

UNIVERSIDAD DE PANAMÁ

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA

ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA

TÍTULO DEL TRABAJO:

PRESENCIA DE *Dirofilaria immitis* EN COYOTES (*Canis latrans*) EN
LA REPÚBLICA DE PANAMÁ

AUTOR:

MAYA SELENE JIMÉNEZ GONZÁLEZ

9-753-1633

TUTORA:

DRA. CLAUDIA RENGIFO

REPÚBLICA DE PANAMÁ

2024

PRESENCIA DE *Dirofilaria immitis* EN COYOTES (*Canis latrans*) EN
LA REPÚBLICA DE PANAMÁ

TRABAJO DE GRADUACIÓN PARA OPTAR POR EL TÍTULO DE
DOCTOR EN MEDICINA VETERINARIA

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA

PERMISO PARA SU PUBLICACIÓN, REPRODUCCIÓN TOTAL O
PARCIAL DEBE SER OBTENIDA DE LA FACULTAD DE MEDICINA
VETERINARIA

APROBADO:

DRA. CLAUDIA RENGIFO
ASESORA

AGRADECIMIENTO

A mis padres que han sido mi fortaleza y desde pequeña me han brindado todo su amor y apoyo incondicional.

A mi hermano que ha sido mi guía y ha estado siempre para ayudarme y apoyarme.

A la Doctora Claudia Rengifo quien me planteó la idea sobre realizar este estudio, y gracias a sus consejos y enseñanzas, ha sido mi inspiración y guía a lo largo de este proyecto.

A mis niñas Yuki, Princesa y Mochi quienes han sido mi motivación para seguir adelante y nunca rendirme.

A mis compañeros y amigos que siempre han estado para mí en cualquier situación que se me presente.

De igual manera, agradezco a todas las personas que apoyaron he hicieron posible que este estudio se llevara a cabo.

DEDICATORIA

Para Mandy quien fue mi leal compañera durante 13 años.

RESUMEN

La enfermedad del gusano del corazón de los caninos es causada por la *Dirofilaria immitis*, un parasito que afecta a los canidos tanto silvestres como domésticos, perjudicando la salud de las especies afectadas. Con miras a realizar aportes al conocimiento sobre las enfermedades que afectan a la fauna silvestre en Panamá, se realizó un estudio enfocado en determinar la presencia de la *D. immitis* en coyotes de distintas áreas de la República de Panamá. Para ello, se capturaron coyotes en sitios preestablecidos utilizando trampas Tomahawk y de pie suave. En total se capturaron ocho coyotes de vida libre, de los cuales seis fueron capturados en Santiago de Veraguas, uno en la zona de amortiguamiento del Parque Nacional Camino de Cruces y otro en el Parque Nacional Cerro Ancón. En el estudio se incluyeron tres coyotes en cautiverio, ubicados en un zoológico en el Valle de Antón, provincia de Coclé. Del total de animales estudiados, uno resulto positivo a *D. immitis*, representando una prevalencia del nueve por ciento, y correspondió a uno de los coyotes en cautiverio. Estos resultados nos permiten concluir que la *D. immitis* es un parasito que puede estar presente en coyotes, aunque no se haya podido evidenciar su presencia en poblaciones silvestres; aun así, debería ser considerada esta especie al momento de estudiar la epidemiología de la Dirofilariasis en diferentes entornos.

INDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA A INVESTIGAR.....	3
1.2 ANTECEDENTES	5
1.3 JUSTIFICACIÓN	8
1.4. OBJETIVOS.....	11
1.4.1 Objetivo General.....	11
1.4.2 Objetivos Específicos	11
1.5. HIPÓTESIS.....	11
1.6 ALCANCES Y LIMITACIONES DEL ESTUDIO	12
1.6.1 Alcances	12
1.6.2 Limitaciones	12
2. REVISIÓN DE LITERATURA.....	13
2.1 EL COYOTE (<i>Canis latrans</i>).....	13
2.1.1 Distribución.....	13
2.1.2 Ecología.....	14
2.1.3 Importancia de los canidos silvestres como especies centinelas.....	15
2.2 <i>Dirofilaria immitis</i>	16
2.2.1 Taxonomía y Morfología	16
2.2.2 Ciclo biológico.....	19
2.2.2.1 Características del mosquito vector	19
2.2.2.2 Fases Larvarias.	20
2.3 EPIDEMIOLOGÍA.....	22
2.3.1 Hospedadores Definitivos.....	22
2.3.2 Hospedadores Intermediarios	23
2.3.2.1 <i>Anopheles</i>	23
2.3.2.2 <i>Culex</i>	24
2.2.2.4 <i>Aedes</i>	24
2.3.3 Factores de Riesgo relacionados con el Vector	25
2.3.4 Prevalencia en caninos domésticos y silvestres	25
2.3.5 Factores Ambientales.....	26
2.3.6 Distribución Geográfica	27

2.4 FISIOPATOLOGÍA.....	28
2.5 SÍNDROMES CAUSADOS POR LA <i>DIROFILARIA</i>	28
2.5.1 Cor Pulmomale	28
2.5.2 Dirofilariosis Oculta.....	30
2.5.3 Endocarditis Pulmonar Proliferativa	31
2.5.4 Hipertensión Pulmonar	32
2.5.5 Hipertrofia e insuficiencia cardiaca derecha.....	33
2.5.6 Alteración del Parénquima Pulmonar	34
2.5.7 Neumonitis Alérgica.....	35
2.5.8 Tromboembolismo Pulmonar	36
2.5.9 Síndrome de la Vena Cava.....	37
2.5.10 Alteraciones Renales.....	38
2.6 SIGNOS CLÍNICOS	38
2.7 DIAGNÓSTICO	40
2.7.1 Examen físico	41
2.7.2 Observación de microfilarias vivas.....	41
2.7.2.1 Técnica de Gota gruesa	41
2.7.2.2 Método del Microcapilar	42
2.7.3 Técnicas de Concentración.....	42
2.7.3.1 Método de Filtración	43
2.7.3.2 Test de Knott Modificado	43
2.7.4 Pruebas inmunodiagnosticas: ELISA	44
2.7.4.1 Prueba de Detección de Anticuerpos	44
2.7.4.2 Prueba de Detección de Antígenos.....	45
2.7.5 Radiología	45
2.7.6 Angiografía y Ultrasonografía	46
2.7.7 Patología Clínica.....	46
2.7.8 Necropsia	47
2.8 TRATAMIENTO	48
2.8.1 Terapia Adulticida y Microfilaricida.....	48
2.8.2 Terapia “Moxi-Doxy”	52
2.9 IMPORTANCIA PARA LA SALUD PÚBLICA.....	53

3. MATERIALES Y METODOS.....	54
3.1 MATERIALES	54
3.1.1 Materiales de campo	54
3.1.2 Materiales de captura	54
3.1.3 Material para toma de muestras	55
3.1.4 Materiales de laboratorio	55
3.1.5 Medicamentos	56
3.2 METODOS.....	56
3.2.1 Lugar del estudio	56
3.2.2 Captura y marcaje de coyotes.....	57
3.2.3 Toma de muestra	58
3.2.4 Análisis de las muestras	59
3.2.4.1 Observación Mediante Técnica de Gota Gruesa	59
3.2.4.2 Prueba de Detección de Antígenos	59
3.2.4.2.1 Procedimiento	59
3.2.5 Parámetros a evaluar	60
3.2.6 Análisis de datos	60
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	61
4.1 RESULTADOS	61
4.2 DISCUSIÓN	66
5. CONCLUSIONES.....	79
6. RECOMENDACIONES	79
7. REFERENCIAS CITADAS	79

1. INTRODUCCIÓN

El coyote (*Canis latrans*) es una especie de cánido perteneciente a la misma familia de los lobos y los zorros (*Canidae*). Esta especie se identifica en el medio natural por su peculiar aullido nocturno. Es un animal que se adapta con bastante facilidad al entorno, por lo que se ha podido encontrar en Norte y Centroamérica. Recientemente se ha descrito en Suramérica; por lo que se puede decir que su distribución va desde Canadá hasta Colombia. Habitan en una gran diversidad de ecosistemas, desde tropicales, hasta templados y áridos, viviendo en soledad, aunque a veces se pueden encontrar parejas monógamas o varios individuos juntos, llegando a convivir en manadas. Su hábitat es muy variado, puede ser áreas abiertas y a horillas de los bosques, en tierras agrícolas, y algunas veces en áreas urbanizadas, incluyendo ciudades. Pueden sobrevivir en entornos cambiantes, por lo que se pueden considerar animales muy adaptables (Ashbaugh, 2021).

Los coyotes miden menos de 60 centímetros de altura y pesan entre 10 y 15 kilogramos. Tienen cierto parecido a los lobos, aunque son de menor tamaño, por lo que suelen ser conocidos como lobos de las praderas. Se alimentan de pequeños mamíferos como conejos, ardillas y ratones. Ocasionalmente comen pájaros, víboras, insectos grandes y otros animales, aunque al ser omnívoros se pueden adaptar a cualquier alimento disponible en la zona (Ashbaugh, 2021). Esto le permite tener un papel ecológico de suma importancia dentro de los ecosistemas, siendo capaces de controlar poblaciones de especies que afectan la industria alimentaria (roedores, conejos, liebres e insectos) o aquellos animales

que representan una amenaza para el hombre (víbora de cascabel). Es también capaz de alimentarse de carroña, regulando a depredadores como zarigüeyas y mapaches, por eliminación directa y exclusión competitiva (Ramírez Albores, 2013). Se ha descrito igualmente como una potencial amenaza para otras especies de carnívoros que compiten por los mismos recursos (comida, espacio y refugio), como es el caso del puma (*Puma concolor*), el jaguar (*Panthera onca*), y otras especies de felinos como los tigrillos (*Leopardus wiedii*, *L. tigrinus* y *L. pardalis*) (Castaño, 2017).

La Dirofilariasis canina, también conocida como la enfermedad del gusano del corazón, es una parasitosis producida por la *Dirofilaria immitis*, que afecta a caninos tanto domésticos como silvestres, así como también a felinos y a los humanos. Es transmitido por mosquitos de los géneros *Aedes*, *Anopheles* y *Culex*. Entre los principales factores que condicionan la dispersión de la *D. immitis*, se pueden considerar la temperatura y la humedad como aquellos relacionados al ambiente. Entre los relacionados con el vector, tenemos la densidad de los mosquitos y entre los factores relacionados con el huésped, la presencia de huéspedes definitivos, donde el parásito es capaz de completar su ciclo biológico y reproducirse (Sánchez, 2011).

La *D. immitis* tiene una amplia distribución geográfica, encontrándose principalmente en zonas tropicales y subtropicales, donde las condiciones ambientales son ideales para el desarrollo del vector, permitiendo así completar su ciclo de vida e infectar a mamíferos. (Sánchez, 2011). En Panamá, algunos estudios han revelado la presencia de este agente, afectando a canidos

domésticos; sin embargo, no hay referencia que indique su relación con otras especies animales, aun sabiendo la diversidad biológica que posee el país, en la que se incluyen varias especies susceptibles como los zorros, coyotes, perros, gatos, hurones, caballos, mapaches y ocelotes (Dantas et al., 2013).

Otro aspecto relevante sobre la *Dirofilariasis* es su importancia en la Medicina Veterinaria, considerando que especies como los perros domesticos, incluyendo los callejeros, y los animales silvestres como coyotes, lobos y zorros pueden ser portadores del agente etiológico y ser afectado por él. En este sentido, los mosquitos juegan igualmente un rol significativo en su diseminación, siendo capaz de arrastrarse por grandes distancias en el viento. Estos mosquitos, junto con la movilización de los animales infectados contribuyen a la propagación de la enfermedad. Finalmente, como último aspecto a resaltar es su importancia como enfermedad zoonótica emergente, representando un riesgo relativamente grave para las personas y los animales. A pesar de la expansión de la enfermedad, parece que no se le ha dado la importancia que se requiere (American Heartworm Society, 2014).

1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA A INVESTIGAR

Conforme la población humana se expande, junto a sus mascotas y animales domésticos, hacia los hábitats silvestres, aumenta el potencial de transmisión de patógenos comunes en entornos domésticos a los silvestres y viceversa (Kruse et al., 2004). Las interacciones entre la salud humana y animal no son una

novedad, por lo que resulta fundamental conocer la existencia de aquellos agentes infecciosos que circulan en los diferentes entornos, sobretodo los que tienen potencial zoonótico,. El alcance, magnitud y repercusiones mundiales de las enfermedades zoonóticas que se enfrentan actualmente no tienen precedentes históricos, y se debe tener presente que la lucha contra éstas comienza por el control del agente patógeno en su fuente animal (Vallat, 2004).

La *Dirofilariasis* es una enfermedad que, por lo general, afecta a los canes entre tres y seis años, no existiendo registros de su afección a perros con edad menor a un año, ni en mayores de diez años. Curiosamente, se ha visto una mayor afectación en machos de pelo corto, de modo que se deben tener precauciones especiales con animales de estas características. También suele afectar más a los perros cazadores (Morales, 2018).

La *Dirofilaria* en su etapa adulta ocasiona cuadros clínicos de insuficiencia cardiaca e hipertensión. En su etapa de larva es capaz de causar tromboembolismo y neumonitis alérgica. Los síntomas relacionados con estos cuadros causados por el parásito tiene una gravedad variable y están vinculados generalmente a complicaciones cardiacas, ocasionando que los animales se fatiguen con mucha frecuencia (Morales, 2018).

En países endémicos como Panamá, donde la temperatura, la humedad y la vegetación reúnen las características de un clima tropical, favoreciendo la presencia de una mayor densidad de hospedadores intermediarios; lo posiciona como una región ideal para el desarrollo de la enfermedad. De hecho, hay

estudios en el país que refieren la presencia de la *Dirofilariasis* en caninos. Uno de ellos se dio en diciembre de dos mil diecinueve, en un macho de raza Blood Hound mestizo, de 28.5 kilogramos de peso, que había sido rescatado con cuatro meses de edad de las calles de Boca Chica, Distrito de San Lorenzo, provincia de Chiriquí; donde continuó viviendo hasta los cinco años y medio de edad. Otro caso fue en noviembre del dos mil veinte, cuando se reportó en un macho adulto, Pastor Alemán de 31.0 kilogramos, comprado con tres meses de edad en Puerto Armuelles, distrito de Barú, ubicado en el litoral Pacífico de la misma provincia, donde vivió hasta los tres años y medio (Candanedo, 2021).

Sobre los coyotes, se puede decir que es uno de los mamíferos con mayor número de especies de parásitos registrados en Norteamérica (Harris et al., 2010). Uno de los parásitos encontrados en este cánido silvestre que ha registrado una alta prevalencia (50-90 por ciento), considerándose un riesgo para la salud pública por el incremento en su área de distribución en países como los Estados Unidos, ha sido la *Dirofilariasis* por *D. immitis* (Duarte; Soto, 2016).

1.2 ANTECEDENTES

Los estudios sobre los coyotes (*Canis latrans*) en Panamá están enfocados en aspectos sobre su distribución y ecología. Se dice que esta especie ingreso naturalmente al país, siendo ampliamente reportado por periódicos locales, como causante de daños en fincas y depredación de terneros en el oeste de Panamá, desde la década de 1980 (Méndez Carvajal, 2014).

