



UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS
DE GRAN CANARIA



Tesis Doctoral

REPERCUSIONES ZONÓTICAS DE DIROFILARIA IMMITIS EN LAS ISLAS CANARIAS

Doctoranda

Octubre 2015

Elena Dolores Cabrera Pedrero



PROGRAMA DE DOCTORADO EN CLÍNICA Y TERAPÉUTICA

Departamento de Patología Animal, Producción Animal, Bromatología Y Tecnología de los Alimentos



UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA
Departamento de Patología Animal, Producción Animal
Bromatología y Tecnología de los Alimentos

Anexo I

D.^a NOEMÍ CASTRO NAVARRO, SECRETARIA DEL DEPARTAMENTO DE PATOLOGÍA ANIMAL, PRODUCCIÓN ANIMAL, BROMATOLOGÍA Y TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS DE LA UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA,

CERTIFICA,

Que la Comisión de Doctores del Departamento en su sesión extraordinaria de fecha 26 de octubre de 2015, tomó el acuerdo de dar el consentimiento para su tramitación a la tesis doctoral titulada “REPERCUSIONES ZOONÓTICAS DE DIROFILARIA IMMITIS EN LAS ISLAS CANARIAS” presentada por la doctoranda D.^a Elena Dolores Cabrera Pedrero y dirigida por los doctores D. J. Alberto Montoya Alonso y D.^a Elena Carretón Gómez.

Y para que así conste, y a efectos de lo previsto en el Artº 6 del Reglamento para la elaboración, defensa, tribunal y evaluación de tesis doctorales de la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, firmo la presente en Arucas, a veintisiete de octubre de dos mil quince.

UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA
Departamento de Patología Animal, Producción Animal

Bromatología y Tecnología de los Alimentos

t +34 928 451 099
+34 928 451 137
f +34 928 451 142
e-mail secretaria@dpat.ulpgc.es
www.ulpgc.es
Edificio de Veterinaria
Campus U. De Montaña Cardones
35413 Arucas – Las Palmas

A large, abstract scribble made of many overlapping teal lines, partially framing the word 'Directores'.

Directores

J. Alberto Montoya - Alonso
Elena Carretón Gómez

A large, abstract scribble made of many overlapping pink lines, positioned to the right of the authors' names.



UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA
Departamento de Patología Animal, Producción Animal
Bromatología y Tecnología de los Alimentos

José Alberto Montoya Alonso, Doctor en veterinaria y Catedrático de Medicina y Cirugía Animal del Departamento de Patología Animal, Producción Animal, Bromatología y Tecnología de los Alimentos de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria y Director del programa de doctorado “CLÍNICA E INVESTIGACIÓN TERAPÉUTICA”

INFORMA:

Que **D^a. Elena Cabrera Pedrero**, Licenciada en Veterinaria, ha realizado, bajo mi dirección y asesoramiento, el presente trabajo de tesis doctoral titulado: “Repercusiones zoonóticas de la *Dirofilaria immitis* en las Islas Canarias” que considero reúne las condiciones y calidad científica necesarias, para su presentación y defensa, para optar al título de Doctora por la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria.

Lo que firmo, a los efectos oportunos,
en Arucas (Las Palmas) a veintiséis de Octubre de dos mil quince.

J. Alberto Montoya Alonso
Catedrático de Medicina y Cirugía Animal



UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA
Departamento de Patología Animal, Producción Animal
Bromatología y Tecnología de los Alimentos



Fundación
Universitaria
de Las Palmas

Elena Carretón Gómez, Doctora en Veterinaria y Máster Universitario en Medicina Veterinaria e Investigación Terapéutica, e Investigadora del Servicio de Medicina Veterinaria de la Fundación Universitaria de Las Palmas,

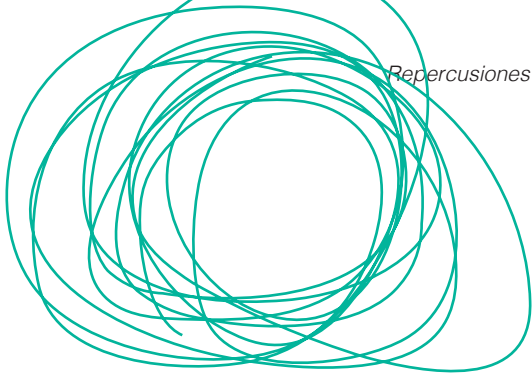
INFORMA:

Que **D^a. Elena Cabrera Pedrero**, Licenciada en Veterinaria, ha realizado, bajo mi dirección y asesoramiento, el presente trabajo de tesis doctoral titulado: “Repercusiones zoonóticas de la *Dirofilaria immitis* en las Islas Canarias” que considero reúne las condiciones y calidad científica necesarias, para su presentación y defensa, para optar al título de Doctora por la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria.

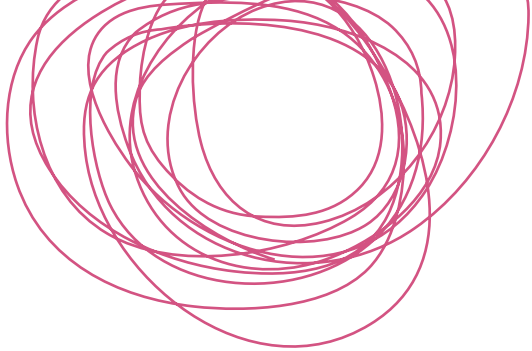
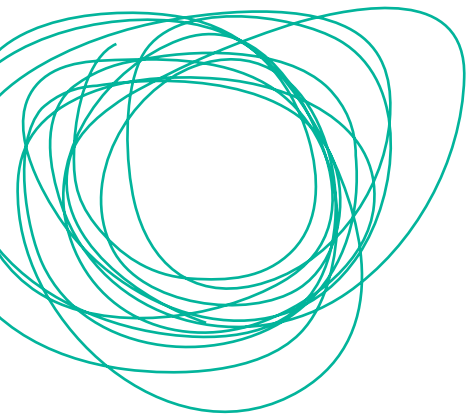
Lo que firmo, a los efectos oportunos,
en Arucas (Las Palmas) a veintiséis de Octubre de dos mil quince.

Elena Carretón Gómez

Doctora en Veterinaria



*A mis directores Elena y Alberto “los jefes”,
por decirme que sí se podía y ayudarme a que se pudiera.*



Agradecimientos

La vida te lleva por caminos que no habías previsto y eso la hace tan especial y a la vez tan terrorífica, a veces. Han pasado muchos años y muchas cosas desde que acabé la carrera de veterinaria hasta llegar hasta aquí, y en todos esos años y situaciones ha habido personas ayudándome y acompañándome a las que tengo mucho que agradecer. Escribir los agradecimientos de esta tesis, me ha hecho pensar en una ceremonia de los Oscar en la que seguro a mi me echarían del atril por pasarme del tiempo y aunque aquí no tengo ese límite, sé que me dejaré atrás algunos nombres y que espero que me perdonen.

Debo empezar por dos personas que han hecho que esta tesis sea posible, Elena Carretón y Alberto Montoya, han trabajado tantísimo para que esta tesis sea una realidad...., dedicando su tiempo libre a ayudarme a escribir, revisar y componer el resultado final. Alberto lleva ya muchos años confiando en mí y sé que no siempre he estado a la altura, no intencionadamente, sino por esas cosas que la vida nos pone delante a veces buenas y a veces no tanto, que nos roban el tiempo y la atención. Pero ahí ha seguido él, “achuchándome” y recordándome para que no me perdiera del todo y terminara este proyecto que es muy importante para mí. Elena lleva menos tiempo en mi vida pero ha entrado con mucha intensidad, quedando conmigo al salir de trabajar o incluso entre dos tiempos, aguantando mis bloqueos y desahogos, revisando, escribiendo, asesorando....muchísimas gracias a los dos. A Cande, por su cariño, su atención, sus consejos. Porque es el vivo

ejemplo de fuerza y coraje, mezcladas con una dulzura que consuela cuando más lo necesitas. A Ricardo y a Antonio, una parte muy importante de la facultad, ayudándome a conseguir todo, siendo el desastre que soy, en el último momento, literalmente ¡En el último! Y porque sé que se han alegrado mucho por mí. Otra persona que siempre está ahí, Eli, mi madrina de promoción, que me ofrece su ayuda siempre que me ve y a la que sé que puedo acudir, y lo hago. A Tacho, porque junto a su familia genial me llevaron a África, a vivir la mejor experiencia de mi vida hasta el momento. Y a Sergio y Yeray, porque creo que hubiera sido imposible reírme más, sobretodo en un laboratorio de parásitos rodeados de caquitas y barro.

El topicazo con más base del mundo es “gracias a mi familia...”, y ahí va, gracias a mi familia, a mis padres que me lo han dado todo y que han hecho posible que yo estudiara esta carrera permitiéndome conseguir tantísimas cosas, apoyándome en los fracasos y acompañándome en los éxitos. A mi hermano, por aparecer en mi puerta y preguntarme si estoy bien, y a mi hermana porque es una amiga incondicional a la que le cuento todo, incluso cuando sé que me va a regañar porque sé que eso es lo que necesito, por sus consejos y por mis sobrinos, porque son mi alegría. A ella también le debo tener a Andrés y a Amparo en mi vida, otro hermano y una segunda madre, ¡Muchísimas gracias! A mi tía Marily, mi madrina, que siempre está pendiente de mí aunque yo tenga “laaargas” ausencias.

