problema, por lo que es una desventaja de la prueba; y se debe a que ELISA no indica si los anticuerpos son seroneutralizadores. Su poder de predicción no es tan exacto como la prueba de seroneutralización.

6.2.2.2 Procedimiento.

- A. Este estudio de laboratorio fue realizado por el estudiante interesado y los profesionales del departamento de Parasitología de la universidad.

- B. A todos los sueros se les realizó la prueba de Elisa (ensayo inmunoabsorbente de unión enzimática) con el kit de diagnóstico utilizado.

- C. El procedimiento se realizó según las instrucciones del Kit de diagnóstico, el cual es muy sencillo de utilizar.

- D. Los resultados fueron anotados en la ficha de resultados, ya sean positivos a la enfermedad o negativos a la misma, dando así los resultados del estudio. (Anexo II)

- E. Se Realizó por último los cálculos matemáticos para la presentación de resultados de la investigación.

6.2.2.3 Método de Knott.

Con el Método de Knott se conocen las larvas que se encuentran en la sangre circulante y que corresponden a los parásitos de la familia Filaridae, que afectan a los animales domésticos y al hombre. Este método se utiliza para el diagnóstico de estos nemátodos como para el género Dirofilaria immitis y Dipetalonema sp. que parasitan a los carnívoros. (4)

Es recomendable muestrear a los animales en las primeras horas del día o al final del día, ya que es la hora en que las microfilarias están en mayor circulación dentro del cuerpo. Para la preparación de la muestra se utilizó formol 2% y azul de metileno 1:1000, obteniendo un centímetro de sangre de la vena safena o radial del canino.

Se deposita el centímetro de sangre obtenido en un tubo de centrifuga que contenga 9ml de formol al 2%, luego se centrifuga la muestra a 1500 rpm durante 5-10 minutos, después se decanta el líquido sobrenadante y al sedimento se le agrega 1-2 gotas de azul de metileno, se homogeniza y coloca una pequeña cantidad en un portaobjetos, para ser observado en el microscopio a 100X o 450X.

Las larvas de *Dirofilaria* se diferencian con las de *Dipetalonema* en que son de mayor tamaño, menos curvas, y no tienen ningún crecimiento en pulgas y *Anopheles quadrimaculatus*.

La larva de *dirofilaria* su tamaño es de 307-322micras de largo y 6.7 - 7.1 micras de ancho, su cola es más o menos recta, mientras que *Dipetalonema* su tamaño es de 269-288 micras largo y 4.3-4.8 ancho., su cola es de forma de gancho. (4)

VII. “RESULTADOS Y DISCUSION”

Se muestreó un total de 365 perros en forma aleatoria, para la obtención de sueros sanguíneos y muestras de sangre, en el municipio de Champerico, departamento de Retalhuleu, Guatemala, para determinar mediante la Prueba de ELISA y el Método de KNOTT la prevalencia con ambos métodos de *Dirofilariasis Canina*.

De un total de 365 muestras, 10 resultaron positivas con el Método de ELISA, dando una prevalencia de 2.73%, de las cuales 9 pertenecen al área rural y 1 pertenece al área urbana del municipio de Champerico. Logrando observar que existe una mayor proporción de reactores positivos al Método de ELISA en los perros del área rural del municipio (4.54%), teniendo una diferencia estadísticamente significativa con relación a los perros del área urbana (0.60%) del municipio. (ANEXO III).

Mientras que con el Método de KNOTT, 3 muestras resultaron positivas, dando una prevalencia de 0.83%, de las cuales 2 pertenecen al área rural y 1 pertenece al área urbana del municipio de Champerico. Pudiendo observar que no hay una diferencia significativa entre los reactores positivos del área urbana (0.60%) como rural (1.01%) del municipio. (ANEXO III).

Los datos encontrados con el Método de ELISA y el Método de KNOTT fueron analizados con la Prueba de Coeficiente de Kappa (0.45), que indica una buena concordancia entre ambos métodos de diagnóstico. Siendo confirmada estadísticamente con la Prueba de Determinación del grado de Concordancia (6.75), que nos da alta significancia con confiabilidad del 99% en la concordancia de ambos métodos, por lo que son equivalentes. (ANEXO IX).