Hasta el momento, solo se ha podido encontrar en Panamá información referente a la *Dirofilaria immitis* en perros domésticos, mas no en otras especies de cánidos, incluyendo al coyote. Los reportes encontrados han sido de otros países como España, donde se han descrito prevalencias entre 13 y 58 por ciento en coyotes y de 28,2 a 31 por ciento en otro cánido, el zorro; siendo ambos identificados como reservorios tan importantes como el perro (Muñoz Gajardo, 2003).

En Estados Unidos, un estudio revelo prevalencias del 15.3 por ciento en coyotes en el estado de Kentucky. De los 42 animales positivos, 35 provenían de la región occidental, con los otros siete repartidos por todo el estado. Se esperaba que la prevalencia de *D. immitis* en ellos fuera similar a la encontrada en perros domésticos; sin embrago, los hallazgos sugirieron que el estado no presentaba un mayor problema con el gusano del corazón; a pesar que la región oeste es, en su mayoría, tierras planas con algunas colinas onduladas que permiten el estancamiento de agua; lo que facilita el ciclo de vida del mosquito vector. Este estudio indicó también variables como el peso cardíaco, condición corporal o la calidad del pelaje de los animales positivos no eran significativos, por lo que esta enfermedad no parecía representar un problema para esta especie (Brandon, 2021).

Otro estudio realizado en el estado de Georgia, donde se examinaron 31 coyotes en libertad en búsqueda de parásitos y agentes virales, se encontraron 16 coyotes infectados con *Dirofilaria immitis*. La prevalencia que se logró determinar (52 por ciento) fue similar a la informada en otras poblaciones localizadas en el sureste de los Estados Unidos. Los coyotes infectados solo tenían la presencia de este

parásito en estadio adulto alojados en el corazón; estando las microfilarias ausentes, lo que sugirió que las prevalencias informadas anteriormente podrían ser más bajas. Además, en esta región se reportó un aumento de las poblaciones urbanas de coyotes, lo que aumenta el potencial de transmisión de este parásito a poblaciones domésticas susceptibles, como los perros (Gates et al., 2014).

Adicional, otro estudio pudo determinar la presencia de este parásito en coyotes de zonas rurales en los estados de Oklahoma y Texas. Los cadáveres estudiados fueron recolectados de manera oportunista por colaboradores del departamento de control de animales y cazadores de siete condados en ambos estados, entre enero y marzo de dos mil diez. De los 77 sueros de coyotes analizados con una técnica de ELISA comercial, cinco presentaron anticuerpos contra *D. immitis* (6,5 por ciento), indicando que su presencia se mantenía baja al relacionarla con otros estudios de la región este (Paras et al., 2012). Igualmente, la presencia de este nematodo en coyotes de Oklahoma fue similar a otros estudios realizados en la región oeste del país, lo que sugiere que el patrón de infección del gusano del corazón en los coyotes de este estado podría reflejar el patrón continental, sobre todo al analizar las encuestas realizadas sobre la presencia de parásitos en caninos (Paras et al., 2012).

En Canadá, un estudio determinó la prevalencia y distribución de la *Dirofilaria immitis* en caninos silvestres localizados en el sur de Ontario. De los 290 cadáveres procedentes de toda la región (273 coyotes), el 5,1 por ciento (14) resultaron positivos (Kotwa et al., 2019). La prevalencia global de la *D. immitis* en

la población total fue baja (4,8 por ciento), sobretodo al compararlo con otros estudios realizados en los Estados Unidos, donde se han estimado prevalencias que oscilaban entre el 16 y el 100 por ciento en cánidos silvestres, independientemente del área geográfica y la edad de los animales (Kotwa et al., 2019).

1.3 JUSTIFICACIÓN

La *Dirofilariasis* es una enfermedad que se caracteriza por encontrarse en regiones tropicales, donde las condiciones climáticas propician la presencia de los vectores responsables de su transmisión. Hasta el momento, se han descrito varios géneros de mosquitos pertenecientes a la familia Culicidae, como son *Aedes* (Ae.) y *Culex* (Cx.) que se encuentran generalmente en la región del Pacífico centroamericano (Duarte; Soto, 2016). Los efectos del cambio climático han dado lugar a un aumento en la reproducción de estos vectores y en la cobertura de vuelo, ampliando el patrón de distribución de enfermedades que están relacionadas con ellos (Duarte; Soto, 2016).

Un estudio realizado en Estados Unidos, relaciono la presencia de la *Dirofilaria* en coyotes con diversos factores como la presencia de especies susceptibles en áreas endémicas y no endémicas, incluidos los animales de compañía, coyotes y perros silvestres. También se asoció con el clima, la población muestreada, así como la edad de los animales estudiados. La ubicación geográfica parece ser otro factor de riesgo particularmente importante. Las encuestas epidemiológicas han

demostrado una alta prevalencia entre coyotes en el sur de los Estados Unidos, incluido los estados de Arkansas (65,8 por ciento), Georgia (51,61 por ciento), Florida (37,26 por ciento) y Texas (23,08 por ciento). Por otra parte, se han informado prevalencias más bajas en regiones más templadas, localizadas en el noreste y el medio oeste de ese país (Sobotyk et al., 2022).

El coyote es una especie que se ha sabido adaptar a diferentes entornos, siendo común encontrar sus excretas en patios de viviendas y canchas de juego, por lo que la contaminación fecal y por otras secreciones podría representar un problema sanitario, ya que favorece la transmisión de agentes infecciosos entre coyotes, animales domésticos, silvestres y seres humanos (Harris et al., 2010). En este sentido, cabe resaltar el rol de los animales silvestres como reservorios de diversos agentes patógenos, sin que necesariamente manifiesten la enfermedad.

Por otra parte, la fragmentación y destrucción de hábitat naturales, provocan una ruptura del equilibrio ecológico, poniendo en riesgo la salud de las especies que coexisten, incluyendo a los seres humanos (Vásquez Aguilar, 2023). En la última década, varias epidemias han causado dramáticas reducciones en especies silvestres en varias regiones del mundo. Un ejemplo de ello son los brotes de distemper en focas, parvovirus en leones, micosis en anfibios, tuberculosis en mustélidos, además de la presentación de repentinas muertes de mamíferos, aves y tortugas marinas y terrestres (Daszak y Cunningham 2002).

Igualmente, el aumento en la actividad humana como resultado del incremento de su población, distribuyéndose hacia regiones boscosas antes desocupadas

con cambios importantes en el uso de las tierras, ha aumentado el contacto entre personas, animales domésticos y silvestres, acrecentando el riesgo de transmisión de enfermedades ya conocidas y el surgimiento de nuevas (Medina, 2010). En este sentido, resulta de mucha importancia el conocer aquellas enfermedades que circulan en los animales silvestres, especialmente aquellos con lo que se comparten entornos, como son las especies que circulan en áreas urbanas y periurbanas, ya que algunas de estas infecciones pueden transmitirse a especies domésticas, a los seres humanos y viceversa; estableciendo un escenario que podría generar graves afecciones a las especies existentes y a los ecosistemas (Vásquez Aguiar, 2023).

En Panamá, existe muy poca información científica que refiera sobre aquellos agentes infecciosos que circulan en poblaciones de coyotes, por lo que conocer sobre el comportamiento de aquellos agentes de importancia sanitaria, sobre todos los que tienen un potencial zoonótico, como el caso de la *D. immitis*, permitirá generar información valiosa que será de utilidad para conocer el rol de estos huéspedes en la epidemiología de la enfermedad, permitiendo generar aportes que puedan ser útiles para el establecimiento de programas de vigilancia y medidas de control (Sánchez, 2011).

1.4. OBJETIVOS

1.4.1 Objetivo General

Determinar la presencia de *Dirofilaria immitis* en coyotes (*Canis latrans*) procedentes de distintas zonas de la República de Panamá.

1.4.2 Objetivos Específicos

1. Analizar muestras de sangre obtenidas de coyotes capturados utilizando técnicas serológicas y de observación directa.
2. Calcular la prevalencia encontrada en los animales estudiados, evaluando su distribución de acuerdo al sexo y edad.

1.5. HIPÓTESIS

Este estudio fue de tipo descriptivo, en el que se determinó la presencia de *Dirofilaria immitis* en coyotes ubicados en distintas zonas del país. Sin embargo, se podría establecer como hipótesis de estudio, que en Panamá la *D. immitis* está presente en coyotes, lo que podría contribuir en la persistencia de la Dirofilariasis en las zonas estudiadas.

1.6 ALCANCES Y LIMITACIONES DEL ESTUDIO

1.6.1 Alcances

- Este estudio permitió obtener información sobre coyotes provenientes de distintas zonas del país, lo que generó datos que reflejan la relación de esta especie de cánido con agentes infecciosos de importancia sanitaria, como la *Dirofilaria immitis*, parásito cuyo potencial zoonótico ha sido reportado.
- La información proporcionada contribuyó igualmente a la generación de conocimientos sobre la Dirofilariosis en Panamá, la cual ha sido poco estudiada hasta el momento.

1.6.2 Limitaciones

- La especie de estudio, el coyote (*Canis latrans*) es un animal silvestre muy astuto, que a menudo teme a los humanos, pudiendo actuar agresivamente en algunas situaciones, posiblemente por la combinación de miedo y defensa territorial. Esta situación representa una dificultad al momento de realizar su captura. Por esta razón, se tuvo que tomar medidas para extremar las precauciones durante su manipulación.
- Estos animales se desplazan en grandes extensiones de terrenos, por lo que su estudio conllevó el análisis de varias zonas para identificar los puntos de mayor afluencia. Esto a su vez involucró el desarrollo de actividades de campo

bajo las inclemencias del tiempo y la movilización en zonas boscosas y de rastrojo.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 EL COYOTE (*Canis latrans*)

Los coyotes se clasifican taxonómicamente dentro del Reino Animalia, Filo Chordata, Subfilo Vertebrata, Clase Mammalia, Orden Carnivora, Suborden Caniformia, Familia Canidae, Subfamilia Caninae, Tribu Canini, Subtribu Canina, Género *Canis* y Especie *C. latrans*. Es un mesodepredador que mide aproximadamente 58-66 centímetros y pesa entre ocho y 16 kilogramos. Los machos suelen ser más grandes que las hembras. Los ejemplares de las regiones del norte de Norteamérica son de mayor tamaño, tienen el pelaje más largo, oscuro y grisáceo, al compararlos con aquellos que se encuentran al sur de Norteamérica. Los de zonas áridas suelen ser de color rojizo y con pelaje más corto (Cabrera, 2015).

2.1.1 Distribución

Son los mamíferos de mayor distribución en Norteamérica y se encuentran desde la región sur de Canadá, Estados Unidos, México (excepto la península de Yucatán) y Centroamérica, hasta Panamá y Colombia. Actualmente, su distribución está incrementándose como resultado de las perturbaciones

ambientales causadas por las actividades humanas, que junto con la versatilidad de la especie favorecen su dispersión (Cabrera, 2015).

Desde el siglo pasado, los coyotes han experimentado una expansión en el rango de distribución a través de gran parte de América del Norte y Central. A pesar del manejo generalizado como especie plaga, los coyotes han ampliado su alcance geográfico en un estimado del 40 por ciento desde la década de mil novecientos cincuenta, a al menos el doble que cualquier otro carnívoro de América del Norte durante el mismo período de tiempo (Cabrera, 2015).

2.1.2 Ecología

Los coyotes habitan todo tipo de ambientes, desde bosques de coníferas, áreas pantanosas, pastizales, zonas de selva mediana y baja, hasta áreas desérticas y zonas agrícolas mezcladas con bosques. En estos hábitats usan diferentes elementos del entorno para construir sus madrigueras, como troncos huecos, agujeros al nivel del suelo rodeados de arbustos, socavones o grietas en zonas rocosas (Cabrera, 2015).

Su habilidad para utilizar los recursos que proporcionan las poblaciones humanas le ha valido para sobrevivir en zonas urbanas. En zonas desérticas la disponibilidad de agua puede considerarse una limitante para su distribución (Cabrera, 2015).

Su dieta es omnívora con un 90 por ciento carne y un 10 por ciento de insectos y frutas. En áreas urbanas, se alimentan de restos de comida humana o de mascotas que suelen encontrar en los basureros (Cabrera, 2015).

El rol del coyote en el medio ambiente podría considerarse de suma importancia, debido a su comportamiento como reguladores de poblaciones de roedores y lagomorfos, además de ser considerados buenos dispersores de semillas, funcionando en los desiertos como los principales reforestadores de la flora (Cabrera, 2015).

2.1.3 Importancia de los cánidos silvestres como especies centinelas

Se llaman especies centinelas aquellas capaces de acumular en sus tejidos altas concentraciones de agentes patógenos y sustancias nocivas procedentes del ambiente, principalmente aquellas que pueden representar un riesgo para los seres humanos. Por ello, pueden servir como indicadores anticipados ante la presencia de un agente injurante en el entorno. Por lo general, los bioindicadores se caracterizan por ser más susceptibles o, de manera más temprana, individuos afectados por agentes peligrosos, incluso antes que las poblaciones humanas (Cabrera, 2015).

En áreas periurbanas y urbanas, los cánidos son útiles para el diagnóstico temprano de agentes infecciosos zoonóticos, ya sean agentes bacterianos, virales y parasitarios. De esta manera, su rol como centinela se resalta al ser indicadores

de la presencia temprana de estos agentes, pudiendo actuar o no en la trasmisión hacia el ser humano (Cabrera, 2015).

2.2 *Dirofilaria immitis*

La *Dirofilaria immitis* es un parasito que afecta a los canidos tanto silvestres como domésticos, pudiendo afectar la salud de diversas especies, además de influir en la dinámica de las poblaciones huéspedes. Los coyotes son especies que actúan como reservorios potenciales en la transmisión de estos parásitos hacia los perros domésticos. Dado que los canidos silvestres no están protegidos por la quimioprofilaxis, tiene una mayor capacidad de influir en la epidemiología de la Dirofilariasis al ser capaces de participar en la infección hacia los perros y los humanos (Kotwa et al., 2019).

2.2.1 Taxonomía y Morfología

Se clasifica taxonómicamente dentro del Phylum Nematelminthes, Clase Nematoda, Orden Spirurida, Suborden Spirurina, Superfamilia Filarioidea y Familia Filariidae (Muñoz Gajardo, 2003).

Es filiforme y cilíndrico, de color blanco que posee una cutícula con estriaciones transversales y longitudinales. En su extremo anterior que no se adelgaza, se encuentra una apertura oral pequeña con labios, una cápsula bucal rudimentaria sin órganos de fijación, diez pequeñas papilas cefálicas sin faringe, esófago con

porción anterior muscular y posterior glandular y no muy bien delimitada. El ano se ubica en posición subterminal (Muñoz Gajardo, 2003).

Presentan dimorfismo sexual marcado. Las hembras miden de 13,5 a 30 centímetros de largo y de uno a 1,3 milímetros de diámetro. La vulva se encuentra ligeramente detrás del esófago. Su extremo caudal es redondeado y no enrollado. Son ovovivíparos, liberando microfilarias a la circulación sanguínea. Los machos son de menor tamaño, miden de 9,5 a 20 centímetros de largo, con 0,7 a 0,9 milímetros de diámetro. Su extremo posterior termina en espiral y posee espículas desiguales en forma y tamaño; la derecha es corta y roma de 175 a 229 micrómetros de longitud y la izquierda es larga y afilada, de 300 a 375 micrómetros y no posee gubernáculo. Su extremo posterior está provisto de dos pequeñas aletas laterales, además posee de cuatro a cinco pares de papilas preanales más un par de papilas grandes y cuatro a cinco papilas pequeñas postanales (Muñoz Gajardo, 2003).