Gracias a mi otra familia, “el grupeto” (“grupejo” si pasa mucho que no nos vemos), por estar ahí, cada uno en su papel y siempre para ayudar. Dentro de él, a Sara “Ruichi” con toda esa sensibilidad que no puede ocultar aunque a veces lo intente, que me escucha y sé que me entiende, siempre ahí. Sara “Sarmien” por ser madraza y siempre pendiente de los sentimientos de los demás, por contagiar su diplomacia. Carla Clementina, por tu creatividad, por hacer que las cosas sean más bonitas incluso cuando unos gusanos lo hacen complicado, y por todos esos recuerdos de infancia que atesoro. Merche, con esa sensibilidad que hasta los veterinarios a veces perdemos. Daida, a la que por desgracia veo poco pero que sé que está, que sabe lo que quiere y (a pesar de las dificultades) va a por ello, y que me sirve de ejemplo. Los chicos que aportan su granito de arena y su opinión masculina en mis “crisis”, con mención especial a Juanjo, que en los últimos tiempos ha luchado por su tesis con una voluntad de hierro y me ha servido de recordatorio y de ejemplo. A los “grupetillos”, que teniendo a mis sobrinos fuera, me permiten ejercer de tía, espero hacerlo mejor y con más frecuencia (en el caso de algunos) de aquí en adelante. Les quiero mucho a todos.

A las Divinas, siempre ahí, pase el tiempo que pase. Que me ayudan ya sea una consulta de veterinaria, o algún desastre sentimental, y me mantienen al tanto de cualquier evento, nuevos objetos decorativos o cotilleos varios. Yai, siempre pendiente de mí. Lula e Ingrid, siempre ahí pase el tiempo que pase, Marta, con esas frases bonitas de buena mañana y Cali, con sus “broncas” de cena en cena ¡Te juro que están a punto de hacer efecto! Amy, Vicky, Bea, a todas las quiero mucho.

A la familia LGS, especialmente a “Santa Cata” (lo sé Jose, León y Castillo, es sólo por hoy). Paso más tiempo con ellos que con nadie en el mundo, aguantan mis enfados y mis desahogos, y casi siempre hacen mi trabajo/vida más fácil. Por las “poquitas” veces que me preguntaron “¿Cuándo vas a quitar esos sueros de ahí?”, eso me instó mucho a terminar (media sonrisa). Puedo contar con ellos cuando los necesito y espero que sepan que ellos conmigo. A todos los centros por su ayuda también con Animal Lab. Dentro de todo LGS, tengo que agradecer en particular a varias personas. A Tamara, que aun siendo la última que se incorporó al equipo se ha convertido en mi amiga y mi apoyo. Todas esas horas con el equipo de urgencias escuchando mis culebrones. A “mis niños de rutina” y “mis niñas de secretaría”, a Antonio y Ri, porque todos me ayudan y están ahí, porque aunque nos enfadamos después siempre reímos, y porque también estamos cuando lloramos. Somos muchos y muy distintos trabajando muy juntos, y lo genial es que lo conseguimos, eso no es nada fácil y por eso ¡Gracias! Nati, con esa risa fantástica que siempre surge incluso al final de un desastre. A Lourdes, “la guardiana de los sueros” que me ha ayudado muchísimo con la base de esta tesis, las muestras, y porque ella quizás no lo recuerde, pero también me enseñó que es “empujar la vaca” y lo he recordado en varias ocasiones en mi vida. A Octavio por los sueros de El Hierro, son como pepitas de oro en un río. A Rodolfo, por su Fé ciega en mí y por esos ánimos que llegan siempre en el momento más oportuno. A Mercedes, una hermana que me vino de regalo al entrar en la empresa, siempre pendiente de mí, aconsejándome y ayudándome a mejorar en lo laboral, pero también en lo personal y que apuesta por

mí cada día. A Ana, por escucharme, acogerme en su casa y cuidarme en “esas ocasiones”. A Marisa, que junto a las “chicas de micro” me acogió a su amparo y me enseñó la base de todo lo que he aprendido a lo largo de estos años en la empresa, que es mucho. Y por una llamada que me “salvó” la vida. A Ardi, que parece incansable, siempre pendiente de todo, que siempre me atiende y que también confía en mí. A Pancho (Samuel para los demás), por un lado por ser un compañero siempre atento y queriendo ayudar, y por otro, por ser un amigo que siempre me escucha y que no siempre me deja hablar, con un “idiotix” siempre en el momento oportuno. A Alex, porque es un informático increíble y me ha ahorrado horas de trabajo con sus bases de datos. A Jose Carlos ¿¿Dónde estaban tú y el lector de código de barras en los primeros años?! A Jose Manuel, JM en mi teléfono móvil, porque me ha dado muchas oportunidades, tres de las cuales son de las más importantes de mi vida. La primera cuando me contrató, una veterinaria en LGS, no era la primera pero no era lo normal. Me llevó para Tenerife a formarme permitiéndome quedar los lunes en Gran Canaria para poder continuar mi tesis. Me dio la oportunidad de aprender muchísimas cosas y conocer a mucha gente que me han ayudado a forjar mi carácter. Después de un periodo fuera de la empresa, que coincidió con el peor de mi vida, recibí su llamada para darme la segunda oportunidad y salvarme del desastre total, permitiéndome esta vez que mantuviera mi pequeña consulta un tiempo más. Nunca se lo agradeceré lo suficiente, aunque trabajo día a día para conseguirlo. Y la tercera, puede que haya cambiado mi vida, aún es pronto para saberlo pero tiene buenas perspectivas, que es creer en un proyecto llamado Animal

Lab, algo que sólo ha podido convertirse en realidad con su ayuda y la de Pedro González, apoyando la emprendeduría, porque ellos mismos siguen siendo emprendedores. Muchísimas gracias.

A Ale, mi socio, porque sin él Animal Lab no existiría. Porque nuestras ideas coincidieron en el punto y el momento justo, porque consiguió la forma de superar los obstáculos que yo sola no pude, porque siendo Doctor en Veterinaria, también se ha convertido en fontanero, administrativo, contable, carpintero de aluminio, comercial, diseñador de interiores, pintor...por todo eso, GRACIAS. Desde hace no mucho entró en mi vida Rubén, nuestro salvador, que llegó temporalmente a devolvernos un poco de vida a los dos, pero que espero que se quede, que le ilusione y le compense y forme parte de este proyecto durante muchísimos años más. También gracias por hablarme de las bases de datos y por utilizar el Photoshop por mí, conste que no para quitarme las arruguitas, aunque todo se andará.

A Richar, un hombre fuerte y valiente que me dio muchísima felicidad y me ayudó de forma activa en el primer proyecto de mi tesis, recogiendo muestras, agarrando animales, siendo fotógrafo, apoyándome, consolándome y queriéndome, y que me hizo el gran regalo, Dana.

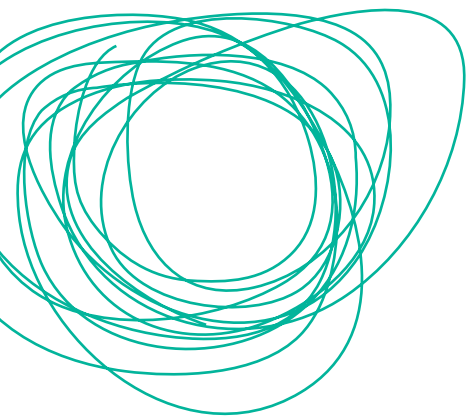
A “Dark” Vader, por enseñarme a querer a la gente con su “lado oscuro”, incluida a mí misma.

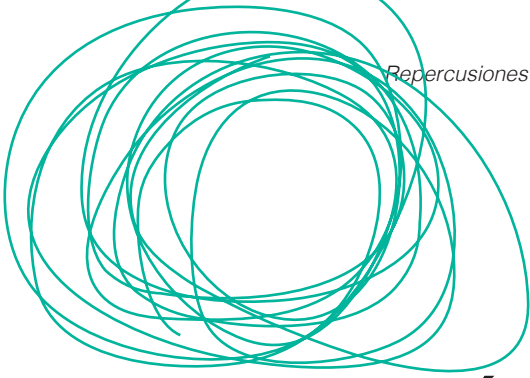
Sé que dejo de nombrar a mucha gente pero les ruego que me perdonen, no significa que no los tenga presente ¡Solo que me echan del atril!

Por cierto, ¿Saben lo complicado que es escribir un texto así, sin usar emoticonos hoy en día?