VIII. “CONCLUSIONES”

- 1- La prevalencia de *Dirofilariasis Canina* en el municipio de Champerico, Retalhuleu, Guatemala, con el Método de ELISA es de 2.73%, mientras que con el Método de KNOTT 0.83%.

- 2- Se pudo observar que existe significancia entre la distribución de la muestra (Urbano-Rural) de los perros y el resultado del Método de ELISA.

- 3- La *Dirofilariasis Canina* se presenta más en el área rural que en el área urbana del municipio de Champerico Retalhuleu.

- 4- La concordancia es altamente significativa entre el Método de ELISA y el Método de KNOTT, en el diagnóstico de *dirofilariasis canina*; teniendo una buena congruencia con confiabilidad del 99%.

IX. “RECOMENDACIONES”

- A- Utilizar el Método de ELISA para el diagnóstico de *Dirofilariasis Canina* en las áreas endémicas de esta enfermedad.

- B- Realizar nuevos estudios sobre *Dirofilariasis Canina* en nuestro país, incluyendo la determinación de la sensibilidad y especificidad de la prueba de ELISA, debido a que puede llegar a ser una zoonosis importante para nuestra población.

- C- Divulgar la presente investigación a Instituciones y Departamentos Gubernamentales y no Gubernamentales donde se realice este tipo de diagnóstico, para mejorar y tecnificar sus resultados.

X. “RESUMEN”

En el presente estudio de investigación se realizó un muestreo simple aleatorio de 365 perros, para obtención de suero sanguíneo y muestras sanguíneas, provenientes de perros del municipio de Champerico, Departamento de Retalhuleu, Guatemala.

Con las muestras sanguíneas se realizaron dos métodos de diagnóstico para *Dirofilariasis* canina, Método de ELISA y el Método de KNOTT, para determinar la relación que existe en el diagnóstico de la enfermedad con ambos métodos, como la prevalencia de *Dirofilariasis* en el municipio, tanto en el área rural como urbana.

Los resultados obtenidos en el estudio fueron: una prevalencia de *Dirofilariasis* Canina de 2.73% con el Método de ELISA para todo el municipio de Champerico y 0.83% con el Método antiguo de KNOTT, señalando que todos los reactores positivos de método de KNOTT, fueron también reactores positivos con la Prueba de ELISA

Mientras que con el análisis estadístico de la prueba de CHI cuadrado, pudimos concluir que la *Dirofilariasis* canina se presenta más en el área rural que en el área urbana del municipio. Con la prueba de Coeficiente de Kappa y Determinación del grado de concordancia se puede concluir que existe alta significancia y buena congruencia entre ambos métodos de diagnóstico de la enfermedad.

XI. "ANEXOS"

ANEXO I.

BOLETA DE REGISTRO DE MUESTRAS

DATOS DE LA MUESTRA

NO. MUESTRA _____

FECHA _____

HORA DE RECOLECCION _____

NOMBRE DUEÑO _____

ALDEA
CASERIO
FINCA
COLONIA _____

RURAL _____ **URBANA** _____

NOMBRE PERRO _____

EDAD _____

SEXO _____

RAZA _____

ANEXO II.

BOLETA DE REGISTRO DE RESULTADOS DE MUESTRA

NO. MUESTRA _____

FECHA MUESTREO _____

NOMBRE DUEÑO _____

NOMBRE PERRO _____

ALDEA _____

METODO KNOTT		PRUEBA ELISA	
POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO

ANEXO III

RESULTADOS CON EL METODO DE ELISA EN SUEROS DE PERROS, SEGÚN PROCEDENCIA EN EL MUNICIPIO DE CHAMPERICO RETALHULEU, GUATEMALA 2001

Proceden / Reacción	Positivos	%	Negativos	%	TOTALES
Área Rural	9	4.5	189	95.5	198
Área Urbana	1	0.6	166	99.4	167
TOTALES	10	2.7	355	97.3	365