Las microfilarias, en promedio, miden alrededor de 308 micrómetros de largo (rango de 295 a 325 micrómetros) y de cinco a 7,5 micrómetros de ancho. Son fusiformes y el extremo cefálico es ahusado, siendo el extremo caudal puntiagudo y recto. No poseen vaina y son muy móviles. Están en la sangre del huésped definitivo en todo momento, pero se suelen presentar variaciones dependiendo del momento del día. Un estudio realizado en Europa, reportó una mayor incidencia de microfilarias circulantes en sangre en horas de la tarde-noche, no siendo así durante la mañana. Esta particularidad hace que sean más numerosas en horas que coinciden con una mayor actividad de los huéspedes intermediarios,

umentando la posibilidad de infectarlos al momento de alimentarse (Muñoz Gajardo, 2003).

En simbiosis, dentro de la *Dirofilaria immitis*, existe una bacteria intracelular gram negativa llamada *Wolbachia pipientis*, que está dentro del orden *Rickettsiales*. Podemos encontrarlas en todos los estadios de vida del parásito. En las filarias adultas, podemos encontrar *Wolbachia* principalmente en las células de la hipodermis de las cuerdas laterales. En las hembras también se puede encontrar en los ovarios, oocitos y estados embrionarios desarrollándose dentro del útero. Debido a esto, la bacteria tiene la capacidad de transmitirse de generación en generación, estando presente en todas las fases evolutivas del nematodo (Cabrera, 2015).

La Wolbachia es fundamental para la supervivencia de *D. immitis* ya que si se elimina se produce infertilidad en las hembras e inhibición del desarrollo larvario, con la consiguiente muerte de los adultos. También tiene un papel muy importante en la patogénesis y en la respuesta inmunitaria del hospedador frente a la infección por *Dirofilaria*. La bacteria se libera durante las mudas del desarrollo larvario y, tras la muerte del parásito, se ha podido asociar su liberación con el aumento de citoquinas inflamatorias de los neutrófilos y el incremento de inmunoglobulinas específicas; Por tanto, al estimular la respuesta inflamatoria del animal infectado, es responsable de parte del cuadro clínico de la enfermedad (Cabrera, 2015).

2.2.2 Ciclo biológico

2.2.2.1 Características del mosquito vector

Los vectores son los mosquitos pertenecientes al Phylum Arthropoda, Clase Insecta, Orden Diptera, Suborden Nematocera, Familia Culicidae. Los miembros de esta familia son mosquitos pequeños, poco voluminosos y de extremidades largas, vectores de otras enfermedades como la malaria, siendo igualmente capaces de transmitir virus. Esta familia de culicoides tiene más de 3000 especies incluidas en 34 géneros, entre los que encontramos *Aedes*, *Anopheles* y *Culex* (Muñoz Gajardo, 2003). Todos ellos son hospedadores intermediarios y vectores biológicos de la *Dirofilaria*, aunque la capacidad de transmitirlo sólo se ha demostrado en diez especies, entre los que están el *Aedes aegypti*, *A. atropalpus*, *A. mediovittatus*, *A. salinarius* y *A. sollicitans*; del género *Anopheles*, se encuentran el *A. acuasalis*, *A. nyssorhynchus* y *A. albimanus* y del género *Culex*, el *C. salinarius* y *C. nigripalpus* (Varela et al., 2021).

Las especies no susceptibles parecen carecer de anticoagulinas, una sustancia endógena que interfiere o inhibe la coagulación de la sangre, creando un estado antitrombótico o prohemorrágico de modo que la ingesta de sangre no se coagula en el interior del intestino del mosquito, dejando atrapadas a las larvas (Muñoz Gajardo, 2003).

2.2.2.2 Fases Larvarias.

L1 y L2: El ciclo de la *D. immitis* requiere de un mosquito hembra, que ingiera sangre de un mamífero susceptible que tenga larvas de primer estadio en circulación (L1), denominadas microfilarias. Una vez que el mosquito ingiere las microfilarias, estas migran desde el intestino al hemocele, para después desplazarse hacia los túbulos de Malpighi; todo esto en 24 a 36 horas, donde penetran hacia el citoplasma de las células primarias (Muñoz Gajardo, 2003).

Durante los primeros cuatro días, el parásito se vuelve móvil, se acorta y ensancha tomando forma de “salchicha”. Estas formas larvarias vuelven a entrar al lumen de los túbulos de Malpighi cerca del día después de la infección. La primera muda ocurre entre los ocho y 10 días, transformándose en L2, fase donde se forman los órganos internos. La muda a larvas ocurre entre los 12 a 13 días después de la infección, tomando la apariencia de adultos en miniatura. Durante los siguientes dos a tres días crecen en longitud (Muñoz Gajardo, 2003).

El tiempo de maduración de la larva en el mosquito depende mucho de las condiciones ambientales, temperatura (25 y 32 grados Celsius) y humedad (60 a 90 por ciento), donde se completa el desarrollo de la microfilaria en 10 a 14 días; mientras que a 18 grados Celsius la maduración demora 30 días. En zonas tropicales o en época estival, el proceso demora de ocho a 10 días, con un mínimo de seis días. Si la temperatura ambiental media es inferior a 14 grados Celsius, las larvas no maduran, pero pueden sobrevivir en el mosquito hibernante y completar su desarrollo cuando las condiciones sean las adecuadas. Las larvas

se desarrollan más rápido en algunas especies de mosquitos, más que en otras (Muñoz Gajardo, 2003).

L3: Tras aproximadamente dos semanas de desarrollo en el mosquito hembra, las L3 ya infectantes, migran a través del cuerpo del mosquito hasta el espacio cefálico, llegando a las glándulas salivales y probóscide, donde aguardan a que se alimente. La proboscis picadora del mosquito es larga, delgada y adaptada para perforar y absorber sangre, proyectándose hacia adelante. La hipofaringe posee un conducto salival que libera anticoagulante. Esta fase atraviesa la punta del labelo, rompiendo la membrana quitinosa de la proboscis llegando a la piel del nuevo huésped junto con una gota de hemolinfa que impide su desecación.

Finalmente, ingresan al mamífero por el canal de la picadura (Muñoz Gajardo, 2003).

Una vez las larvas L3 penetran en la piel perforada por el mosquito, estas migran por los tejidos a localizaciones intermedias como membranas submusculares, tejido subcutáneo, subserosas, tejido adiposo y ocasionalmente los músculos (Muñoz Gajardo, 2003).

L4: La muda a L4 ocurre entre dos y 12 días después de la inoculación en el mamífero, pudiendo demorar hasta 70 días. En esta fase, la larva puede llegar a medir cerca de 1,5 milímetros de largo, pudiendo penetrar en los tejidos hasta cuatro meses antes de mudar a adultos juveniles y entrar en la circulación venosa. La transformación de L4 a L5, ocurre de 50 a 70 días post inoculación (Muñoz Gajardo, 2003).

L5: El estado larval L5 de adulto inmaduro tiene una gran movilidad y capacidad de penetración en los tejidos, lo que explica las frecuentes localizaciones ectópicas. A los 70 a 120 días post inoculación, penetra en vena sistémica y es transportada por el torrente sanguíneo hasta las arterias pulmonares, donde las ramas terminales quedan fijadas y de esta forma ingresa al sistema cardiopulmonar. Las arterias del lóbulo caudal reciben un mayor flujo sanguíneo, sobre todo la arteria pulmonar caudal derecha y, por lo tanto, en ellas se aloja un mayor número de filarias. En los pulmones maduran por alrededor de tres meses o más. En el momento en que los gusanos alcanzan las arterias pulmonares, éstas miden de 20 a 40 milímetros de largo. A los 85 a 120 días después de la infección alcanzan longitudes de 3,2 a 11 centímetros (Muñoz Gajardo, 2003).

2.3 EPIDEMIOLOGÍA

La Dirofilariasis es una enfermedad de carácter cosmopolita y su distribución es mundial, relacionándose directamente con la distribución de las poblaciones de mosquitos vectores, que se ve favorecida en zonas de altas temperaturas y elevada humedad durante, al menos, parte del año (Cabrera, 2015).

2.3.1 Hospedadores Definitivos

El principal hospedador definitivo y reservorio de la *D. immitis* es el perro, aunque otros cánidos silvestres tienen un importante rol en la transmisión, asegurando la permanencia de la enfermedad en zonas endémicas, a pesar de que los perros

domésticos reciban la medicación preventiva. Los cánidos, tanto domésticos como silvestres, tienen tres veces más probabilidad de ser infectados que otras especies (Muñoz Gajardo, 2003).

2.3.2 Hospedadores Intermediarios

El hospedador intermediario es el mosquito hematófago, perteneciente a los géneros *Culex*, *Anopheles* y *Aedes*; los cuales al momento de alimentarse de un nuevo hospedador inoculan el parásito. Uno de los principales factores por lo que podría aumentar la tasa de infección de este parásito, es el aumento de los vectores, los cuales se benefician de los factores ambientales favorables de su entorno para el desarrollo de sus estadios larvarios, siendo los más idóneos aquellos con climas tropicales o templados con presencia de humedad (Corimanya et al., 2004).

2.3.2.1 *Anopheles*

Los *Anopheles* son insectos que se encuentran en muchos lugares del planeta. Se han descrito especies en zonas templadas, tropicales y subtropicales. La temperatura, la humedad relativa e incluso la intensidad luminosa en los periodos nocturnos son factores que afectan el trayecto de vuelo de estos insectos. Tienen hábitos nocturnos y son los únicos vectores de otras enfermedades como la

malaria humana, aunque también son eficaces en la transmisión de microfilarias (Melero, 2016).

2.3.2.2 *Culex*

Los mosquitos del género *Culex* se distribuyen por todo el mundo excepto en los polos. Dependiendo de la zona geográfica y de la especie, este insecto puede llegar a transmitir enfermedades y parásitos, convirtiéndose en una amenaza para la salud pública (Melero, 2016).

2.2.2.4 *Aedes*

Los mosquitos *Aedes* se reproducen en el agua, sobre todo en recipientes artificiales y a menudo en espacios interiores. Este mosquito es el más resistente a las variaciones climáticas, lo que aumenta su esperanza de vida, teniendo así oportunidad de infectar a personas y animales por igual. Tiene una gran capacidad de adaptación, a tal grado que puede estar presente en entornos rurales, suburbanos y urbanos habitados por personas, siendo capaces de alimentarse, tanto de la sangre de personas como de animales a cualquier hora del día (OMS, 2019).

2.3.3 Factores de Riesgo relacionados con el Vector

La eficacia y capacidad vectorial de los mosquitos depende del desarrollo de las piezas bucales, capacidad anticoagulante de la saliva, la respuesta inmunitaria con encapsulación melanótica de las larvas del parásito, el número de tomas de sangre para la realización de las puestas, la prolificidad y el rango de vuelo (que puede ser de varios kilómetros); siendo el viento y la intensidad de la luz, factores importantes en su dispersión. El tamaño de la población depende de la temperatura, humedad relativa, lluvias e intensidad de la luz (Muñoz Gajardo, 2003).

La velocidad de transmisión en una zona concreta depende del tipo de mosquitos que la habite, la densidad de mosquitos que puede transmitir el parásito, los hábitos de alimentación de los mosquitos, las especies susceptibles con capacidad de ser portadores y el tiempo de exposición de un hospedador potencial a los mosquitos (Muñoz Gajardo, 2003).

El alcance geográfico de esta verminosis y su agente guarda relación directa con la distribución de los insectos susceptibles, las prevalencias más altas se presentan en valles de ríos y áreas húmedas, donde las condiciones ambientales son más favorables para la reproducción del vector (Muñoz Gajardo, 2003).

2.3.4 Prevalencia en caninos domésticos y silvestres

Los cánidos silvestres sirven como reservorio de una miríada de patógenos transmitidos por vectores de importancia veterinaria y médica, incluido el gusano

del corazón canino. La prevalencia y el papel potencial de los carnívoros silvestres en la transmisión y mantenimiento de la *D. immitis* ha sido ampliamente estudiado en varios países (Sobotyk et al., 2022).

La prevalencia de la parasitosis en perros que viven en el exterior y no reciben tratamiento preventivo, puede ser mayor del 50 por ciento en lugares endémicos. En Europa, las mayores prevalencias se han registrado en los países mediterráneos, con un importante carácter enzoótico frente a prevalencias globales del uno al cuatro por ciento, en zonas del sur de Francia, norte de Italia y España; donde más del 30 por ciento de los perros están parasitados (Muñoz Gajardo, 2003).

En España, las prevalencias de esta enfermedad en poblaciones de coyotes han oscilado entre 13 y 58 por ciento, pudiendo comportarse como un reservorio tan importante como el perro. En Argentina, para el periodo mil novecientos noventa y dos a mil novecientos noventa y siete, se encontraron prevalencia de cinco a ocho por ciento en perros, posteriormente en áreas endémicas, en el período mil novecientos noventa y siete a dos mil uno, se encontraron prevalencias del 62,5 por ciento en machos y 37,5 por ciento en hembras, evidenciándose su incremento (Muñoz Gajardo, 2003).

2.3.5 Factores Ambientales

Los culícidos requieren un medio húmedo para el desarrollo de sus larvas y temperaturas medias superiores a los 14 grados centígrados para completar su

ciclo biológico. El tamaño de la población de vectores depende de la temperatura, humedad relativa, lluvias e intensidad de luz. El viento y la intensidad de luz son factores importantes para su dispersión y, consecuentemente, para la *Dirofilariosis*. El parásito completa su desarrollo en el mosquito en dos semanas a temperaturas de 14 a 16 grados centígrados, y en un mínimo de seis días a temperaturas medias de 25 grados centígrados. El desarrollo se inhibe a temperaturas inferiores a los 12 grados centígrados, aunque las larvas de *Dirofilaria* pueden sobrevivir en el mosquito hibernante y completar el desarrollo cuando las temperaturas superan ese umbral (Cordero De Campillo, 2001).

Existen 4 razones que pueden explicar la viabilidad de la enfermedad en el tiempo (Jonhstone et al., 1997):

- Población de hospederos susceptibles.
- Reservorios de la enfermedad.
- Población de hospedadores intermediarios
- Clima propicio en el desarrollo del parásito

2.3.6 Distribución Geográfica

La *Dirofilariosis* está ampliamente distribuida por todo el mundo, aunque su prevalencia varía de un país a otro e incluso de una región a otra (Morales, 2021). Ha sido reportada en casi todas las zonas templadas y cálidas, viéndose una precipitada adaptación del parásito a zonas de clima continental, en las que su

transmisión se limita a las estaciones templadas y cálidas. Los vectores necesitan zonas encharcadas para el desarrollo de sus larvas, por lo que la enfermedad suele limitarse a su distribución en zonas con humedad constante (cuencas de ríos, áreas con abundante vegetación, cultivos de regadío, etc.) (Cordero De Campillo, 2001).

2.4 FISIOPATOLOGÍA

El inicio de toda la fisiopatología y desarrollo de la enfermedad en el huésped empieza en el momento que se tiene el contacto con el vector e inicia el viaje de la filaria, aunque la presentación clínica se debe al daño causado por los vermes adultos y por las microfilarias en el torrente sanguíneo del huésped definitivo (Gómez, 2006). Desde ese momento, se establece una relación estrecha entre la severidad de los síntomas y la carga parasitaria del individuo.