Muchas gracias





Índice



• INTRODUCCIÓN	31
• OBJETIVOS	37
• REVISION BIBLIOGRÁFICA	41

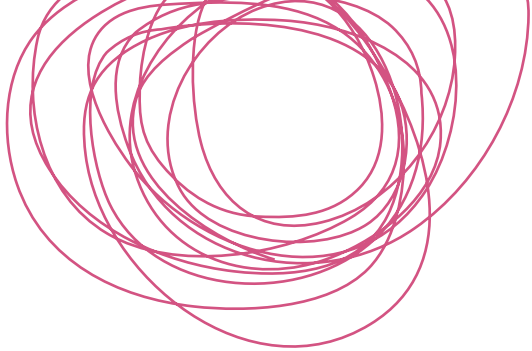
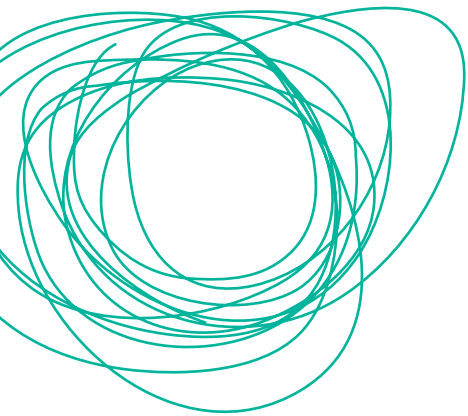
A. Características generales de la *Dirofilaria* spp y de la dirofilariosis canina

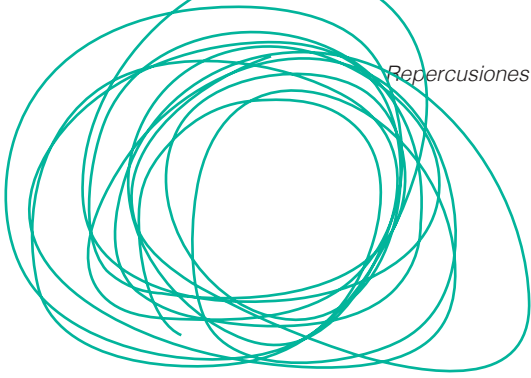
	43
1. Taxonomía	43
2. Morfología	45
3. Wolbachia	46
4. Ciclo biológico	47
5. Epidemiología	51
6. Fisiopatología	53
I. Endocarditis pulmonar proliferativa	53
II. Hipertensión pulmonar	54
III. Insuficiencia cardíaca congestiva	54
IV. Alteración de parénquima pulmonar	55
V. Neumonitis alérgica	56
VI. Tromboembolismo pulmonar	57
VII. Síndrome de la vena cava	57

VIII. Alteraciones renales	58
IX. Otras alteraciones	59
7. Signos clínicos	60
8. Diagnóstico	61
I. Detección de antígenos	61
II. Detección de microfilarias	62
III. Diagnóstico por imagen.	65
IV. Electrocardiografía	65
V. Pruebas de laboratorio	66
9. Profilaxis	67
10. Tratamiento	67
I. Clasificación del estado de gravedad	67
II. Restricción de ejercicio	68
III. Eliminación de larvas migratorias, <i>Wolbachia</i> y <i>parásitos adultos</i>	69
IV: <i>Tratamiento de tromboembolismo pulmonar</i>	70
V. <i>Eliminación de las microfilarias</i>	70
B. Dirofilariosis en humanos	72
1. Dirofilariosis pulmonar	73
2. Dirofilariosis subcutánea y ocular	75

3. Diagnóstico	77
I. Diagnóstico laboratorial	78
II. Diagnóstico por imagen	81
III. Diagnóstico histológico	82
4. Tratamiento	84
C. Relación hospedador-parásito en la dirofilariosis	86
1. Respuesta inmune	87
2. Influencia de la microfilaria y la presencia de adultos en la intensidad de la respuesta de anticuerpos	89
3. Mecanismos inmunopatógenos	90
D. PDistribución y prevalencia de <i>D. Immitis</i>	97
1. Dirofilariosis canina	98
I. América	98
II. Australia	100
III. Asia	101
IV. Africa	102

V. Europa	103
2. Dirofilariosis humana	106
• ARTICULOS	115
ARTÍCULO 1: Canine dirofilariosis caused by <i>Dirofilaria immitis</i> is a risk factor for the human population on the island of Gran Canaria, Canary Islands, Spain.	118
ARTÍCULO 2: Seroprevalence of human dirofilariasis on the island of Gran Canaria, Canary Islands-Spain.	124
ARTÍCULO 3: Estudio seroepidemiológico del riesgo zoonótico de dirofilariosis pulmonar por <i>Dirofilaria immitis</i> en la población humana de las islas Canarias.	126
• CONCLUSIONES	163
• RESUMEN/SUMMARY	167
• BIBLIOGRAFIA	173
• CURRICULUM VITAE	219





Introducción

La primera descripción de la filaria canina fue escrita por un noble italiano llamado Francesco Birago en 1626, quien los vio en el interior del corazón de sus perros de caza. Posteriormente, el gusano del corazón fue nombrado *Filaria* por el parasitólogo de Estados Unidos, Joseph Leidy en 1856, y el género fue llamado *Dirofilaria* por los parasitólogos franceses Railliet y Henry en 1911. Desde entonces se han desarrollado numerosos estudios sobre el parásito, ya que continúa siendo un tema prioritario en la medicina veterinaria.

La dirofilariosis es un grupo de parasitosis producida por distintas especies del género *Dirofilaria*, que es transmitida por medio de vectores. Estos vectores son diferentes especies de mosquitos de los géneros *Culex*, *Aedes* y *Anopheles*. Además, la dirofilariosis es una zoonosis; dado que algunos de estos mosquitos se alimentan tanto de animales, como de personas, pueden transmitir la infección al ser humano en zonas endémicas (Simón et al. 2009a, 2009b).

Las especies más importantes son *Dirofilaria immitis* y *Dirofilaria (Nochtella) repens* debido a sus efectos patológicos y su alta prevalencia. Mientras que *D. immitis* produce dirofilariosis cardiopulmonar en perros y gatos, *D. repens* produce en ambas especies dirofilariosis subcutánea. De la misma manera,

D. immitis y *D. repens* producen respectivamente dirofilariosis pulmonar y subcutánea en los humanos.

Para entender la biología de la filaria tenemos que hablar de *Wolbachia pipientis*, una bacteria que habita en simbiosis tanto en *D. immitis*, como en *D. repens*. También es vital en la patogenia de la enfermedad y, por tanto, debe ser tomada en cuenta durante el tratamiento de la parasitosis.

Debido a que la dirofilariosis es una enfermedad vectorial, es susceptible al cambio climático lo que influye especialmente en su transmisión y su distribución, viéndose en los últimos años un gran cambio en la misma y un rápido avance por distintas regiones. En Europa la mayor prevalencia se encuentra en los países Mediterráneos. Sin embargo, debido a los cambios climáticos y al movimiento de mascotas, existen cada vez más casos en el Norte. En España aún se desconoce la distribución completa debido a la falta de estudios, pero investigaciones recientes indican que también está habiendo movimiento desde las regiones endémicas del sur hacia otras zonas más frías.

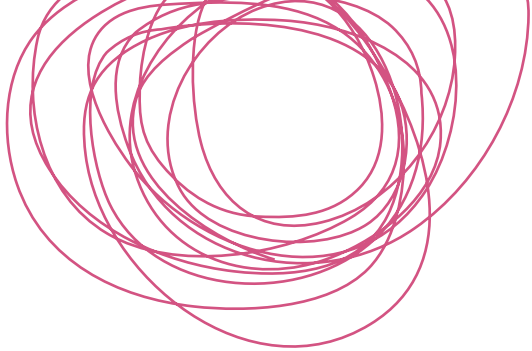
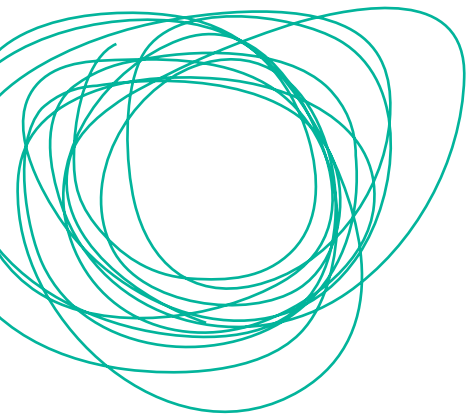
El clima de las Islas Canarias es muy distinto al del resto de Europa por su proximidad a las costas africanas, clima que favorece la existencia de los vectores que participan en el ciclo biológico del parásito. Los primeros estudios epidemiológicos de *D. immitis* en perros en la isla de Gran Canaria, nos muestra-

ron los mayores niveles de prevalencia de España, habiendo llegado a alcanzar incidencias caninas del 67% en 1994 (Montoya et al. 1998).

En humanos, la dirofilariosis es habitualmente subdiagnosticada debido a que normalmente cursa de forma asintomática (Simón et al. 2005) y los casos clínicos conocidos revelan solo una pequeña parte del número real de infecciones en humanos (Simón et al. 2009a, 2009b) puesto que los estudios seroepidemiológicos sobre la exposición de la población, nos muestran una tasa de contacto muy alta con las distintas especies de *Dirofilaria* (Prieto et al. 2000).

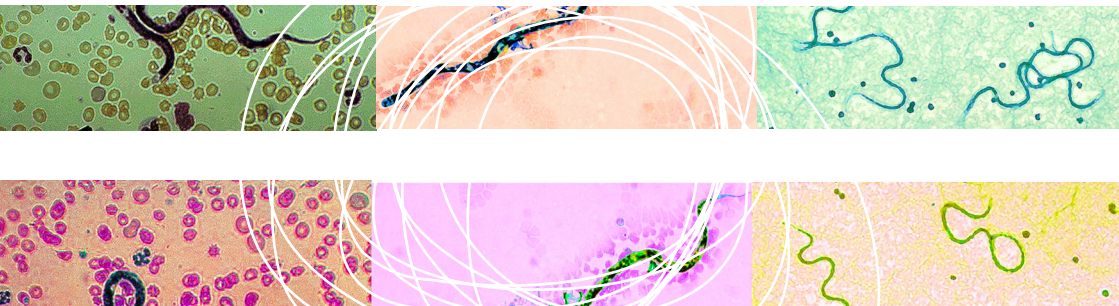
En este estudio se analiza la seroprevalencia y distribución de la dirofilariosis pulmonar humana y su relación con la distribución de la enfermedad del gusano del corazón de los perros en las Islas Canarias.