RESULTADO DE CHI CUADRADO 5.30

CHI CUADRADO = $P < 0.05$

SIGNIFICANCIA = 0.05

RESULTADOS CON EL METODO DE KNOTT EN MUESTRAS SANGUINEAS DE PERROS, SEGÚN PROCEDENCIA EN EL MUNICIPIO DE CHAMPERICO RETALHULEU, GUATEMALA 2001

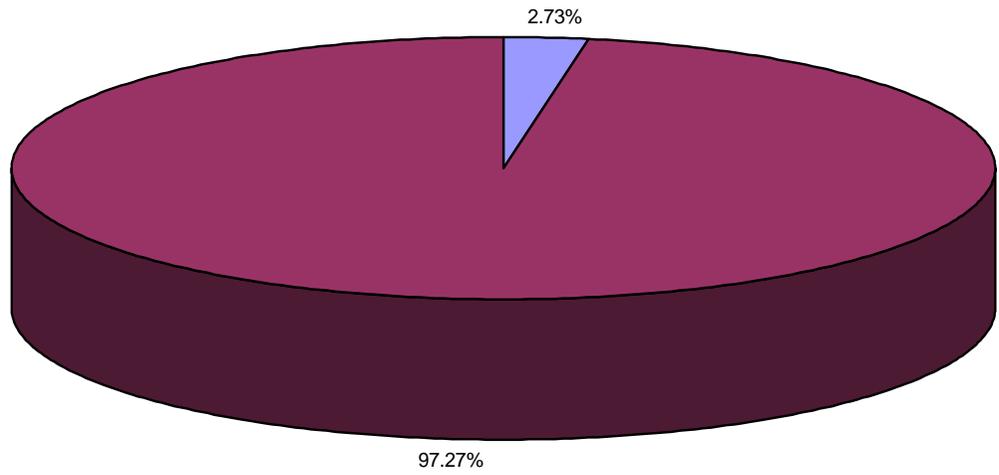
Proceden / Reacción	Positivos	%	Negativos	%	TOTALES
Área Rural	2	1.0	196	98.9	198
Área Urbana	1	0.6	166	99.4	167
TOTALES	3	0.8	362	99.2	365