2.5 SÍNDROMES CAUSADOS POR LA *DIROFILARIA*

2.5.1 Cor Pulmomale

Los vermes cardíacos son la causa habitual del Cor pulmonale, siendo la presentación clínica más frecuente. Su desarrollo es crónico y se caracteriza por el paulatino aumento de la presión a nivel de las arterias pulmonares. El parásito adulto reside comúnmente en las arterias pulmonares, ocupando espacio en el lumen, causando obstrucción física del tracto de salida y obstruyendo el flujo

laminar causando obstrucción física del tracto de salida y obstruyendo el flujo laminar normal de las arterias pulmonares (Díaz, 2022).

El estímulo y la citotoxicidad mediados por los desechos metabólicos de los gusanos adultos provocan la inflamación de las arterias pulmonares con la consecuente llegada de neutrófilos y eosinófilos. Las pequeñas microhemorragias a nivel del endotelio vascular producen el arribo y la agregación plaquetaria, las cuales al disgregarse liberan una serie de mediadores químicos como el factor de desarrollo de la miointima, la cual estimula el crecimiento de la capa muscular de la pared arterial (Díaz, 2022).

Cuando la enfermedad progresa, la capa íntima vascular se torna áspera, irregular e hipertrófica, comprometiendo el flujo laminar, las arterias se dilatan y la fibrosis perivascular sigue a la hipertensión pulmonar volviéndose la enfermedad autoperpetuante. Todos estos cambios ocasionan un aumento de la presión en el pulmón y alteraciones de la relación ventilación/perfusión que llevan a una hipoxia generalizada. Ante estos cambios, el corazón responde dilatándose y se hipertrofia, desencadenando una falla cardíaca derecha con ascitis, síncope, hemoptisis, coagulación intravascular diseminada y muerte (Díaz, 2022).

En los primeros momentos de la enfermedad se puede observar intolerancia al ejercicio, luego se aprecia pérdida de peso gradual y tos esporádica. A medida que la enfermedad progresa, aumenta la tos y se desarrolla insuficiencia respiratoria, incluso en estado de reposo. En la evaluación clínica se puede auscultar soplos de grado variables, siendo este un signo indicativo de

hipertensión pulmonar avanzada, mucosas pálidas y alteraciones en los sonidos pulmonares, así como aumento del murmullo vesicular (Díaz, 2022).

2.5.2 Dirofilariosis Oculta

La microfilaremia es relativamente común en perros, aunque no en todas las infecciones se pueden encontrar las microfilarias. Cuando las microfilarias no son observables en el examen de sangre, se conoce como Dirofilariosis oculta. Esto sucede como resultado de múltiples factores que confluyen, como infecciones unisexuales, respuesta inmune del hospedador, la cual afecta la presencia de microfilarias en circulación y la administración de medicamentos preventivos como son las lactonas macrocíclicas (moxidectina, milbemicina oxima, ivermectina, selamectina) que son medicamentos seguros, eficaces y convenientes para la prevención de esta enfermedad en los caninos (Díaz, 2022).

Las infecciones ocultas mediadas por anticuerpos específicos para microfilarias, 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 micro circulación pulmonar, disminuyendo la motilidad de las larvas y facilitando su adherencia a las células reticuloendoteliales, particularmente en los capilares pulmonares (Díaz, 2022).

2.5.3 Endocarditis Pulmonar Proliferativa

Cuando los gusanos adultos entran en contacto con la pared de los vasos sanguíneos, se producen alteraciones en las arterias pulmonares, ocasionando engrosamiento de la pared y estrechamiento de la luz del vaso (Cabrera, 2015).

Las *Dirofilarias* vivas inducen, en primera instancia, una reacción endotelial en las arterias que comprende la inflamación, tumefacción celular, uniones intercelulares ensanchadas, ventanaje y desprendimiento. En la superficie de este endotelio alterado se adhieren macrófagos y neutrófilos que penetran en las uniones intercelulares, dejando al descubierto el subendotelio. Esto provoca la activación y adherencia de plaquetas e hiperpermeabilidad, permitiendo el paso de albúmina y otros líquidos hacia el intersticio, causando edematización de las arterias (Muñoz Gajardo, 2003).

Estos cambios empiezan en las pequeñas ramas periféricas de la arteria pulmonar, donde se fijan inicialmente los parásitos, y van avanzando hacia segmentos más proximales a medida que crecen las filarias. Las células endoteliales de la capa íntima están engrosadas y las uniones intercelulares se encuentran ensanchadas y de aspecto surcado ya a los tres días de implantación del parásito, pudiendo detectarse tempranamente mediante microscopía electrónica de barrido. Mediante angiografía las lesiones son evidentes a las dos o tres semanas post infección (Muñoz Gajardo, 2003).

Las plaquetas y los leucocitos adheridos a los sitios arteriales dañados, liberan factores tróficos, como el factor de crecimiento o PDGF derivado de las plaquetas,

que estimulan una rápida proliferación de las células musculares lisas de la túnica media, rompiendo la lámina elástica interna y proyectándose hacia la luz de la arteria hasta la capa íntima. La pared de la arteria deja de ser lisa y blanca, presentando un aspecto rugoso y de tonalidad púrpura. Histológicamente, las proliferaciones pueden ser de hasta cinco milímetros, formadas por células musculares lisas y por colágeno producido por ellas, cubiertas por endotelio y con una base de tejido fibroso denso, dando a la superficie un aspecto similar al del endotelio intestinal. La pérdida de lisura de la íntima promueve la formación de trombos, pero la embolización y total oclusión vascular es rara con gusanos vivos (Muñoz Gajardo, 2003).

2.5.4 Hipertensión Pulmonar

El desarrollo de hipertensión pulmonar se debe a la suma de varios factores, entre los que se mencionan la disminución de la luz vascular, pérdida de elasticidad arterial y formación de tromboembolismos pulmonares. Estos factores hacen que haya un aumento de la resistencia al flujo sanguíneo y el consiguiente aumento de la presión en la arteria pulmonar (Cabrera, 2015).

Para que la hipertensión pulmonar sea evidente cuando en animal se encuentra en reposo, es necesario que se oblitaren dos tercios o más del lecho vascular pulmonar. El mejor predictor de la presión en la arteria pulmonar resulta ser el número de tromboémbolos y el tamaño del árbol de la arteria pulmonar ocluido por los mismos (Muñoz Gajardo, 2003).

El mecanismo para que la hipoxia alveolar de por sí genere vasoconstricción, es a través del mediador químico Prostaglandina F₂alfa, quien provoca una vasoconstricción local y desvía el flujo de sangre a las regiones pulmonares sanas. Generalmente, la respuesta del canino a la hipoxia es leve, ya sea de forma aguda con hipertensión pulmonar, o crónica con hipertrofia del músculo vascular (Muñoz Gajardo, 2003).

Las células del endotelio vascular responden a la tensión del daño, aumentando su producción y liberación de histamina, pudiendo ser derivado de las células polimorfonucleares o de mastocitos. Este aumento local, provoca relajación del endotelio dependiente de la arteria pulmonar, causando probablemente una descarga de compuestos vasoactivos, como las prostaglandinas (Muñoz Gajardo, 2003).

2.5.5 Hipertrofia e insuficiencia cardiaca derecha

Cuando la endoarteritis pulmonar provoca pérdida de elasticidad de las paredes arteriales y además, persiste la oclusión, se eleva la presión arterial. Para mantener la alta presión de perfusión que se requiere para mover la sangre a los pulmones, se produce un incremento del trabajo cardiaco y, en un período aproximado de nueve meses, los efectos de la hipertensión pulmonar son compensados con la hipertrofia del ventrículo derecho. Una insuficiencia cardiaca derecha aparece de forma relativamente aguda o se va desarrollando

gradualmente y puede o no ir acompañada de hipertensión pulmonar (Muñoz Gajardo, 2003).

Si se reduce o elimina el flujo de sangre, principalmente hacia los lóbulos pulmonares caudales, se puede aparecer un desequilibrio ventilación/perfusión con la consiguiente hipoxia. Cuando los animales presentan una vasoconstricción hipóxica generalizada, como resultado de una enfermedad pulmonar, la insuficiencia cardiaca derecha resultante se conoce como corazón pulmonar (Muñoz Gajardo, 2003).

La insuficiencia cardiaca congestiva derecha es una afectación frecuente en infecciones masivas, encontrándose generalmente en animales sometidos a ejercicio físico. En el atrio y ventrículo derecho, los parásitos interfieren con la contracción y el trabajo de la válvula tricúspide, provocando regurgitación; de manera que el aumento en la presión sanguínea se extiende a la aurícula derecha, venas cavas y al resto del sistema venoso. Esto produce éstasis venosa con pulso yugular, congestión, edemas, hepatomegalia, cirrosis y ascitis (Muñoz Gajardo, 2003).

2.5.6 Alteración del Parénquima Pulmonar

En el parénquima pulmonar, donde no llegan los vermes, se pueden producir alteraciones ocasionadas por el depósito de antígenos parasitarios. También puede aparecer edema e inflamación periarterial con infiltrado intersticiales y alveolares, compuestos de neutrófilos y eosinófilos procedentes de las arterias

lesionadas, ya que el daño sobre las mismas hace que aumente la permeabilidad de la superficie vascular al plasma y a las células inflamatorias. Todo esto termina en una fibrosis irreversible que disminuye el área de intercambio gaseoso y produce insuficiencia respiratoria. Se sospecha que la bacteria *Wolbachia* está implicada de algún modo en este proceso (Cabrera, 2015). Según un estudio realizado en España con gatos, la bacteria *Wolbachia* parece producir una mayor respuesta inflamatoria aguda a nivel bronquial del huésped contra el parásito (García et al., 2013).

2.5.7 Neumonitis Alérgica

Este es un síndrome provocado por la hipersensibilización del hospedador a los antígenos de microfilarias y las L5, que también son alergénicas. Estos antígenos inducen la destrucción inmunomediada de las microfilarias por los anticuerpos. El exceso de anticuerpos antimicrofilarias (IgG) hace que los leucocitos se adhieran a las microfilarias, lo que produce su secuestro e inmovilización en la microcirculación del pulmón. Las microfilarias muertas son rodeadas por inflamación eosinofílica granulomatosa, lo que se denomina “Síndrome de Infiltración Eosinofílica” (Cabrera, 2015).

Los signos de la neumonitis alérgica se presentan como complicaciones en los pacientes con insuficiencia cardíaca derecha. La falla cardíaca produce una congestión pasiva crónica en el hígado o hígado cardíaco y ocasionalmente ascitis. En general, presentan tos y disnea, pero los caninos muy afectados

pueden presentar cianosis ligera, anorexia, pérdida de peso, signos de insuficiencia renal como polidipsia, poliuria, proteinuria, elevación de los valores de urea, creatinina y enzimas hepáticas (Díaz, 2022).

2.5.8 Tromboembolismo Pulmonar

Mientras el parásito este vivo, éste se resistirá a la tromboembolización. Pero, al morir de forma espontánea o inducida por medicamentos como lactonas macrocíclicas, se produce una trombosis masiva. Los vermes muertos van hacia las arterias de menor calibre haciendo que el flujo sanguíneo se deteriore, e incluso se interrumpa en los lóbulos caudales. Consecuencia de ello, se puede observar una consolidación, infarto y mínimo funcionamiento en el intercambio gaseoso. Todo esto puede provocar una hipoxia por un desequilibrio entre ventilación y perfusión (Cabrera, 2015).

Con la tromboembolización, aumenta la permeabilidad, agravando el edema perivascular. Los fragmentos del parásito son calcificados y parcialmente incorporados a la pared de la arteria, creando microfocos de supuración que cicatrizan con formación de gran cantidad de tejido conectivo fibroso. Los trombos y la rigidez de estas arterias lesionadas, agravan la hipertensión pulmonar, siendo frecuente que el animal entre en insuficiencia cardiaca congestiva derecha y muera (Muñoz Gajardo, 2003).

2.5.9 Síndrome de la Vena Cava

Es una variante de la Dirofilariosis, también denominada “Hemoglobinuria Dirofilariosa o Síndrome de Falla Hepática”, la cual es de elevada mortalidad como consecuencia de la obstrucción parcial o total de las venas cava caudal y hepática por los parásitos adultos. Estos llenan el atrio derecho y la vena cava como resultado de la migración retrógrada desde la arteria pulmonar, ocasionando interferencia en el flujo sanguíneo. Esto produce una necrosis difusa del hígado debido a la congestión pasiva crónica y anemia hemolítica por aumento de la fragilidad de los glóbulos rojos (Díaz, 2022).

La incidencia de este síndrome representa el 20 por ciento de los casos de infestación por *Dirofilaria*, razón por la cual algunos caninos lo desarrollan, mientras que otros no. Esto se debe principalmente a la carga parasitaria. En el canino, el síndrome de la vena cava se caracteriza por una carga parasitaria superior a 60 vermes, observándose en su mayoría en perros jóvenes, donde el 55 a 84 por ciento se localizan en las venas cavas craneal y caudal y en la aurícula derecha (Díaz, 2022).

Se presenta en forma aguda con signos clínicos de shock hipovolémico debido a la obstrucción y disminución del retorno venoso, mucosas pálidas, aumento del tiempo de llenado capilar, extremidades frías, taquicardia y pulso débil. La masa de parásitos interfiere en la función valvular con regurgitación tricuspídea junto a la hipertensión pulmonar, resultando en una disminución del pre llenado ventricular izquierdo y falla congestiva ventricular derecha. Existen grados

variables de disnea, pulso yugular, soplos y hemoglobinuria severa que se considera un signo patognomónico debido a una hemólisis severa (Díaz, 2022).

2.5.10 Alteraciones Renales

La alteración más importante a nivel renal es la glomerulonefritis membranosa que ocurre por la formación y depósito de complejos autoinmunes contra antígenos del parásito en la membrana basal del glomérulo. También se le relaciona con la presencia de microfilarias en capilares glomerulares y vasos medulares. Esto provoca la aparición de infiltrados inflamatorios en glomérulos y un engrosamiento de la membrana basal de los capilares. En este sentido, la bacteria *Wolbachia* liberada por las microfilarias muertas produce inflamación y una respuesta inmune específica. Otras alteraciones que ocasionan a nivel renal incluyen nefrosis grave con proteinuria, que puede provocar azotemia por insuficiencia renal, y nefritis intersticial con infiltrados celulares (Cabrera, 2015).

2.6 SIGNOS CLÍNICOS

La detección de la hipertensión pulmonar en las fases iniciales de la Dirofilariasis es difícil, pues los cambios en las arterias son discretos y el animal no presenta indicios de padecer la enfermedad (Cuadro I). La presión en el ventrículo derecho y en la arteria pulmonar permanecen normales o ligeramente elevados durante el gasto cardíaco en reposo. Muchos perros son totalmente asintomáticos o presentan signos tan discretos que pasan desapercibidos (Cabrera, 2015).

En los primeros seis meses desde la inoculación del parásito, no se observan signos clínicos debido a que las larvas cambian y migran sin causar alteraciones aparentes. La clínica tarda en desarrollarse por lo que, generalmente, los síntomas que puede producir no se hacen evidentes hasta pasados varios años de la infección (Cabrera, 2015).