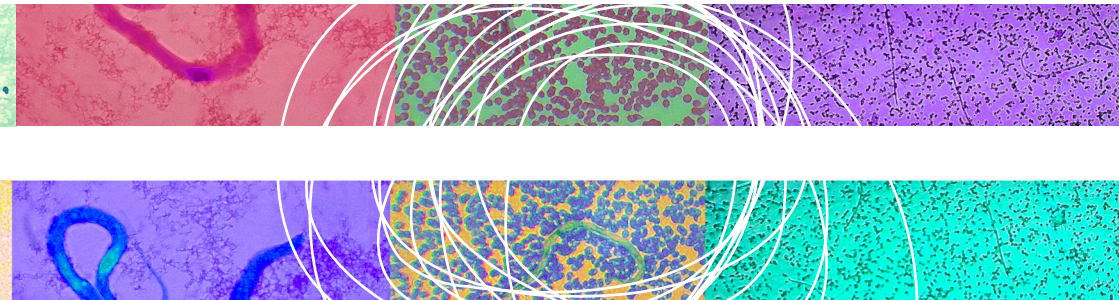


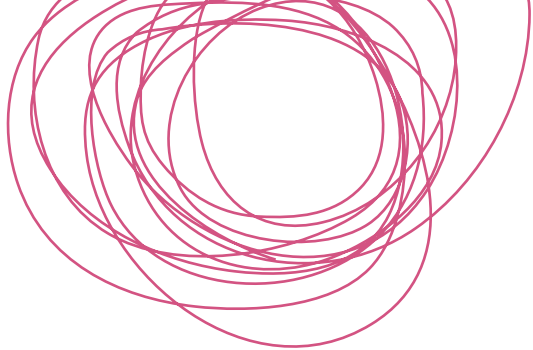
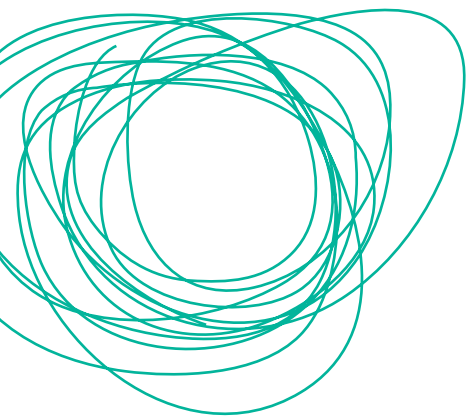


Objetivos



1. Comparación de la seroprevalencia y distribución de *Di-rofilaria immitis* en humanos, y su relación con la distri-bución de la dirofilariosis cardiopulmonar en la población canina de Gran Canaria para determinar el riesgo de in-fección zoonótica al que están expuestos los habitantes de la isla.
2. Actualización de la seroprevalencia entre la población hu-mana de la isla de Gran Canaria para evaluar su evolu-ción respecto al estudio anterior.
3. Estudio de la seroprevalencia actual de *Dirofilaria immitis* en la población humana de las siete Islas Canarias, y su relación con la distribución coetánea de la dirofilariosis cardiopulmonar en la población canina de cada una de las islas.







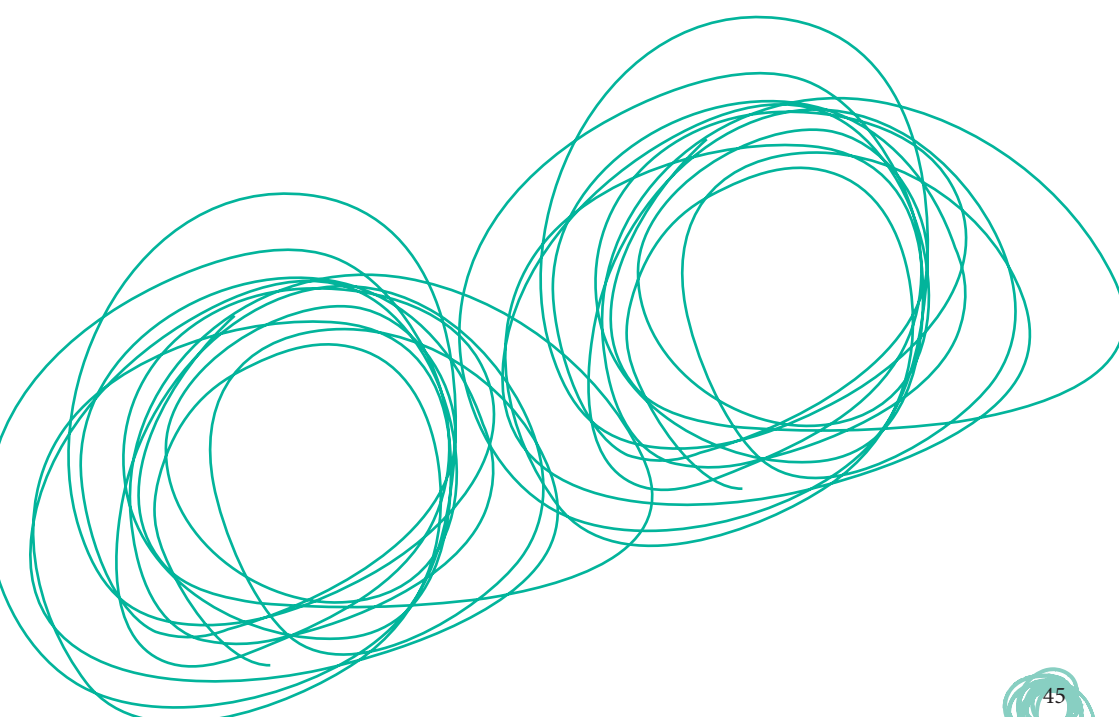
Revisión bibliográfica



A. CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA *DIROFILARIA SPP* Y DE LA DIROFILARIOSIS CANINA

1. TAXONOMIA

Dirofilaria immitis es un nematodo filarioideo de la familia Onchocercidae, y la subfamilia Dirofilarinae, que comprende los géneros *Dirofilaria* y *Loa* (Marquardt et al., 2000). Dentro del género *Dirofilaria*, se reconocen distintas especies entre las que destacan por su distribución y su importancia clínica *D. immitis* y *D. repens*.



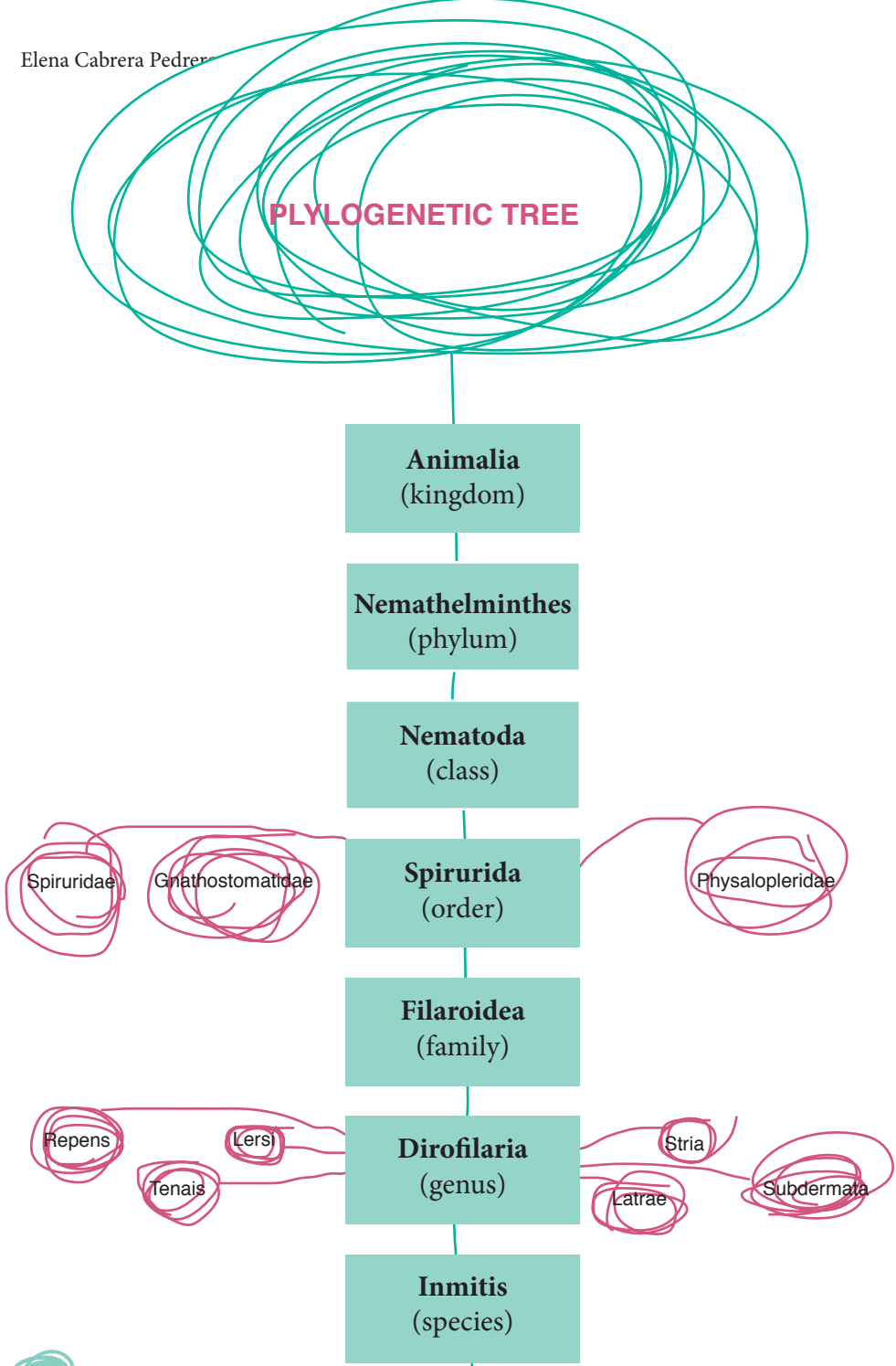


Figura 1: Árbol filogenético del género *Dirofilaria*

2. MORFOLOGIA

Dirofilaria immitis es un parásito de morfología filiforme y color blanquecino. Presenta dimorfismo sexual teniendo los machos un diámetro de 0.7 a 0.9 mm y una longitud de 12 a 20 cm, también se puede observar que su extremo posterior tiene forma de espiral. Las hembras, en cambio, tienen un diámetro que va de 1 a 1.3 mm y miden de 15 a 30 cm de longitud. Son ovovivíparas ya que los huevos eclosionan en el interior del útero, para posteriormente expulsar a sangre periférica las microfilarias o larvas de primer estadio (L1) que tienen unos 290 a 330 μm de longitud y unos 7 μm de diámetro (McCall et al., 2008b).