RESULTADO DE CHI CUADRADO 0.19

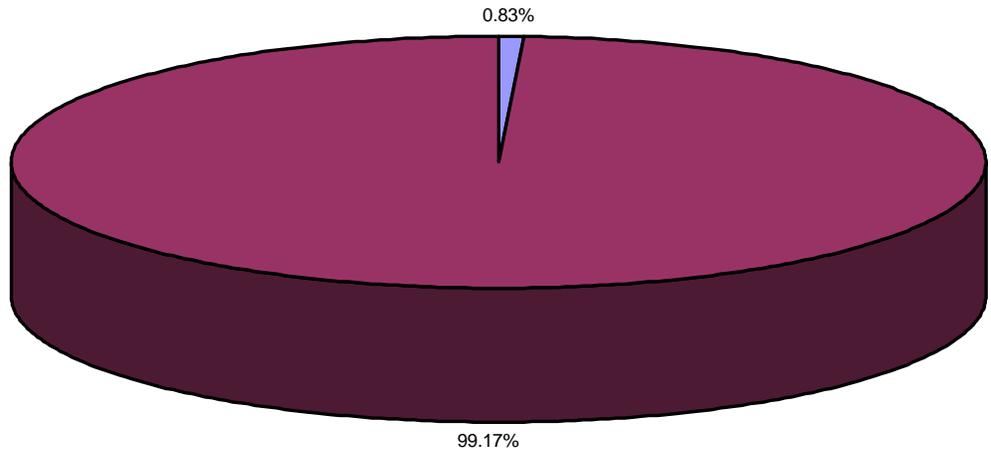
CHI CUADRADO = $P > 0.05$

SIGNIFICANCIA = 0.05

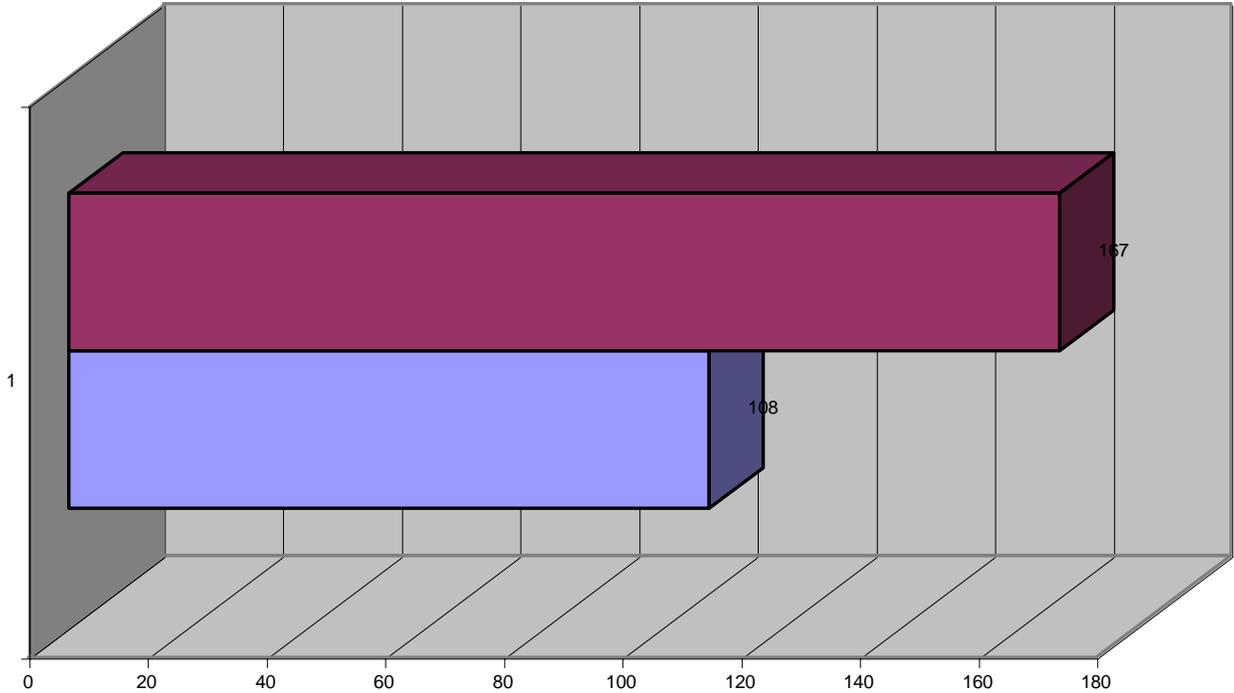
PREVALENCIA DE DIROFILARIASIS CANINA CON METODO ELISA EN EL MUNICIPIO DE CHAMPERICO
RETALHULEU, 2001



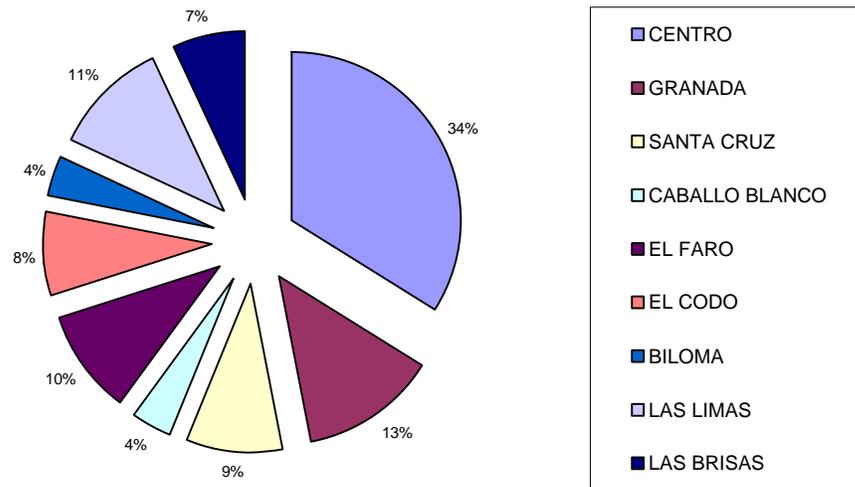
PREVALENCIA DE DIROFILARIASIS CANINA CON METODO DE KNOTT EN EL MUNICIPIO DE CHAMPERICO RETALHULEU, 2001