Una vez aparecen los signos, siendo el más habitual la tos no productiva y crónica, la cual se acentúa tras el ejercicio, se puede conjugar con la intolerancia al mismo. También puede presentarse, disnea, taquipnea, pérdida de peso y síncope. En la auscultación, se evidencian crepitaciones difusas y soplo cardiaco sistólico, además de aparecer hemoptisis, epistaxis, letargia, apatía, hiporexia, ascitis y derrame pleural (Cabrera, 2015).

CUADRO I. GRADOS DE PARASITISMO Y SÍNTOMAS ASOCIADOS DE LA DIROFILARIASIS CANINA.

GRADO DE PARASITISMO	SÍNTOMAS
Leve	Asintomática, con signos inespecíficos.
Moderada	Tos, intolerancia al ejercicio, sonidos pulmonares anormales.
Grave	Tos, intolerancia al ejercicio, disnea, sonidos pulmonares y cardíacos anormales, hígado dilatado (hepatomegalia), síncope (pérdida temporal de la conciencia debido a la reducción del flujo sanguíneo al cerebro), ascitis (acumulación de fluido en la cavidad abdominal), muerte.
Síndrome Caval	Inicio repentino de letargia y debilidad graves acompañadas de hemoglobinemia y hemoglobinuria.

Fuente: American Heartworm Society, (2014)

2.7 DIAGNÓSTICO

Existen distintas pruebas diagnósticas para esta enfermedad. La mayoría nos sirven para establecer su gravedad, y solo la realización de pruebas para

detección de antígenos y la presencia de microfilarias en sangre periférica son válidas para el diagnóstico confirmatorio (Cabrera, 2015).

2.7.1 Examen físico

Antes de instaurar un tratamiento curativo, es crucial conocer el estado clínico del animal, por lo que debe evaluarse el estado general y funcionalidad hepática renal y cardíaca, aunque no existe ningún signo clínico que pueda ser considerado patognomónico de esta parasitosis. El grado de alteración cardiopulmonar puede determinarse por radiología y ecocardiografía. La funcionalidad hepática y renal se puede determinar mediante pruebas bioquímicas; siendo la urea, creatinina, BUN, AST y ALT las más adecuadas. Una buena aproximación al diagnóstico etiológico puede realizarse con la ecocardiografía, especialmente aconsejable cuando se sospecha de síndrome de vena cava (Cordero De Campillo, 2001).

2.7.2 Observación de microfilarias vivas

2.7.2.1 Técnica de Gota gruesa

La probabilidad de encontrar microfilarias se relaciona directamente con la gravedad de la infección, pero el número de las larvas circulantes no guarda relación con la cifra de vermes adultos que se encuentran parasitando (Acuña, 2002).

La observación directa es un método sencillo, que consiste en poner una gota de sangre sobre una lámina portaobjetos, examinándose la muestra directamente al microscopio para observar las microfilarias moviéndose activamente en forma giratoria entre los hematíes y en el mismo lugar. Este test no es muy sensible y no permite identificar el tipo de microfilaria por su morfología (Acuña, 2002).

2.7.2.2 Método del Microcapilar

Esta técnica de diagnóstico se basa en la demostración de microfilarias vivas en sangre mediante el volumen de paquete celular (VPC), el cual se obtiene del examen del hematocrito. Las larvas se observan moviéndose activamente en la capa flogística, pero el diagnóstico no es concluyente debido a que se requiere la medición de las larvas para un diagnóstico definitivo (Acuña, 2002).

2.7.3 Técnicas de Concentración

Los métodos de concentración son superiores a los de montaje húmedo de sangre y a los de tubo capilar. Debido a que las técnicas de concentración producen hemólisis y fijación de las microfilarias, tienen mayor posibilidad de identificar microfilarias circulantes cuando el volumen de muestra es superior (Acuña, 2002).

Las pruebas de concentración están indicadas en el establecimiento de programas de mantenimiento de salud anual o semi anuales, examinar a perros

con signos típicos de *Dirofilariasis* y determinar la eficacia de tratamientos microfilaricidas. Estos estudios de concentración no logran demostrar microfilarias entre el 10 por ciento al 67 por ciento de los caninos con parásitos adultos. Antes de poder hacer diagnóstico de una infección oculta, las pruebas de concentración deben ser negativas al menos en dos o tres ocasiones (Acuña, 2002).

2.7.3.1 Método de Filtración

Este método consiste en mezclar un mililitro de sangre con carbonato sódico al 0.1 por ciento a fin de producir lisis de los glóbulos rojos. Luego se pasa a través de un filtro con poros de 0.3 micrómetros. Las microfilarias que quedan sobre el filtro se tiñe con azul de metileno al 0.1 por ciento procediendo a la observación microscópica (Acuña, 2002).

2.7.3.2 Test de Knott Modificado

Es la técnica estándar de concentración, donde es posible procesar con eficiencia gran número de muestras y es más precisa la identificación de la especie de filaria por su aspecto morfológico. En esta prueba se produce hemólisis y fijación de las microfilarias por lo que permite examinar una mayor cantidad de sangre, comparado con el frotis sanguíneo. En el Test de Knott se mezclan un mililitro de sangre y nueve mililitros de formalina al dos por ciento y se centrifugan por cinco minutos. El sedimento se tiñe con azul de metileno y se observa al microscopio (Acuña, 2002).

2.7.4 Pruebas inmunodiagnósticas: ELISA

El alto grado de especificidad y sensibilidad de las inmuno-valoraciones enzimáticas actuales para detección de antígenos circulante del gusano del corazón, comparadas con un examen para microfilarias, han hecho que estas pruebas sean el principal método de identificación prospectiva de la infección en caninos asintomáticos y con signos ambiguos de enfermedad (Acuña, 2002).

Los métodos serológicos se basan en la detección de antígenos o anticuerpos de *Dirofilaria immitis* presentes en el organismo parasitado, siendo el test de ELISA la técnica que puede detectar infecciones solo a partir de los seis meses de producidas, con una sensibilidad entre el 85.7 por ciento al 100 por ciento (Acuña, 2002).

2.7.4.1 Prueba de Detección de Anticuerpos

El animal produce anticuerpos antiadultos y antimicrofilarias. Estos son en primer lugar la Ig E, para luego desarrollar la Ig G e Ig M, encontrándose picos de Ig E y de Ig G entre las 16 y 18 semanas de infección. La Ig E específica se ha demostrado en el suero de los animales infestados desde dos semanas hasta un año después de la infección (Acuña, 2002). Sin embargo, esta prueba no es específica para la enfermedad, debido a que existe reacción cruzada con parásitos gastrointestinales (American Heartworm Society, 2014).

2.7.4.2 Prueba de Detección de Antígenos

Los tests de antígeno son capaces de detectar antígenos de secreción y excreción específicos de hembras adultas de *Dirofilaria immitis* con uno o más parásitos hembras presentes en el huésped. La sensibilidad de este tipo de pruebas de ELISA depende de la duración de la infección y el número de gusanos adultos circulantes. Aunque es posible detectar antígenos tan temprano como cinco meses después de la infección, no suele ocurrir hasta que los gusanos comienzan a producir microfilarias, alrededor de los seis meses y medio y quizás no se encuentren hasta después de los siete meses. La mayor parte, si no es que la totalidad del antígeno que se vierte a la circulación, se atribuye a la presencia de vermes hembras (Acuña, 2002).

2.7.5 Radiología

La radiografía de tórax es el procedimiento diagnóstico más útil para caracterizar la intensidad de la Dirofilariasis. Los signos radiográficos típicos de la enfermedad incluyen agrandamiento del ventrículo derecho, dilatación de la arteria pulmonar principal, en el borde craneal izquierdo de la silueta cardiaca ventrodorsal o dorsoventral, dilatación y tortuosidad de las arterias lobares, truncamiento de las arterias pulmonares e infiltrado del parénquima intersticial o alveolar (Acuña, 2002).

Generalmente, el diámetro de las arterias pulmonares lobares caudales derecha e izquierda no debería exceder el ancho de la novena costilla en su punto de intersección con la correspondiente arteria, en la proyección dorsoventral. Además, las arterias lobares craneales deberán ser aproximadamente del mismo tamaño que las respectivas venas lobares y el diámetro de cada vaso no deberá exceder el diámetro más pequeño de la cuarta costilla derecha, en la proyección en decúbito lateral izquierdo (Acuña, 2002).

2.7.6 Angiografía y Ultrasonografía

Estas técnicas son poco usadas en el diagnóstico de *Dirofilariasis*. La angiografía es una técnica que permite la visualización de los vasos sanguíneos del cuerpo por medio de tomas radiográficas luego de inyectar un medio de contraste dentro de los vasos, permitiendo estudiar los cambios en las arterias pulmonares (American Heartworm Society, 2014).

La ultrasonografía, por otra parte, es usada para evaluar el aumento de tamaño del ventrículo derecho y la presencia de parásitos en el ventrículo y arterias pulmonares (American Heartworm Society, 2014).

2.7.7 Patología Clínica

En cuanto a la patología clínica, no hay modificaciones específicas en el hemograma, perfil bioquímico sérico y análisis de orina de los caninos con

Dirofilariasis, por lo que no conduce al diagnóstico de la enfermedad. La eosinofilia y basofilia son los cambios observados con mayor constancia durante la Dirofilariasis y otras parasitosis frecuentes. Un período de eosinofilia ocurre durante los primeros 40 días de la infección, cuando la larva se encuentra en el tejido subcutáneo. Otro período es entre los días 70 a 100, cuando los parásitos inmaduros se encuentran en la circulación. La eosinofilia tiende a disminuir cuando la enfermedad produce estrés (Acuña, 2002).

Cuando los perros con enfermedad leve sin signos clínicos son comparados con perros normales, usualmente no se encuentran diferencias en el nivel de hemoglobina o el paquete celular. Los perros afectados severamente presentan una anemia hemolítica regenerativa. La hemólisis se podría originar debido al trauma ocasionado por el parásito, el cual es más severo en los casos del síndrome de la vena cava (Acuña, 2002).

El recuento de leucocitos es generalmente normal, aunque algunos pacientes presentan leve desviación a la izquierda con presencia de neutrófilos inmaduros. Los perros con falla cardíaca congestiva y neumonía frecuentemente presentan neutrofilia por el estrés producido por la infección (Acuña, 2002).

2.7.8 Necropsia

La necropsia es el método de diagnóstico definitivo. Los parásitos adultos se pueden encontrar en el ventrículo derecho y en las arterias pulmonares, pudiéndose también encontrar en las ramificaciones de la arteria pulmonar. La

superficie normal de las arterias se vuelve rugosa, morada y aterciopelada (American Heartworm Society, 2014).

Los lóbulos pulmonares caudales con tromboembolismo se encuentran edematizados y hemorrágicos, viéndose al corte un exudado serosanguinolento. Cuando se incide en las arterias pulmonares, si se encuentran parásitos muertos, estos se caracterizan por la pérdida de su estructura. Se pueden encontrar parásitos adultos en la aurícula derecha y en la vena cava cuando el número de los vermes es muy elevado, como sucede en el síndrome de la vena cava, dilatación e hipertrofia del ventrículo derecho, hipertrofia de las arterias pulmonares y endoarteritis proliferativa, hígado muscado, flebitis crónica de la vena cava (Acuña, 2002).

2.8 TRATAMIENTO

2.8.1 Terapia Adulticida y Microfilaricida

Antes de comenzar con el tratamiento es necesario establecer la gravedad del paciente, el cual se hace en función de la sintomatología y los resultados obtenidos en las pruebas diagnósticas. En general, la Dirofilariasis se ha clasificado tradicionalmente en cuatro clases o niveles de gravedad

(Cuadro I).

En la actualidad, se prefiere el uso de una clasificación más simple, que separa a los pacientes en dos categorías, en función del riesgo de producirse tromboembolismos pulmonares durante el tratamiento adulticida:

- Bajo riesgo de complicaciones tromboembólicas: se trata de animales con baja carga parasitaria y sin lesiones de la vasculatura o parénquima pulmonar (Díaz, 2022).
- Riesgo elevado de complicaciones tromboembólicas: los caninos con signos clínicos significativos deben estabilizarse antes de administrar un adulticida. Esto puede requerir la administración de glucocorticosteroides, diuréticos, vasodilatadores, agentes inotrópicos positivo y fluidoterapia (Cazaux et al., 2019). Antes de eliminar los parásitos adultos, es necesario eliminar la bacteria *Wolbachia* ya que al eliminar las filarias adultas, en caso de no hacerlo, habría una liberación masiva de bacterias en el organismo del huesped con graves reacciones inflamatorias y serias consecuencias para su salud. El tratamiento con doxiciclina a dosis de 10 miligramo por kilogramo dos veces al día durante cuatro semanas antes de la administración del adulticida elimina un 90 por ciento de la bacteria, permaneciendo en niveles bajos durante los tres o cuatro meses posteriores a la administración del antibiótico. El animal previamente tratado con doxiciclina sufrirá menor daño pulmonar asociado a la muerte de las filarias (Díaz, 2022).

Simultáneamente, se debe comenzar el tratamiento para eliminar las larvas que pudieran haber sido inoculadas recientemente en el paciente, ya que el fármaco adulticida, no mata filarias menores de cuatro meses de edad. Para ello, se deben

administrar lactonas macrocíclicas a dosis preventivas mensualmente durante dos o tres meses antes del tratamiento adulticida. De esta manera, las larvas menores de dos meses de edad son eliminadas mientras que las larvas mayores de dos 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 tres y nueve meses. Una vez realizado este tratamiento, se procede a la terapia adulticida (Díaz, 2022).

La melarsomina diclorhidrato es el único fármaco adulticida disponible actualmente en el mercado. Se administra mediante inyección intramuscular profunda en la musculatura lumbar. El tratamiento recomendado, denominado “tratamiento diferido” consiste en aplicar una primera inyección de melarsomina (2,5 miligramos por kilogramos), una segunda inyección al cabo de un mes (2,5 miligramos kilogramos) y una tercera inyección pasadas 24 horas de la segunda inyección (2,5 miligramos por kilogramos). Este protocolo elimina los adultos de forma escalonada, eliminando el 50 por ciento de los adultos (90 por ciento machos y 10 por ciento hembras) en la primera inyección, y el resto con la segunda y tercera inyección. Esta eliminación progresiva reduce el tromboembolismo producido por la muerte de los parásitos, permitiendo al organismo del animal eliminar los fragmentos embólicos de forma más efectiva, lo que resulta en complicaciones pulmonares menos graves y frecuentes. Además, la eficacia adulticida suele ser mayor frente al tratamiento clásico (Díaz, 2022).

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; sin embargo, cuando se acompaña de sintomatología clínica, esta aparece generalmente a los siete y 10 días tras la administración del fármaco adulticida, cuando la mayoría de las filarias están muriendo, aunque puede suceder hasta pasadas cuatro semanas tras la administración del tratamiento adulticida (Díaz, 2022).

El uso de glucocorticoides junto con la restricción de ejercicio es el tratamiento de elección para el manejo del tromboembolismo pulmonar. Se deben administrar sólo si se considera necesario, debido a los efectos adversos que puede presentar, como reducción del flujo pulmonar, empeoramiento de la endoarteritis y efectos procoagulantes (American Heartworm Society, 2014).