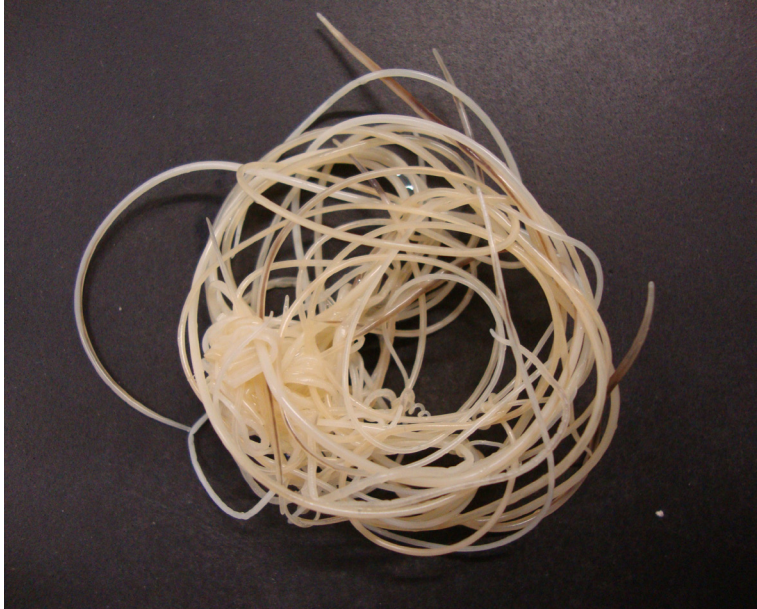


Figura 2: Filarias adultas.

3. WOLBACHIA

En simbiosis, dentro de la *Dirofilaria immitis*, existe una bacteria intracelular llamada *Wolbachia pipientis* (Sironi et al., 1995; Taylor et al., 2005a; Kozek et al., 2007). *Wolbachia* es una bacteria Gram negativa que está dentro del orden Rickettsiales. Podemos encontrarlas en todos los estadios de la 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 (Bandi et al., 1999; Kramer et al., 2003; Kozek, 2005; Sacchi et al., 2002). Debido a esto, la bacteria se transmite de generación en generación, estando presente en todas las fases evolutivas del nematodo.

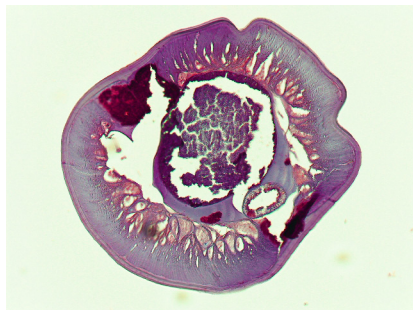


Figura 3: *Wolbachia* en corte transversal de filaria

Wolbachia es fundamental para la supervivencia de *Dirofilaria immitis* ya que si se elimina se produce infertilidad en las hembras e inhibición del desarrollo larvario, con la consiguiente muerte de los adultos (Langworthy et al., 2000; Gilbert et al., 2005; Taylor et al., 2005b; Dingman et al., 2010).

Wolbachia también tiene un papel muy importante en la patogénesis y en la respuesta inmunitaria del hospedador frente a la infección por dirofilariosis. La bacteria se libera durante las mudas del desarrollo larvario y tras la muerte del parásito (Taylor et al., 2001); se ha podido asociar su liberación con el aumento de citoquinas inflamatorias, de neutrófilos y el incremento de inmunoglobulinas específicas (Kramer et al., 2008). Por tanto, al estimular la respuesta inflamatoria del animal infectado (Morchón et al. 2004; Simón et al. 2007) es además responsable de parte del cuadro clínico de la enfermedad (McHaffie, 2012).

4. CICLO BIOLÓGICO

La dirofilariosis es una enfermedad de ciclo indirecto y transmisión vectorial, cuyos hospedadores intermedios son mosquitos pertenecientes a los géneros *Culex*, *Aedes*, *Anopheles*, *Culiseta* y *Coquilletidia* (Cancrini y Kramer, 2001; Cancrini et al., 2006). Los hospedadores definitivos son cánidos y félidos domésticos y silvestres, y de forma accidental también el ser humano, motivo por el cual esta enfermedad tiene carácter zoonótico (Simón et al., 2001; 2005).

Cuando el mosquito se alimenta tomando sangre de un perro enfermo, éste se infecta con las microfilarias circulantes. Una vez ingeridas éstas migran desde el intestino a los tubos de Malpighi en unas 24 a 36 horas, desarrollándose ahí hasta su estado infectivo (L3) (Taylor, 1960; Abraham, 1988; Cancrini y Kramer, 2001).



Un factor muy importante para el desarrollo de la larva en el mosquito es la temperatura ambiental. A una temperatura de 27°C y un 80% de humedad relativa, el desarrollo de las L3 tarda de unos 10 a 14 días (Orihel, 1961; Slocombe et al., 1989). Si la temperatura es más baja el desarrollo es más lento, e incluso por debajo de 14°C se detiene. Pero cuando la temperatura aumenta, el desarrollo se reanuda incluso cuando estos aumentos son por períodos cortos de tiempo (Cancrini et al., 1988; Wu et al., 1995).

Las L3 se desplazan hasta el espacio cefálico llegando a las glándulas salivares y probóscide, de modo que cuando el mosquito se alimenta, inyecta las larvas infectantes en el hospedador definitivo o accidental (McGeevy et al., 1974). Estas larvas penetran en el tejido subcutáneo donde mudan a L4 en un periodo de 3 a 10 días (Kotani y Powers, 1982; Litchlenfels et al., 1985). En los 3 días siguientes, las L4 permanecen en el tejido subcutáneo, cerca del punto de inoculación. En torno al día 21, las larvas se van trasladando entre las fibras musculares para terminar sobre el día 41 en el abdomen o en el tórax. La muda de L4 a L5 (jóvenes pre-adultos sexualmente inmaduros) sucede entre los días 50 y 70. Las primeras L5 se introducen en una vena sistémica y son transportadas por la sangre a las arterias pulmonares, donde se fijan a sus ramas terminales y de esa forma entran en el sistema cardiopulmonar (Orihel, 1961; Kotani Powers, 1982). Debido a la presión del flujo venoso, las

L5 son obligadas a permanecer en las ramas terminales de las arterias pulmonares (Rawlings et al., 1978); los siguientes 3 meses seguirán madurando en los pulmones hasta alcanzar su estado de adultos (Kume y Itagaki, 1955; Hayasaki, 1996). A medida que van creciendo, van yendo hacia arterias mayores hasta alcanzar las arterias pulmonares principales y arterias lobares. Los perros presentarán microfilaremia entre los 6 meses y medio y los 9 meses post-infección (Orihel, 1961; Kotani y Powers, 1982; Anderson, 2000). En el perro, las filarias pueden vivir entre 5 y 7 años, mientras que las microfilarias pueden sobrevivir hasta 2 años en el torrente circulatorio (Barriga, 1982;

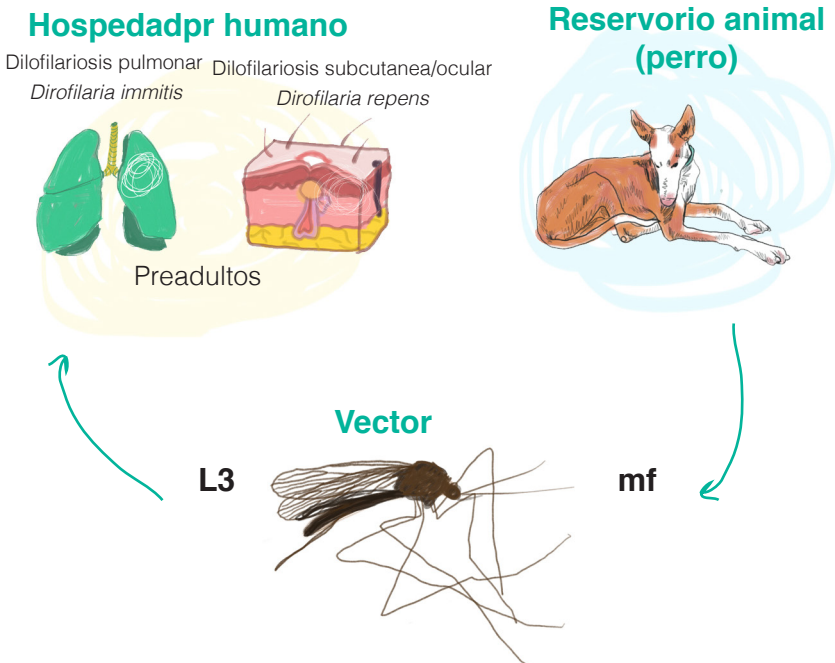


Figura 3: Ciclo biológico de *D. immitis* y *D. repens*. Imagen basada en Simón y Gussoni (2012)

Quiroz-Romero, 1984; Abraham, 1988; McCall, 1998); en el hospedador definitivo el número de adultos puede oscilar entre 1 y más de 250.