CLASIFICACION DE LA MUESTRA POR AREA DE TRABAJO, EN EL MUNICIPIO DE CHAMPERICO RETALHULEU



SEPARACION DE LA MUESTRA TRABAJADA POR ALDEAS DEL MUNICIPIO DE CHAMPERICO RETALHULEU



ANEXO IX

METODO KNOTT

RESULTADOS	POSITIVOS	NEGATIVOS	TOTALES
POSITIVOS	3	7	10
NEGATIVOS	0	355	355
TOTALES	3	362	365

METODO ELISA

“COEFICIENTE DE KAPPA O COHEN DE KAPPA”

$$CK = \frac{CO - CE}{1 - CE}$$

$$CO = \frac{a + d}{T}$$

$$CE = \frac{((a+b)(a+c)) + ((c+d)(b+d))}{T}$$

$$CK = 0.45$$

EXCELENTE CONCORDANCIA SI $CK > 0.75$

BUENA CONCORDANCIA SI $0.4 < CK < 0.75$ (*)

POCA CONCORDANCIA SI $CK < 0.4$

“PRUEBA PARA DETERMINAR GRADO CONCORDANCIA”

$$CO = \frac{CK}{S(k)}$$

$$CO = 6.75$$

(*) Epidemiology Study Design and Data Analysis, Mark Woodmard; 1999, Pag 91.

XI. "BIBLIOGRAFIA"

- 1- ACHA, P.N; SZYFRES, B. 1986. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. 2 ed. Washington, D.C., OMS/OPS. 987 p.
- 2- BENENSON, A.S. 1978. El control de las enfermedades transmisibles en el hombre. 12 ed. Washington D.C., OMS / OPS. 406 p.
- 3- BIRCHARD, S.J; SHERDING, R.G. 1996. Manual clínico de pequeñas especies. Trad. por Socorro Lara Diaz. México D.F., McGraw-Hill. v. 2 1747 p.
- 4- BLOOD, D.C.; RADOSTITS, O.M. 1992. Medicina veterinaria. Trad. por Isabel Bergára Morilla. 7 ed. México D.F., Interamericana. 634 p.
- 5- BORCHERT, A. 1964. Parasitología veterinaria. Trad. por Miguel Cordero del Campillo. Zaragoza, Esp., Acribia. 745 p.
- 6- CHIQUIN LOPEZ, J.H. 1988. Prevalencia inicial de dirofilaria immitis y dipetalonema spp. en el área central del departamento del Petén. Tesis Med. Vet. Guatemala, Universidad San Carlos de Guatemala, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. 43 p.
- 7- EL MANUAL merck de veterinaria: Un manual de diagnóstico, tratamiento, prevención y control de enfermedades para el veterinario. Ed. por Clarence M. Fraser. 4 ed. Barcelona, Esp., Océano. 2020 p.
- 8- FENNER, W.R. 1989. Medicina veterinaria de perros y gatos. Trad. por Humberto Aceves López. México D.F, Noriega. 672 p.
- 9- KIRK, R.W. 1970. Terapéutica veterinaria: Práctica clínica en pequeños animales. México, D.F, Continental. 1172 p.
- 10- LAPAGE, G. 1979. Parasitología veterinaria. Trad. por Roberto Carrasco. México, D.F, Continental. p. 199-206.
- 11- MEHLHORN, H.; DIIWEL, D.; RAETHER, W. 1993. Manual de parasitología veterinaria. Bogotá, Col., Grass iatros. 436 p.
- 12- QUIROZ ROMERO, H. 1986. Enfermedades parasitarias de los animales doméstico. México D.F, Lumisa. 876 p.
- 13- RUNNELS, R.A.; MONLUX,W.S.; MONLUX,A.W. 1982. Principios de

patología veterinaria. México D.F., Continental. 861 p.

- 14-** SOULSBY, E. J.L. 1987. Parasitología y enfermedades parasitarias en animales domésticos. Trad. por Antonio R. Martínez. 7 ed. México D.F., Interamericana p. 113-115.

- 15-** WEST, G. 1993. Diccionario enciclopédico de veterinaria. Trad. por Felix Pérez Barcelona, Esp, Iatros Ediciones 683 p.