La terapia quirúrgica es la alternativa al tratamiento adulticida en animales con altas cargas parasitarias o con síndrome de vena cava. Se realiza mediante la introducción transyugular de fórceps flexibles Alligator, hasta alcanzar la cavidad cardiaca derecha y la arteria pulmonar para poder extraer los parásitos. Posteriormente, se debe realizar un tratamiento adulticida como el descrito anteriormente (Díaz, 2022).

Para confirmar la eficacia del tratamiento, se debe realizar un test de antígenos a los seis meses tras la última dosis de melarsomina. Además, se debe continuar la administración de lactonas macrocíclicas mensualmente a dosis preventivas, para evitar reinfecciones (Díaz, 2022).

La terapia adulticida con lactonas macrocíclicas como la ivermectina, sola o combinada con doxiciclina, puede ser utilizada en casos raros seleccionados, cuando la edad del paciente, la presencia de enfermedades concomitantes y las condiciones financieras del propietario no recomienden el uso de melarsomina. Sin embargo, no se aconseja como terapia de elección, porque el efecto adulticida de la ivermectina requiere un tiempo demasiado prolongado, durante el cual la infección continúa su desarrollo con el consecuente daño cardiovascular y pulmonar, y la presencia de tromboembolismo puede manifestarse de manera imprevisible. Se ha observado que los resultados de este tipo de terapia adulticida es más rápido en el empleo combinado de lactonas macrocíclicas y doxiciclina (Díaz, 2022).

2.8.2 Terapia “Moxi-Doxy”

Ha surgido evidencias que apoyan el uso de un protocolo de tratamiento de adulticida sin arsénico, que usa moxidectina y doxiciclina para matar a los gusanos del corazón adultos durante un período prolongado. Si bien un protocolo de tres dosis que utiliza el fármaco arsénico melarsomina es actualmente el tratamiento más seguro y eficaz para la Dirofilariosis, este fármaco no está disponible en algunos países y es inaccesible para muchos propietarios y refugios de animales (Jacobson et al., 2021).

La moxidectina-doxiciclina (moxi-doxy) brinda una alternativa viable al compararlo con hacer ningún tratamiento, en los casos en que el tratamiento con arsénico no

es posible. Según la evidencia actual, el régimen de tratamiento sin arsénico más efectivo es doxiciclina 10 miligramos por kilogramos por vía oral cada 12 a 24 horas durante 28 días, combinado con moxidectina tópica a la dosis indicada en la etiqueta. La moxidectina se repite mensualmente hasta que se confirma el estado de ausencia de antígeno detectado (NAD, por sus siglas en inglés “No Antigen Detected”) (Jacobson et al., 2021).

La moxidectina inyectable de liberación sostenida, en combinación con la doxiciclina, puede proporcionar una alternativa en regiones remotas o en entornos donde existen problemas significativos de cumplimiento o accesibilidad, pero se necesitan más estudios para confirmarlo. En los protocolos de moxi-doxi descritos, la doxiciclina debe repetirse anualmente hasta NAD (Jacobson et al., 2021).

2.9 IMPORTANCIA PARA LA SALUD PÚBLICA

La *Dirofilaria immitis* es considerada un parásito zoonótico, con capacidad de infectar al hombre de forma accidental. Las infestaciones humanas pueden ser causadas por un solo parásito, excepcionalmente por dos, y la transmisión se da por la picadura de mosquitos infectados. Las personas con más probabilidades de infectarse son aquellas que viven en zonas endémicas. Después que una persona es inoculada con larvas del tercer estadio procedentes de la picada de un mosquito, la mayoría de estas larvas mueren en el tejido subcutáneo, sin

embargo, algunas podrían continuar su desarrollo y migrar hacia los pulmones (Ordóñez Mazariegos, 2016).

Generalmente, las personas infectadas son asintomáticas, pero si llegan a presentar signos, éstos suelen manifestarse como molestias torácicas, tos, fiebre y ocasionalmente hemoptisis. La lesión pulmonar suele descubrirse por medio de radiografías, donde el parásito muchas veces se confunde con tumores pulmonares primarios o metastásicos. El diagnóstico no logra establecerse hasta que se realiza una resección pulmonar y biopsia (Ordóñez Mazariegos, 2016).

3. MATERIALES Y METODOS

3.1 MATERIALES

3.1.1 Materiales de campo

- Botas
- Guantes
- Alicates
- Alambre dulce
- Lámpara de cabeza
- Hilo

3.1.2 Materiales de captura

- Trampas Tomahawk
- Trampas de pie suave
- Cámaras trampa

- Red de inmovilización
- Balanza
- Cebos (patas de pollo y huesos de bovinos y porcinos)
- Bozal
- Kennel
- Lona

3.1.3 Material para toma de muestras

- Jeringas de tres mililitros
- Tubos EDTA de un mililitro
- Alcohol
- Catéter 22
- Fluidos 500 mililitros
- Vías para fluidoterapias
- Lagrimas artificiales
- Gazas y algodón
- Termómetro
- Estetoscopio
- Monitor multiparámetros

3.1.4 Materiales de laboratorio

- Microscopio
- Porta objetos
- Cubre objetos
- Aceite de inmersión
- Snap 4Dx Plus

3.1.5 Medicamentos

- Ketamina 100 miligramos
- Xilacina 20 miligramos
- Yohimbina 20 miligramos
- Vivirán 20 miligramos
- Atropina un miligramo

3.2 METODOS

3.2.1 Lugar del estudio

Se establecieron distintas zonas de captura en varias regiones del país, seleccionadas de acuerdo al comportamiento de las poblaciones de coyotes que fueron monitorizadas previamente. Los sitios específicos se identificaron en base en la experiencia previa en captura de coyotes, así como de los datos sobre sus movimientos y ámbitos de hogar (Ortega et al., 2023), aumentando así las probabilidades de éxito en las capturas.

Los lugares seleccionados fueron zonas del área Metropolitana, como la zona de amortiguamiento del Parque Nacional Camino de Cruces (Ciudad del Saber), con coordenadas 9.011588, -79.585540 y el Parque Natural Cerro Ancón en la ciudad Panamá, con coordenadas 8.957093, -79.550913. En provincia centrales los sitios de captura fueron en la Colorada, en la provincia de Veraguas. Todos los sitios de trabajo contaron con los correspondientes permisos emitidos por el Ministerio de Ambiente (Anexo).

3.2.2 Captura y marcaje de coyotes

Las capturas de los coyotes se realizaron utilizando trampas tipo Tomahawk y de pie suave, las cuales fueron distribuidas en lugares previamente establecidos, con actividad de coyotes. Todos los sitios fueron monitorizados con cámaras trampa. Las trampas fueron cebadas con huesos de bovinos, porcinos y patas de pollo, y se activaron por jornadas de captura preestablecidas. Todas las trampas activadas se monitorizaron con cámara trampa, y se revisaron cada 12 horas en el caso de las Tomahawk y cada tres horas en el caso de las trampas de pie suave, para garantizar la seguridad de los animales. En el caso de las Tomahawk, el animal fue anestesiado dentro de la jaula, mientras que, en el caso de las de pie suave, la inmovilización se realizó inicialmente con redes para posteriormente realizar la contención química.

La contención química se realizó utilizando Xilacina (un miligramo por kilogramo intramuscular) y Ketamina (quince miligramos por kilogramos intramuscular). Luego de ser pesados los animales, se les ajustó la dosis para garantizar el adecuado manejo.

En caso de presentar hipersecreción por efecto de la Ketamina, se le administró Atropina (0,02 miligramos por kilogramos intravenosa). Una vez procesados los coyotes para la obtención de las muestras, se aplicó Yohimbina (0,1 miligramo por kilogramo intramuscular) para revertir el efecto de la Xilacina, colocándolo en una jaula tipo kennel hasta su total recuperación. Una vez recuperado de los efectos de la anestesia, se procedió a su liberación. Todos los individuos adultos capturados fueron marcados con un collar holgado de cuero, con coloración y

marcas únicas o con collares GPS, permitiendo así un mejor control de los animales y evitar recapturas. Los protocolos utilizados para la captura y manipulación de los coyotes fueron avalados por el Comité de Ética de la investigación y el bienestar de los animales de la Universidad de Panamá (Anexo).

Para la determinación del sexo de los coyotes, se realizó el examen de los genitales. La edad se determinó mediante el desgaste dental de los incisivos, caninos y carnasiales (Gibson et al., 2000). Se establecieron tres grupos etarios según la cronología dentaria: menores a un año, entre uno y dos años y mayores a dos años.

3.2.3 Toma de muestra

Se extrajo muestra de sangre por venopunción de la vena cefálica, localizada en la cara dorsal del antebrazo; la vena yugular, localizada en el área anterolateral del cuello; o la femoral, localizada en la cara lateral de los miembros posteriores. El total de sangre recolectado fue de aproximadamente un mililitro, la cual fue almacenada en tubos EDTA (tapa morada), y almacenadas a +4 grados Celsius. En caso de no haber podido analizar las muestras en un periodo máximo de 24 horas, se separó el suero y se conservó a -20 grados Celsius.

3.2.4 Análisis de las muestras

Para la detección de antígenos de *Dirofilaria immitis* en sangre, se utilizó la prueba rápida Snap 4Dx Plus. Adicional, se realizó la prueba de gota gruesa con sangre completa, para determinación de microfilarias circulantes.

3.2.4.1 Observación Mediante Técnica de Gota Gruesa

La observación directa de la gota gruesa es un método sencillo que consistió en colocar una gota de sangre sobre un portaobjetos y esparcir rápidamente la gota hasta formar una circunferencia de un centímetro de diámetro, dejándola secar horizontalmente para garantizar que el secado haya sido uniforme. Luego, se colocó un cubreobjetos y aceite de inmersión para examinarlo directamente al microscopio (Peñaloza, 2015).

3.2.4.2 Prueba de Detección de Antígenos

Es una prueba utilizada para la detección cualitativa de antígenos de *Dirofilaria immitis* en suero, plasma o sangre total con un elevado nivel de precisión (Bertha, 2022).

3.2.4.2.1 Procedimiento

Se abrió el dispositivo y se colocó en una superficie plana y seca. Se utilizó el dispensador y se agregó una gota de sangre o suero en el pocillo de la muestra,

inmediatamente se agregó dos gotas del buffer. Se esperó por cinco a diez minutos para la lectura de los resultados, siguiendo las instrucciones del fabricante.

3.2.5 Parámetros a evaluar

Se evaluaron los resultados de las pruebas realizadas y las características de los animales capturados (sexo y edad).

3.2.6 Análisis de datos

Los datos obtenidos de las pruebas realizadas y de los animales capturados fueron registrados y analizados en una plantilla de Excel. Para la determinación de la prevalencia, se utilizó la fórmula indicada en la figura 1.

$$P = \frac{\text{Nº de casos con la enfermedad en un momento dado}}{\text{Total de población en ese momento}}$$

Figura 1: Fórmula de prevalencia para calcular la proporción de coyotes con presencia de *D. immitis*. Fuente: Fernandez et al., (2004).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 RESULTADOS

Se capturaron en total 11 coyotes, seis en la provincia de Veraguas y dos en zonas de bosque aledaños al Área Metropolitana de la Ciudad de Panamá. Se incluyeron en el estudio tres coyotes en cautiverio procedentes del Zoológico El Nispero, ubicado en el Valle de Antón, provincia de Coclé (Cuadro II).

CUADRO II. RESULTADOS DE LAS PRUEBAS REALIZADAS PARA LA DETERMINACIÓN DE *D. immitis* EN COYOTES MUESTREADOS

Código de la muestra	Ubicación	Estado	Resultado a la Prueba de Antígeno	Resultado a la prueba de la Gota gruesa
CI_01	La Colorada, Santiago, Veraguas	Vida libre	Negativo	Negativo
CI_02	Atalaya, Atalaya, Veraguas	Vida libre	Negativo	Negativo
CI_03	El Valle, Antón, Coclé (Originario de Natá)	Cautiverio	Positivo	Positivo

CI_04	El Valle, Antón, Coclé (Originario de Los Santos)	Cautiverio	Negativo	Negativo
CI_05	El Valle, Antón, Coclé (Originario de Natá)	Cautiverio	Negativo	Negativo
CI_06	La Colorada, Santiago, Veraguas	Vida libre	Negativo	Negativo
CI_07	La Colorada, Santiago, Veraguas	Vida libre	Negativo	Negativo
CI_08	La Colorada, Santiago, Veraguas	Vida libre	Negativo	Negativo
CI_09	La Colorada, Santiago, Veraguas	Vida libre	Negativo	Negativo
CoPa-01	Ciudad del Saber	Vida libre	Negativo	Negativo
CoPa-02	Cerro Ancón	Vida libre	Negativo	Negativo

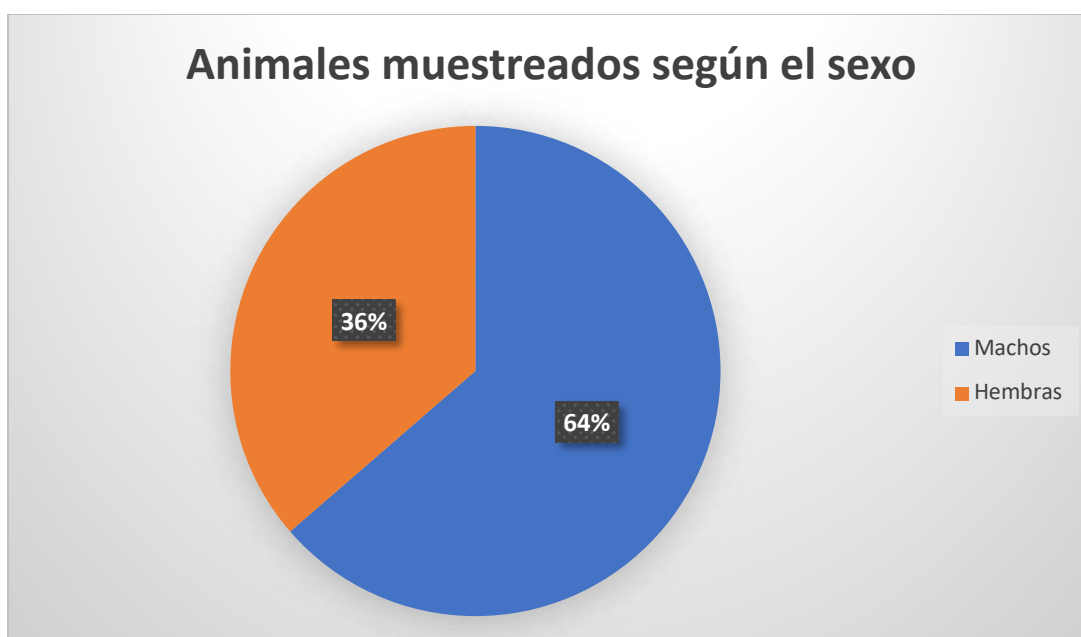
De los animales muestreados siete eran machos (64 por ciento) y cuatro eran hembras (36 por ciento) (Grafica I, Cuadro III).