En los cachorros también se pueden detectar microfilarias, debido a que existe la transmisión transplacentaria y éstas pueden pasar de la madre al feto (Mantovani y Jackson, 1966; Atwell, 1981; Todd y Howland, 1983).

5. EPIDEMIOLOGÍA

La dirofilariosis es una enfermedad de carácter cosmopolita y su distribución es mundial, relacionándose directamente con la distribución de las poblaciones de sus mosquitos vectores, que se ve favorecida en zonas de altas temperaturas y elevada humedad durante, al menos, parte del año (Simón et al., 2012).

Su distribución en Europa se da, principalmente en los países de la cuenca Mediterránea y del sur, tales como Portugal, Francia, Italia y España, donde la enfermedad es endémica, pero existen pruebas de una tendencia a expandirse a zonas no endémicas del norte y noroeste de Europa (Genchi et al., 2009; Morchón et al., 2012b)

En España se dan las condiciones óptimas para el desarrollo de *D.immitis* y se considera un país endémico. Su mayor o menor presencia en las distintas regiones depende de las con-

diciones medioambientales y los hábitos de sus poblaciones caninas. En algunas zonas del norte de la Península Ibérica se desconoce la prevalencia de la enfermedad puesto que no se han realizado estudios. En la actualidad las zonas de mayor prevalencia son las del sur de la Península Ibérica, zonas de regadío y cercanías de grandes ríos como la ribera del Tormes en Salamanca, o el del delta del Ebro y las Islas Canarias (Montoya et al., 2007). También se ha descrito la enfermedad en La Rioja y A Coruña (Simón et al., 2009; Morchón et al., 2010). La epidemiología de esta enfermedad se aborda en mayor profundidad en el apartado D (página 97).

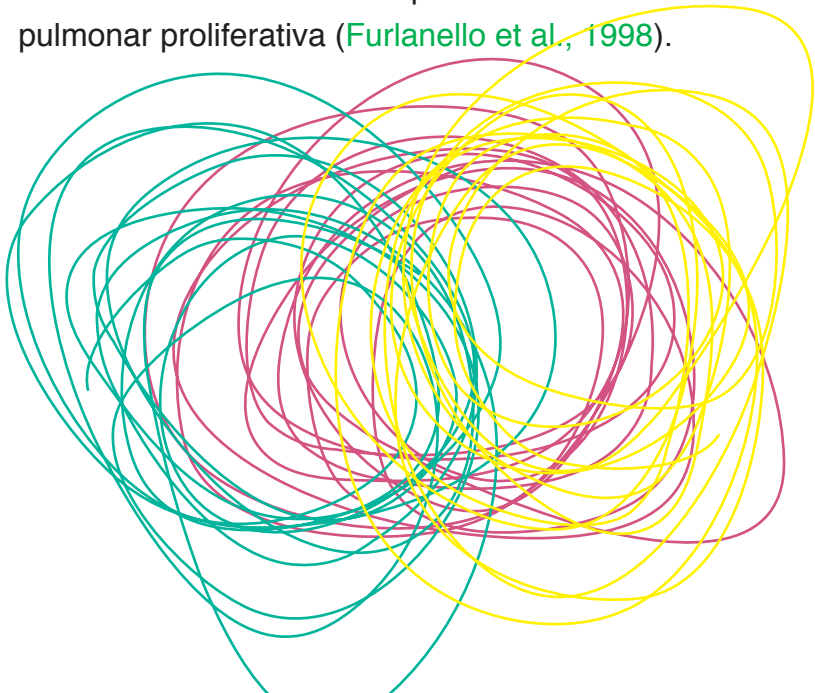


6. FISIOPATOLOGIA

La dirofilariosis se caracteriza por presentar distintos cuadros clínicos producidos por las microfilarias o los gusanos adultos. Ambos pueden provocar lesiones graves e incluso terminar con la muerte del animal, lo que depende directamente del número relativo de gusanos adultos, de la duración de la enfermedad y la relación hospedador-parásito (McCall et al., 2008a; Atkins, 2011).

I. Endocarditis pulmonar proliferativa

Cuando los gusanos adultos entran en contacto con la pared de los vasos se ocasiona alteraciones en las arterias pulmonares, produciéndose engrosamiento de la pared y estrechamiento de la luz del vaso. Este proceso se denomina endoarteritis pulmonar proliferativa (Furlanello et al., 1998).



II. Hipertensión pulmonar

El desarrollo de hipertensión pulmonar se debe a la suma de varios factores: 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 (Rawlings et al., 1981; Olson et al., 1982; Hirano et al., 1992; Sasaki et al., 1992; Rohn et al., 1995; Venco y Vezzoni, 2001).

III. Insuficiencia cardiaca congestiva

En un intento de compensar los efectos de la hipertensión pulmonar, puede aparecer hipertrofia del ventrículo derecho y/o dilatación ventricular, como consecuencia de la necesidad de un mayor gasto cardiaco y de la incapacidad del ventrículo derecho de generar y mantener las altas presiones de perfusión requeridas (Calvert et al., 1999; Kittleson y Kienle, 2000; Grandi et al., 2007).

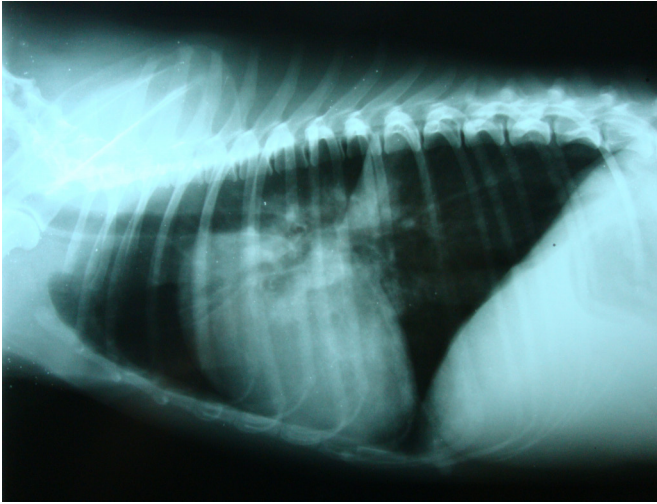


Figura 4: Radiografía latero-lateral derecha de un perro con dirofilariosis. En la imagen se aprecia cardiomegalia, dilatación y tortuosidad de las arterias pulmonares.

IV. Alteración del parénquima pulmonar

En el parénquima pulmonar, donde no llegan los vermes, se producen alteraciones por el depósito de antígenos parasitarios. También puede aparecer edema e inflamación periarterial con infiltrados intersticiales y alveolares, compuestos sobre todo de neutrófilos y eosinófilos, procedente de las arterias lesionadas ya que el daño sobre las mismas, hace que aumente la permeabilidad de las superficies vasculares al plasma y a las células inflamatorias (Kittleson y Kienle, 2000). Todo ello



Figura 5: Tejido pulmonar de un perro con dirofilariosis en el que se aprecia signos de tromboembolismo pulmonar y formación de una bulla cicatricial subpleural

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 el proceso ([García-Guasch et al., 2013](#)).

V. Neumonitis alérgica

Síndrome provocado por la hipersensibilización del hospedador a los antígenos de microfilarias y las L5, que también son alérgicas. Estos antígenos inducen la destrucción inmunomediada de 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 (Calvert et al., 1999).

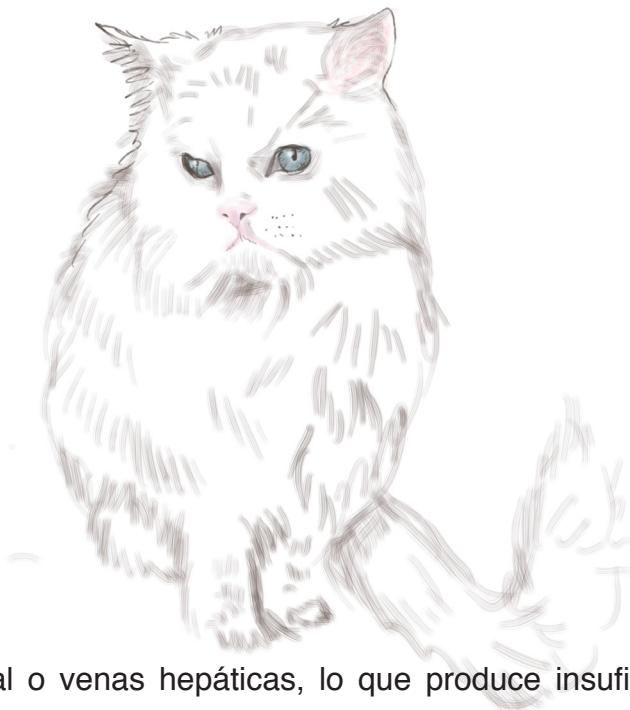
Las microfilarias muertas son rodeadas por inflamación eosinofílica granulomatosa, lo que se denomina “síndrome de infiltración eosinofílica” (Rawlings y Calvert, 1997).