La distribución de los coyotes estudiados, según edad, fue la siguiente: dos (18 por ciento) eran menores a un año, seis (55 por ciento) entre uno y dos años y tres (27 por ciento) mayores a dos años (Grafica II, Cuadro IV),

CUADRO III. ANIMALES MUESTREADOS SEGÚN EL SEXO

Sexo de los coyotes	Animales capturados	Porcentaje (por ciento)	Animales positivos a <i>D. immitis</i>	Prevalencia encontrada (por ciento)
Machos	7	64	0	0
Hembras	4	36	1	25

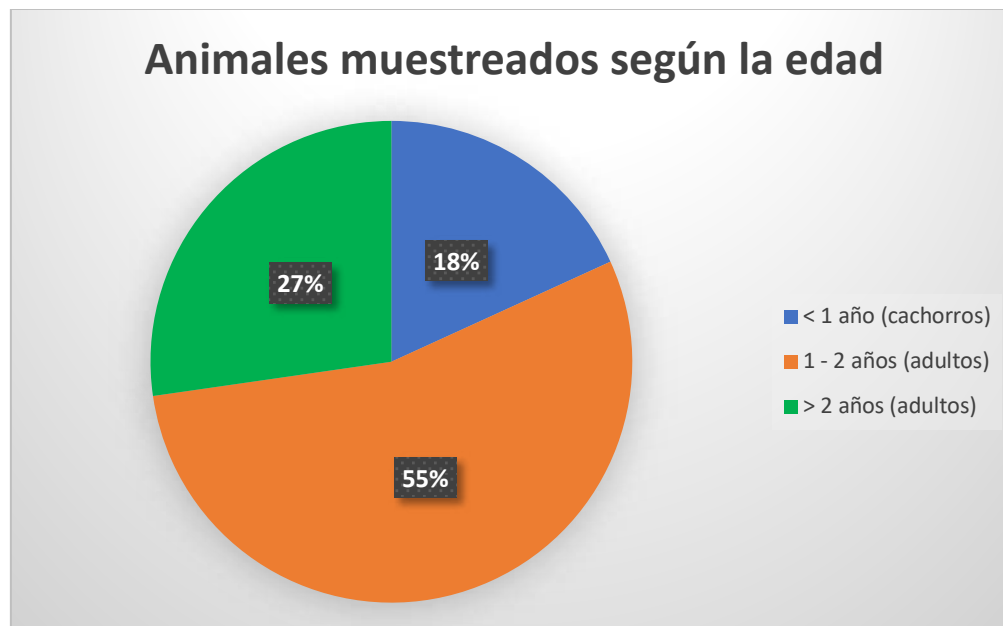
GRAFICA I. DISTRIBUCIÓN DE LOS ANIMALES MUESTREADOS SEGÚN EL SEXO



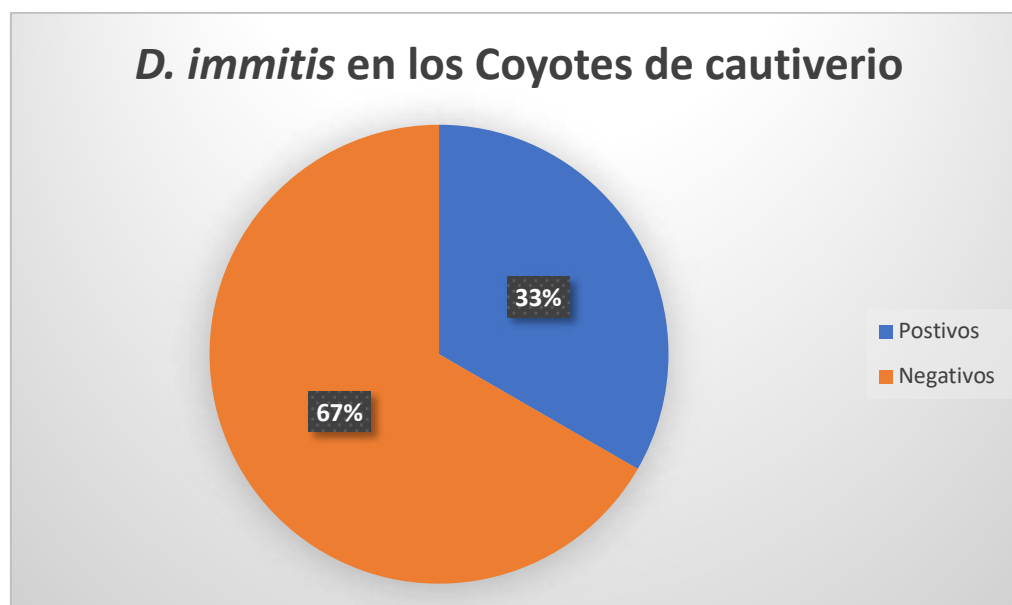
CUADRO IV. ANIMALES MUESTREADOS SEGÚN LA EDAD

Edad de los coyotes	Animales capturados	Porcentaje (por ciento)	Animales positivos a <i>D. immitis</i>	Prevalencia encontrada (por ciento)
< 1 año	2	18	0	0
Entre 1 – 2 años	6	55	0	0
>2 años	3	27	1	33.3

GRAFICA II. DISTRIBUCIÓN DE ANIMALES MUESTREADOS SEGÚN LA EDAD

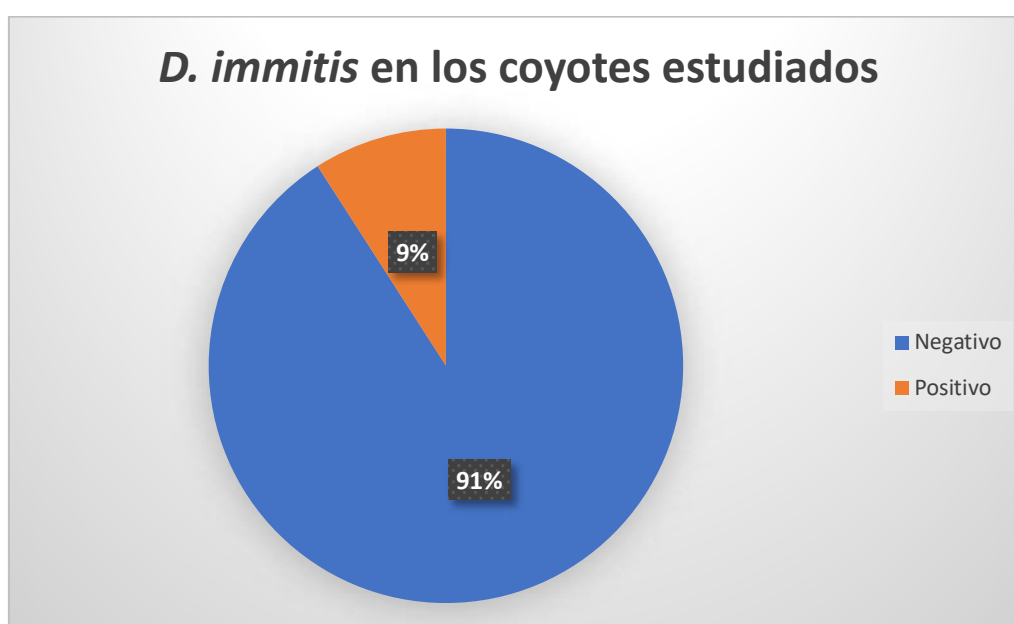


GRAFICA III. PRESENCIA DE LA *D. immitis* EN COYOTES EN CAUTIVERIO



Ningún coyote de vida libre resultó positivo a *Dirofilaria immitis*; solo una hembra en cautiverio resultó positiva, lo que representó una prevalencia del 33.3 por ciento para este grupo (Gráfica III). Con relación a la totalidad de animales incluidos en el estudio, representó un nueve por ciento (Gráfica IV). La hembra positiva se encontraba en el grupo etario de mayores de dos años.

GRAFICA IV. PRESENCIA DE LA *D. immitis* EN LOS COYOTES ESTUDIADOS



4.2 DISCUSIÓN

En este estudio se pudo determinar la presencia de *D. immitis* en coyotes en la república de Panamá, utilizando dos técnicas diagnósticas diferentes, la prueba de antígenos y la gota gruesa. Aunque solo un animal resultó positivo, los resultados obtenidos tienen un valor relevante, ya que permitió reconocer que, a pesar que las condiciones del país favorecen la presentación de este parásito, su presencia no es frecuente en esta especie de cánido silvestre. Este patrón es similar a otros estudios realizados en coyotes de regiones como Estados Unidos

(Brandon, 2021), donde las prevalencias encontradas fueron bastante bajas (Paras et al., 2012). Ocurrió algo similar en otro estudio realizado en Canadá, donde la prevalencia general también resultó baja (Kotwa et al., 2019). Sin embargo, otros estudios realizados en otros estados de Estados Unidos, como Florida (Aher et al., 2016), California, Georgia y Carolina del Norte demostraron una prevalencia más elevada. En especial, en el estudio realizado en California se mencionó que luego de una temporada de sequía, cuando comenzaron las lluvias, la prevalencia de la enfermedad aumentó en comparación a la temporada seca (Wildl Dis, 2015), lo que evidencia la relevancia de las condiciones climáticas de la zona en el aumento de la enfermedad.

A pesar que el coyote es considerado reservorio silvestre de parásitos como la *Dirofilaria immitis*, el hallazgo de su presencia en un animal en cautiverio, sugiere que la infección se pudo haber dado fuera del entorno donde fue encontrado el animal. Aún así, hay que recordar el rol descrito de los coyotes como diseminadores de enfermedades, no solo entre cánidos silvestres, sino también entre los domésticos (Sobotyk et al., 2022). En el caso de los animales en cautiverio incluidos en el estudio, ninguno contaba con un plan sanitario o de prevención de enfermedades, el cual suele ser frecuente en animales bajo el cuidado del hombre, por lo que las probabilidades que este animal sea en una fuente de diseminación del agente es bastante alto, considerando que se encuentra en un zoológico donde la afluencia de visitantes de otras regiones del país es frecuente y que una de las pruebas realizadas confirmó la presencia de microfilarias circulantes en sangre. Sin embargo, es importante tener en cuenta en este punto el papel significativo que desempeñan los mosquitos vectores en la propagación de la Dirofilariasis (Sánchez, 2011)

A pesar que la hembra coyote resultó positiva con las dos técnicas diagnósticas utilizadas, confirmando la infección activa, no era evidente la enfermedad en sí. Esto confirma que la infección puede estar presente en un animal, sin que las manifestaciones clínicas puedan ser observadas. En este aspecto, se ha descrito que, en las primeras etapas de la enfermedad, muchos animales muestran pocos

o ningún signo clínico. Sólo los animales muy infectados o aquellos con otros problemas de salud, suelen mostrar signos clínicos pronunciados. En general, la expectativa de vida de un animal con *Dirofilariasis* varía considerablemente. Se sabe que hay aspectos que influyen, como la gravedad de la infección, la respuesta del sistema inmunológico, la presencia de complicaciones y la atención médica que reciba. En general, si la infección no se trata, puede tener consecuencias graves y reducir significativamente la expectativa de vida (American Heartworm Society, 2014).

La hembra detectada con *Dirofilariasis* en el estudio se caracterizó por ser una adulta, cuya edad calculada fue mayor de dos años. Se sabe que esta enfermedad afecta más a animales adultos. Así lo refieren estudios, donde los coyotes adultos demostraron una prevalencia más alta en comparación con los juveniles; no necesariamente porque exista una predisposición como tal, sino porque desde la exposición inicial de las larvas a la presencia del gusano adulto con microfilarias, requiere de varios meses. En este sentido, si la infección se da de cachorro, el momento de desarrollar la enfermedad será, muy probablemente, cuando el animal sea adulto (Aher et al., 2016).

Para finalizar, a pesar que las técnicas utilizadas permitieron la detección de un animal con *Dirofilariasis* en el estudio realizado, se sabe que la sensibilidad de las mismas no son las máximas. En el caso de la prueba de detección de antígenos, la sensibilidad descrito es del 80 por ciento, comparándola con otras técnicas como la de necropsia, que es el método de diagnóstico definitivo más confiable (Kotwa et al., 2019). En cuanto a la prueba de gota gruesa, la sensibilidad descrita es bastante alta, siempre que se trate de una infección masiva, con más de 1000 microfilarias por mililitro de sangre. Por el contrario, si la carga es entre 50 a 100 microfilarias por mililitro de sangre, la sensibilidad suele ser muy baja. Por lo tanto, siempre se recomienda realizarla junto a otra técnica como la prueba de antígenos o la técnica de Knott (Alvarez et al., 2019).

5. CONCLUSIONES

- Este estudio permitió determinar la presencia de *D. immitis* en coyotes, lo que constituye la primera descripción del parásito en este cánido en Panamá.
- En las pruebas serológicas y de observación directa realizadas, se obtuvo un nueve por ciento de prevalencia en animales positivos, por lo que se puede concluir que su presencia no es frecuente en esta especie de cánido silvestre.

6. RECOMENDACIONES

- Se promueve la realización de más estudios, en los que se utilicen técnicas diagnósticas más sensibles y específicas, para detectar la *D. immitis* en coyotes de distintas regiones del país.
- Se recomienda igualmente la realización de otros estudios enfocados en la detección de la *D. immitis* en otros hospedadores, tanto domésticos como silvestres, para ampliar el rango de especies que puedan estar afectadas.
- Se recomienda realizar estudios más profundos para determinar si existe la transmisión de *D. immitis* entre animales domésticos y silvestres, para reconocer mejor la dinámica de la enfermedad.

7. REFERENCIAS CITADAS

- *Acuña, P. (2002). Determinación de la Prevalencia de Dirofilaria immitis en los distritos de San Martín de Porres, Lima y Rimac. Lima, Perú. Proyecto de investigación.*

in[https://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/1239/Acu%
%c3%b1a_up.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/1239/Acu%c3%b1a_up.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

- Aher, A. et al. (2016). Prevalencia, análisis genéticos y factores de riesgo asociados con *dirofilaria immitis* en coyotes salvajes (*canis latrans*) de florida, EE.UU. PubMed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27458831/>
- Alvarez, D. et al. (2019). Prevalencia de *Dirofilaria immitis*, identificada con el método de gota gruesa, en pacientes caninos atendidos en Veterinaria Valverde, Managua, enero-abril 2019. Proyecto de investigación. <https://repositorio.una.edu.ni/3932/1/tnl73a473p.pdf>
- American Heartworm Society. (2014). Ciclo de vida de la *Dirofilaria*. Artículo. https://d3ft8sckhngim2.cloudfront.net/images/documents/2014_AHS_Canine_Guidelines.Spanish.Investigable.pdf?1457714969.
- American Heartworm Society. (2014). Prevención, Diagnóstico y Gestión de la Infección de *Dirofilaria* (*Dirofilaria immitis*) en Perros. Artículo. https://d3ft8sckhngim2.cloudfront.net/images/heartworm-guidelines/2014_AHS_Canine_GuidelinesSpanishInvestigable.pdf?1668035177
- Ashbaugh, R. (2021). El Coyote. NatureMapping Program. http://naturemappingfoundation.org/natmap/facts/espanol/coyote_es.html