VI. Tromboembolismo pulmonar

Mientras el parásito está vivo se resiste a la tromboembolización, pero al morir se produce una trombosis masiva. Los vermes muertos van hacia las arterias de menor calibre haciendo que el flujo sanguíneo se deteriore, o incluso se interrumpa en los lóbulos caudales. Consecuencia de ello es su consolidación, infarto y mínimo funcionamiento en el intercambio gaseoso; todo esto puede provocar una hipoxemia por un desequilibrio entre ventilación y perfusión (McCall et al., 2008b).

VII. Síndrome de la vena cava

El parásito en su estado adulto se encuentra principalmente en las arterias pulmonares en el hospedador definitivo, manteniéndose ahí gracias a la circulación sanguínea. En ocasiones ocurren alteraciones hemodinámicas que pueden provocar hipoperfusión de la arteria, lo que puede provocar su aparición en el ventrículo derecho atravesando la válvula pulmonar (Kittleson, 1998); de esa forma llegan a la aurícula derecha, vena



cava caudal o venas hepáticas, lo que produce insuficiencia cardiaca derecha y obstrucción del retorno sanguíneo elevando la presión venosa central (Strickland, 1998). Todo esto provoca una disminución del flujo sanguíneo sistémico.

VIII. Alteraciones renales

La más importante es la glomerulonefritis membranosa que ocurre por la formación y depósito de complejos autoinmunes contra antígenos del parásito en la membrana basal del glomérulo (Abramowsky et al., 1981; Grauer et al., 1988; 1989). También se le relaciona con la presencia de microfilarias en

capilares glomerulares y vasos medulares; ésto hace que haya presencia de infiltrados inflamatorios en glomérulos y un engrosamiento de la membrana basal de los capilares (Ludders et al., 1998; Paes-de-Almeida et al., 2003). La bacteria *Wolbachia* liberada por las microfilarias muertas produce inflamación y una respuesta inmune específica (McCall et al. 2008a; Morchón et al., 2012a). Otras alteraciones que se producen a nivel renal incluyen nefrosis grave con proteinuria, que puede provocar azotemia por insuficiencia renal, y nefritis intersticial con infiltrados celulares.

IX. Otras alteraciones

Existen ocasiones excepcionales en las que se localizan filarias adultas en lugares atípicos como el cerebro, la cámara anterior del ojo, la cavidad peritoneal, el corazón izquierdo, arterias sistémicas, quistes y abscesos musculares y subcutáneos, los bronquios y el hígado (Liu et al., 1966; Patton y Garner, 1970; Mandelker y Brutus, 1971; Slonka et al., 1977; Weiner et al., 1980; Carastro et al., 1992; Henry, 1992; Frank et al., 1997; Sevimli et al., 2007).

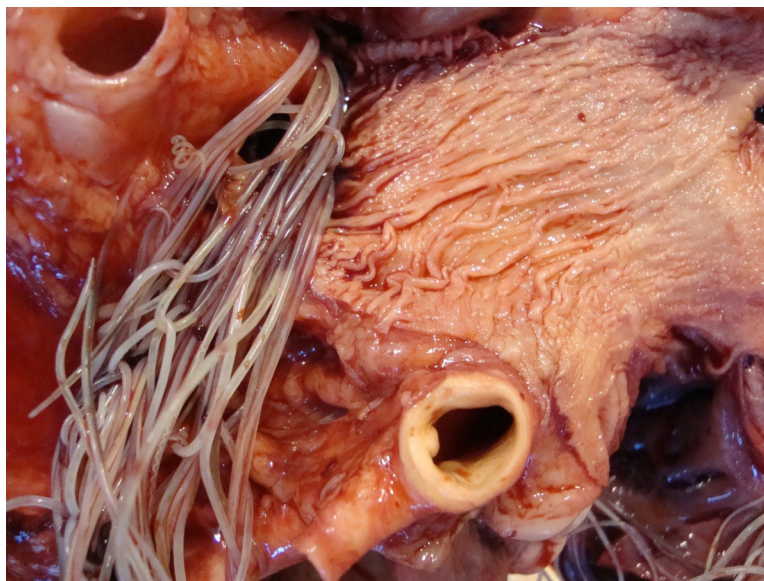


Figura 6: Endoarteritis pulmonar proliferativa en endotelio de arteria pulmonar y presencia de *D. immitis* adultas en necrosis de un perro infectado.

7. SIGNOS CLINICOS

En los primeros seis meses desde la inoculación del parásito, no se observan signos clínicos debido a que las larvas mudan y migran sin causar alteraciones. La clínica tarda en desarrollarse por lo que, generalmente, los síntomas no se hacen evidentes hasta pasados varios años de la infección (Kittleson, 1998; McCall et al., 2008b).

Una vez aparecen los síntomas, el más habitual es la tos no productiva y crónica, que se acentúa tras el ejercicio, junto con

la intolerancia al mismo, disnea, taquipnea, pérdida de peso y síncope. También se pueden auscultar crepitaciones difusas y soplo cardiaco sistólico, además de aparecer hemoptisis, epix-tasis, letargia, apatía, hiporexia, ascitis y derrame pleural.

8. DIAGNOSTICO

Existen distintas pruebas diagnósticas; la mayoría nos sirven para establecer la gravedad de la enfermedad, y solo la realización del test de detección de antígenos y de microfilarias en sangre periférica son válidas para el diagnóstico de la misma.

I. Detección de antígenos

En la actualidad existe en el mercado kits de test de detección de antígenos de *Dirofilaria immitis* por ELISA o inmunocromatografía, estos detectaban la secreción de



proteínas por parte principalmente, del tejido ovárico de las hembras adultas (Grieve et al., 1981; Weil, 1987).

II. Detección de microfilarias

Esta prueba solo debe usarse como método complementario puesto que se conoce que un 30% de los perros infectados no presentan microfilarias, y este porcentaje aumenta cuando el animal ha recibido tratamiento preventivo de forma intermitente (Rawlings et al., 1982). Además, existen varias especies de filarias que producen microfilaremia.

Entre los métodos de detección encontramos la observación directa con el objetivo de x10 aumentos, o mediante concentración en tubo de hematocrito (Altman, 1972; Martini et al., 1996; Courtney y Zeng, 2001b). Existe el método de filtración que permite concentrar y teñir las microfilarias para su observación e identificación (Acevedo et al., 1981). Una variante es el test de Knott modificado que permite la cuantificación del número de microfilarias por mililitro de sangre (Knott, 1939; Jackson y Otto, 1975).

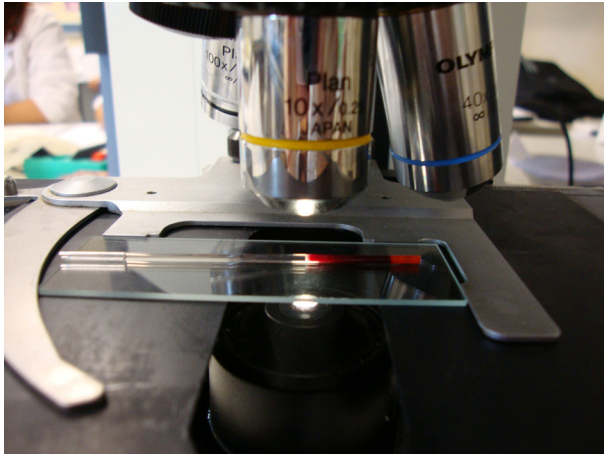


Figura 7: Observación de microfilarias en tubo de hematocrito con microscopio óptico (técnica de Woo)

El método histoquímico permite identificar la especie de la microfilaria, mediante el estudio de la distribución somática de la actividad de la fosfatasa ácida que presenta. La positividad se observa de color rojizo y según la zona donde aparezca teñida nos indicará la especie a la que pertenece (Chalifoux y Hunt, 1971; Peribáñez et al., 2001).

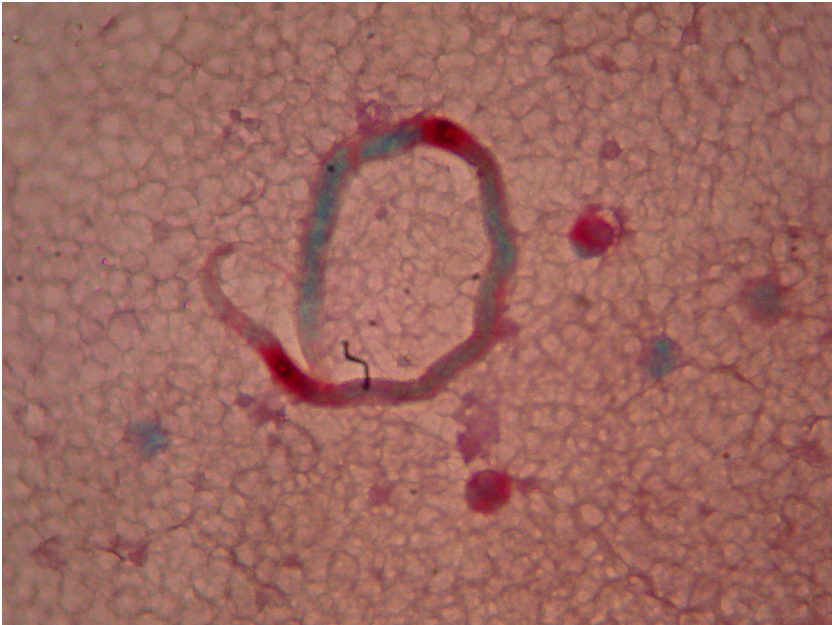


Figura 8: Microfilaria de *D.immitis* teñida mediante el método histoquímico. Se puede observar la actividad fosfatasa ácida de color rojizo alrededor del poro anal y del poro excretor.