- Bertha, V. (2022, marzo). *Prevalencia de la Dirofilaria immitis en perros de la parroquia Quiroga del cantón bolívar. Proyecto de investigación.* https://repositorio.espam.edu.ec/xmlui/bitstream/handle/42000/1766/TIC_MV_04D.pdf?sequ%20ence=1&isAllowed=yhttps://n9.cl/6u10
- Brandon, M. (2021). *Dirofilaria immitis prevalence in canis latrans in kentucky. Murray State´s Digital Commons.* <https://digitalcommons.murraystate.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1247&context=etd>
- Cabrera, E. (2015). *Repercusiones Zoonóticas de Dirofilaria immitis en las Islas Canarias. Tesis Doctoral.* <https://accedacris.ulpgc.es/handle/10553/18809>
- Candanedo, S. (2021). *Dirofilariasis canina en Panamá Reporte de primeros casos Diagnóstico de inmunocromatografía y necropsia. Revista de investigación.* <https://www.guiasmedica.com/primer-reporte-de-casos-dirofilariosis-canina-en-panama-una-zoonosis-potencial/>
- Castaño, A. (2017). *Avance del coyote amenaza la biodiversidad colombiana. Artículo Semana.* <https://www.semana.com/medio-ambiente/articulo/coyote-y-su-avance-amenaza-la-biodiversidad-colombiana/37276/>
- Cazaux, N. et al. (2019). *Dirofilariasis canina: una parasitosis emergente favorecida por el cambio climático. Portal de revistas de la UNLPam.* <https://cerac.unlpam.edu.ar/index.php/veterinaria/article/view/3925>

- Cordero del Campillo, M. (2001). *Parasitología Veterinaria*. Libro. <https://es.scribd.com/document/519524123/Parasitologia-Veterinaria-Cordero>
- Corimanya, J. et al. (2004). *Frecuencia de Dirofilaria immitis en caninos del distrito de San Juan de Lurigancho*. Scielo Perú. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172004000200008
- Dantas, F. et al. (2013). *Dirofilariosis in the Americas: ¿a more virulent Dirofilaria immitis?* PubMed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24274042/>
- Díaz, E. (2022). *Prevalencia de Dirofilaria immitis en la Comunidad de El Coco, Miraflores, Rincón de las Palmas y Aguas Blancas en el distrito de Penonomé, provincia de Coclé*. Proyecto de investigación.
- Fernandez, P. et al. (2004). *Medidas de frecuencia de enfermedad*. Artículo. https://www.fisterra.com/mbe/investiga/medidas_frecuencia/med_frec2.pdf
- García, L. et al. (2013). *Is Wolbachia participating in the bronchial reactivity of cats with heartworm associated respiratory disease?* PubMed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23433646/>
- Gates, M. et al. (2014, 6 agosto). *Parasitology, virology, and serology of free-ranging coyotes (Canis latrans) from central Georgia, USA*. National library of medicine. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25098300/>

- Gibson, P. et al. (2000). Accuracy and precision of estimating age of gray wolves by tooth wear. University of Nebraska - Lincoln.
<https://core.ac.uk/download/pdf/189480179.pdf>
- Gómez, L. (2006). Reporte de un caso de *Dirofilaria immitis* en un perro, Hallazgo de antígenos y confirmación del parásito a la necropsia. Revista.
<https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=3240579>
- Harris, N. et al. (2010). Using host associations to predict spatial patterns in the species richness of the parasites of North American carnivores. PubMed.
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20875037/>
- Jacobson, L. et al. (2021). An Accessible Alternative to Melarsomine: «Moxi-Doxy» for Treatment of Adult Heartworm Infection in Dogs. PubMed.
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34386540/>
- Jonhstone, C. et al. (1997). Parasitology – *Dirofilaria immitis*. Libro.
<http://cal.vet.upenn.edu/parasit/heartworm>
- Kotwa, J. et al. (2019). Prevalence and distribution of *Dirofilaria immitis* infection in wild canids in southern Ontario. PubMed.
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31796196/>
- Kruse, H. et al. (2004). Wildlife as Source of Zoonotic Infections. Article.
https://wwwnc.cdc.gov/eid/article/10/12/04-0707_article

- Medina, G. (2010). *Ecology of emerging infectious diseases and wild species conservation*. Artículo. [https://www.researchgate.net/publication/286031783 Ecology of emerging infectious diseases and wild species conservation](https://www.researchgate.net/publication/286031783_Ecology_of_emerging_infectious_diseases_and_wild_species_conservation)
- Melero, R. (2016). *Anopheles*. Artículo. <https://fundacionio.com/salud-io/one-health/entomologia-para-todos/anopheles/>
- Morales, J. (2018). *Qué es la Dirofilaria y cómo afecta a las mascotas*. Blog Grupo Lovet. <https://www.grupolovet.com/blogs/noticias/que-es-la-dirofilaria-y-como-afecta-a-las-mascotas>
- Morales, K. (2021). *Seroprevalencia y Factores de Riesgo de Dirofilaria Immitis en Albergues Caninos en el Municipio de Barrancabermeja, Santander*. Proyecto de investigación. <https://repositorio.udes.edu.co/entities/publication/dad9af3f-cc29-42f8-822b-06b6e7ee10da>
- Muñoz Gajardo, M. (2003). *Enfermedad del gusano del corazón*. Revisión bibliográfica. <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2003/fvm971d/doc/fvm971d.pdf>
- OMS. (2019). *Lucha contra el Dengue*. Organización mundial de la salud. <https://n9.cl/daeb>
- Ortega, J. et al. (2023). *Biologging Insights: Ámbito de Hogar, Actividad, y Dieta Preliminar 3 del Coyote (Canis latrans) en Panamá*. Artículo científico.

- Paras, K. et al. (2012). *Detection of Dirofilaria immitis and Ehrlichia species in coyotes (Canis latrans), from rural Oklahoma and Texas.* PubMed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22448722/>
- Peñaloza, M. (2015). *Diagnóstico de Dirofilariosis canina en perros de los barrios rurales del cantón Catamayo de la provincia de Loja a través del test "4Dx canino".* Tesis de Grado. <https://dspace.unl.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/11534/1/TESIS%20MAYRA%20ALEJANDRA%20PE%20C3%91ALOZA%20LOJA.pdf>
- Sánchez, M. (2011). *Dirofilaria immitis: una zoonosis presente en el mundo.* Scielo. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S012293542011000200007
- Sobotyck, C. et al. (2022). *Detection of Dirofilaria immitis via integrated serological and molecular analyses in coyotes from Texas, United States.* PubMed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35399590/>
- Vallat, B. (2004). *Zoonosis emergentes y reemergentes.* Organización mundial de sanidad animal. https://www.woah.org/fileadmin/vademecum/esp/PDF_WORD_Vademecum/DELEGUE_FINAL/Slide%207/ES/Bonne_gouvernance/18112004/Zoonosis%20emergentes%20y%20reemergentes.pdf
- Varela, C. et al. (2021). *Prevalencia de Dirofilaria immitis mediante técnicas de Knott modificado y método gota gruesa, en caninos de la comunidad*

*Salinas Grande departamento de León en el periodo de marzo - abril 2021.
Proyecto de investigación.*

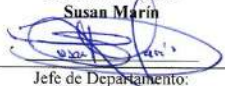

<http://riul.unanleon.edu.ni:8080/jspui/bitstream/123456789/9458/1/250660.pdf>

- *Wildl Dis, J. (2015). Parasitología y serología de coyotes en libre (canis latrans) en carolina del norte, ee.uu. PubMed.*

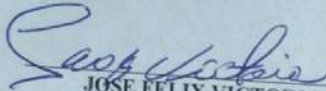
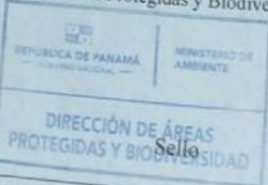
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25984773/>

ANEXOS

Permiso de acceso a recursos genéticos y/o biológicos

DIRECCION DE AREAS PROTEGIDAS Y BIODIVERSIDAD DEPARTAMENTO DE BIODIVERSIDAD SECCIÓN DE ACCESO A RECURSOS GENÉTICOS Y BIOLÓGICOS (SARGE B) PERMISO DE ACCESO A RECURSOS GENÉTICOS Y/O BIOLÓGICOS			
A. DATOS DEL PERMISO			
Tipo de Permiso: Acceso a Recurso Biológico	Número de Solicitud: 0156-2020	Fecha de validez:	
Tipo de Acceso: Colecta, Observación	Utilización: Fines Científicos	Desde: 24 / noviembre / 2020	
Tipo de Recurso: Fauna	Número de Permiso: SE/A-51-2020	Hasta: 24 / noviembre / 2023	
B. DATOS DEL SOLICITANTE			
Persona Natural / Persona Jurídica: Josué Ortega	No. de Identificación personal / Generales de inscripción: 9-751-1606		
Contraparte Nacional que respalda la investigación: Fundación Yaguará Panamá			
Persona Jurídica Internacional: N/A (Solamente para acceso a recurso genético con fines comerciales)			
C. DATOS DEL PROYECTO			
Título del Proyecto: Ecología y riqueza parasitaria del coyote (<i>Canis latrans</i>) en Panamá			
Objetivo del Proyecto: Estimar la prevalencia de parásitos helmintos de interés zoonótico en coyotes (<i>Canis latrans</i>), y su impacto a la salud pública en Panamá			
D. RECURSO BIOLÓGICO Y/O GENÉTICO A ACCEDER			
NOMBRE COMUN	NOMBRE CIENTÍFICO	CANTIDAD	DESCRIPCIÓN
Coyote	<i>Canis latrans</i>	30	Se extraerán muestras de sangre, ectoparásitos y los endoparásitos a través de excretas. Se examinarán los cadáveres de coyotes atropellos y se colocaran todas las muestras biológicas posibles.
Otras especies	Varias especies	20	Se procederán las especies que se capturen de manera no deseada y se tomaran muestras de sangre y parásitos
Cantidad total: (2) casillas			
Lugar de Estudio Mencionar si se otorgó CLIP, acceso a Conocimiento Tradicional asociado al recurso biológico o genético y si existen Condiciones Mutuamente Acordadas.		Finca Privada El Conejo y Finca Toseres en el corregimiento de La Colorada de Santiago, Provincia de Veraguas.	
E. PARTICIPANTES DE LA INVESTIGACIÓN			
No.	Nombre	Número de identificación	
1.	Kathia Guerra	9-726-2039	
2.	Sergio Bermudez	8-498-235	
3.	Roland Kays	454255489	
4.	Ricardo Moreno	8-483-521	
5.	Claudia Rengifo	8-718-2287	
Se adjunta listado de una (1) página, con la lista de participantes de la investigación.			
Obligaciones que deben cumplir los responsables. A) Portar en todo momento una copia de la resolución correspondiente; B) Los investigadores principales y sus colaboradores deben reportarse a cualquiera de las oficinas del Ministerio de Ambiente más cercana al sitio de estudio antes de iniciar las actividades de campo, con el fin de solicitar la colocación del sello o nombre y firma del funcionario en la copia del permiso; C) Entregar a la Sección de Acceso a Recursos Genéticos (SARGE B) un informe impreso y digital, en español, o la publicación científica con resumen en español, una vez culminada la validez de la resolución. El informe comprenderá, como mínimo, los siguientes puntos: Nombre del titular del permiso, Título del proyecto, Número de permiso, Objetivos, Lugar de estudio, incluyendo coordenadas, Recurso biológico (nombre científico, cantidad, descripción), Resultados preliminares (para renovación de permiso), Resultados finales y/o Artículo científico; D) Entregar la certificación de depósito de muestras, emitida por la Colección Biológica de Referencia reconocidas por el Ministerio de Ambiente. Excepto aquellos casos que no se cuente con una Colección Biológica de Referencia, indicándose en la Resolución respectiva; E) El investigador debe cumplir con las regulaciones particulares del área protegida o privada; F) Los recursos biológicos y genéticos sobrantes de las investigaciones sin fines comerciales quedarán a disposición del Ministerio de Ambiente.			
Este permiso es emitido por: Dirección de Áreas Protegidas y Biodiversidad	Técnico Evaluador: Susan Marín 	 SHIRLEY BINDER Directora de Áreas Protegidas y Biodiversidad	
Fecha de emisión:	Jefe de Departamento: Disneiv Fajardo		

Modificación o inclusión al permiso de acceso a recursos genéticos y/o biológicos.

MINISTERIO DE AMBIENTE DIRECCIÓN DE ÁREAS PROTEGIDAS Y BIODIVERSIDAD DEPARTAMENTO DE BIODIVERSIDAD SECCIÓN DE ACCESO A RECURSOS GENÉTICOS Y BIOLÓGICOS (SARGEB) MODIFICACIÓN O INCLUSIÓN AL PERMISO DE ACCESO A RECURSOS GENÉTICOS Y/O BIOLÓGICOS		
A. DATOS DEL PERMISO		
Permiso de Acceso aprobado	Modificación o Inclusión aprobada	
Número de Permiso: SE/A-51-2020	Resolución No.:	
Fecha de validez: Desde: 07 de junio de 2022 Hasta: 24 de noviembre de 2023	n/a	
Título del proyecto: Ecología y riqueza parasitaria del coyote (<i>Canis latrans</i>) en Panamá.		
B. DATOS DEL SOLICITANTE		
Persona Natural / Persona Jurídica: Jose Abel Ortega	No. de Identificación personal / Generales de inscripción: 9-751-160	
Contraparte Nacional que respalda la investigación: Fundación Yaguará Panamá.		
C. RECURSO BIOLÓGICO Y/O GENÉTICO A ACCEDER		
En la solicitud presentada el 07 de junio de 2022, por La Fundación Yaguará Panamá, no se requiere acceder a nuevos recursos biológicos y/o genéticos, al permiso SE/A-51-2020, otorgado el 23 de noviembre de 2020.		
D. LUGAR DE ESTUDIO		
<ul style="list-style-type: none"> • PN Soberanía • PN Camino de Cruces • PILA • PN Cerro Hoya • PN Sarigua • PN Santa fe • RF El Montuoso • BP Arraiján. 		
E. METODOLOGÍA		
En la solicitud presentada el 07 de junio de 2022, por La Fundación Yaguará Panamá, no se anexa nueva metodología, al permiso SE/A-51-2020, otorgado el 23 de noviembre de 2020.		
F. PARTICIPANTES DE LA INVESTIGACION		
En la solicitud presentada el 07 de junio de 2022, por La Fundación Yaguará Panamá, no se requiere la participación de nuevos participantes, al permiso SE/A-51-2020, otorgado el 23 de noviembre de 2020.		
Este permiso es emitido por:	Técnico Evaluador:	 JOSE FELIX VICTORIA Director de Áreas Protegidas y Biodiversidad Encargado
Dirección de Áreas Protegidas y Biodiversidad	Anthony Vega	
Fecha de emisión:	Jefe de Departamento:	
07 de junio de 2022	Eric D. Nuñez	 DIRECCIÓN DE ÁREAS PROTEGIDAS Y BIODIVERSIDAD
Apartado C, Zona 0843, Balboa, Ancón, Panamá, Albrook, Calle Diego Domínguez, Edificio 804, www.miambiente.gob.pa		

Aval otorgado por el Comité de Ética de la Investigación y el Bienestar de los animales (CEIBA-UP)



UNIVERSIDAD DE PANAMÁ
VICERRECTORÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSTGRADO



COMITÉ DE ÉTICA DE LA INVESTIGACIÓN Y EL BIENESTAR DE LOS ANIMALES (CEIBA)

Panamá, 30 de junio de 2022

CEIBA-UP-026-2022

Investigadora

Claudia Rengifo

E. S. D.

Respetada Investigadora:

El Comité de Ética de la Investigación y el Bienestar de los Animales de la Universidad de Panamá CEIBAUP, otorga aval al protocolo de investigación titulado: **“Evaluación de agentes infecciosos y parasitarios en coyotes en Panamá”** investigadora principal Claudia Rengifo.

Se le agradece que finalizada la investigación haga entrega de una copia del informe final de esta investigación al CEIBAUP.

Atentamente,

Dr. Julio Ramos

Presidente