III: Diagnóstico por imagen

Tanto el examen radiográfico como el ecocardiográfico son útiles para determinar la presencia del parásito y lesiones asociadas:

El examen radiográfico nos proporciona información única sobre localización y gravedad de las lesiones vasculares y del parénquima pulmonar (Losonsky et al., 1983; Venco et al., 2003).

Con el examen ecocardiográfico podemos ver las dimensiones de las cavidades cardiacas además de su cinética, velocidad, dirección y características del flujo en el interior de las cámaras y también en la parte inicial de los grandes vasos. Además, nos permite estimar el número y localización de las filarias, así como la presencia y gravedad de hipertensión pulmonar (Baderstscher et al., 1988; Moise, 1988; Venco et al., 2003).

IV. Electrocardiografía

Nos sirve para la detección de arritmias en pacientes con síndrome de la vena cava o en presencia de insuficiencia cardiaca.

V. Pruebas de laboratorio

Entre las pruebas del laboratorio que podemos realizar, se encuentra el hemograma que generalmente es normal, salvo en algunos casos en los que puede aparecer una ligera anemia normocítica y normocrómica (Sharma y Pachauri, 1982; Calvert, 1987; Mass et al., 1992). Puede existir hemólisis en el caso de perros con síndrome de la vena cava (Buoro y Atwell, 1984). Si el perro es asintomático, la fórmula leucocitaria suele ser normal (Rawlings, 1986). En algunos casos podemos apreciar linfopenia, neutrofilia o monocitosis. Es muy frecuente la eosinofilia, que además aparece asociada a basofilia en el 50% de los casos (Rawlings, 1982; Confer et al., 1983).

En casos graves, se pueden elevar las transaminasas hepáticas, o puede aparecer azotemia renal con protei-nuria (Hormaeche et al., 2014). Aparecen proteínas en la orina y puede adquirir un color marrón por la presencia de bilirrubina y hemoglobina.

Con respecto a la coagulación, existen grandes alteraciones cuando hay tromboembolismo severo puesto que hay gran consumo de plaquetas, fibrinógeno y otros factores de la coagulación, así como elevaciones del dímero-D (Rawlings, 1982; Boudreaux y Dillon, 1991^a; Carretón et al., 2013).

9. PROFILAXIS

Los cachorros deben empezar con el preventivo lo antes posible y nunca después de los 2 meses de edad (Atkins, 2011; American Heartworm Society, 2014). Para la prevención de la dirofilariosis se utilizan las lactonas macrocíclicas (moxidectina, ivermectina, selamectina y milbemicina oxima), de los que existen preparados comerciales de administración oral y tópica de administración mensual, e inyectable de administración anual.

10. TRATAMIENTO

I. Clasificación del estado de gravedad

Existe una clasificación de los pacientes en dos categorías (bajo o alto riesgo de complicaciones tromboembólicas), basándose en el número de filarias estimado, el tamaño y la edad del perro, la severidad de la enfermedad pulmonar y presencia de enfermedades concomitantes, así como la actividad física y la restricción del ejercicio durante el tratamiento adulticida (McCall et al., 2008b).



II. Restricción del ejercicio

Especialmente durante el periodo del tratamiento con adulticida, es indispensable la restricción del ejercicio del animal. Cuando los animales hacen ejercicio hay un aumento del flujo sanguíneo en los vasos bloqueados por los parásitos muertos, lo que favorece la ruptura de los capilares, y produce fibrosis que termina favoreciendo la insuficiencia cardiaca derecha ([American Heartworm Society, 2014](#)).



III. Eliminación de larvas migratorias, *Wolbachia* y parásitos adultos

Antes de empezar con el tratamiento adulticida (melarsomina diclorhidrato), hay que eliminar las larvas migratorias L3 y L4, que no serán eliminadas por el adulticida ya que este no actúa sobre larvas menores de 4 meses; por lo que antes del tratamiento adulticida se administra durante 2 ó 3 meses lactonas macrocíclicas a dosis preventivas.

La muerte de las filarias durante el tratamiento implica la liberación masiva de *Wolbachia* en el organismo del perro, lo que puede tener graves efectos sistémicos (Kramer et al., 2005). Por lo tanto se recomienda eliminar la bacteria previamente, mediante la administración de doxiciclina a dosis de 10mg/Kg BID durante las 4 semanas anteriores al adulticida, permaneciendo la bacteria a niveles bajos durante los 3 ó 4 meses posteriores al antibiótico.

Solo existe un fármaco adulticida disponible en el mercado, la melarsomina diclorhidrato (Immiticide®) (Atwell y Searle, 1989; Dzimianski et al., 1989). Se recomienda un tratamiento de eliminación progresiva, permitiendo al organismo del animal eliminar los fragmentos embólicos de forma más efectiva y segura.

Cuando el animal presenta una gran carga parasitaria o síndrome de la vena cava, existe la posibilidad de la extracción transyugular derecha de las filarias adultas de las cámaras del

corazón y arterias pulmonares, utilizando fórceps flexibles Alligator o un lazo quirúrgico intravascular (Jackson et al., 1966; Sasaki et al., 1989; Ishihara et al., 1990; Bové et al., 2010).

IV. Tratamiento del tromboembolismo pulmonar

El tromboembolismo pulmonar es una consecuencia del tratamiento adulticida. Puede pasar desapercibido en casos leves; de lo contrario, generalmente en torno a los 7 a 10 días después del tratamiento podrían aparecer síntomas compatibles como son disnea, fiebre, tos, hemoptisis, etc. El tromboembolismo pulmonar puede suceder hasta 4 semanas después de la administración del tratamiento.

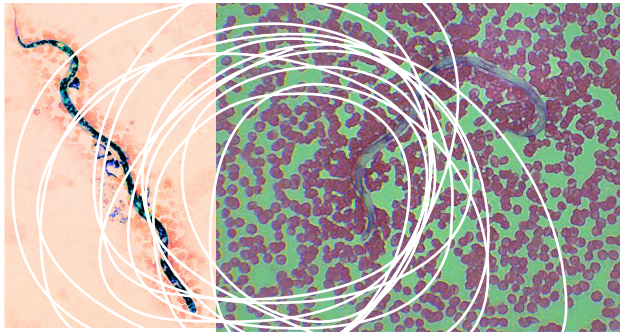
Para tratar esta complicación se administra prednisona, que junto a la restricción del ejercicio es el tratamiento de elección (Calvert et al., 1999; American Heartworm Society, 2014).

La aspirina se ha administrado históricamente para reducir la arteritis pulmonar y como antitrombótico, pero no hay evidencias del beneficio clínico e incluso hay estudios que sugieren que puede estar contraindicada (Boudreaux et al., 1991b; Knight, 1995; Kittleson, 1998; Atkins, 2005; American Heartworm Society, 2014).

V. Eliminación de las microfilarias

La muerte repentina de grandes cantidades de microfilarias puede tener consecuencias sistémicas entre las 4 y las 8 horas

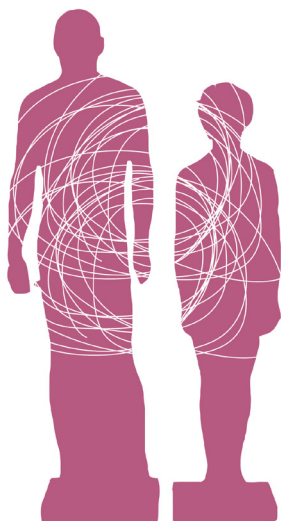
tras la administración de una dosis microfilaricida de lactonas macrocíclicas, por lo que se recomienda su uso a dosis preventivas mensuales y así eliminar gradualmente las microfilarias (Atkins, 2011).



B. DIROFILARIOSIS EN HUMANOS

Se han diagnosticado múltiples casos de distintas especies de *Dirofilaria* que han infectado a humanos. Estas especies son *D. repens*, *D. ursi*, *D. tenuis* y *D. immitis*, según su distribución geográfica, siendo las de mayor importancia clínica *D. immitis* y *D. repens* (Simón et al., 2012).

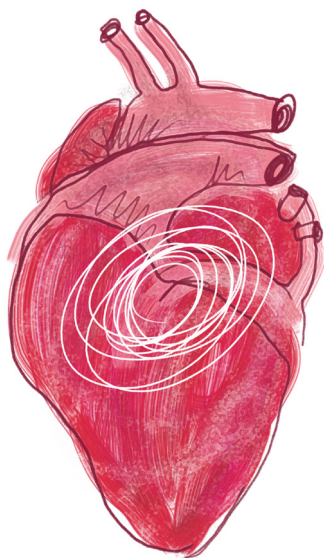
En las últimas décadas, los casos descritos han aumentado de forma drástica, entrando esta infección en la lista de emergencias zoonóticas. Los humanos son considerados hospedadores accidentales, y en muy pocas ocasiones aparecen síntomas. En Europa, la mayor parte de casos en humanos se han producido en Italia y Francia, aunque está habiendo una expansión hacia otros países del sur y el este del continente. Esto es posible que sea debido al movimiento de perros infectados y al calentamiento global, entre otros factores (Fok, 2007; Kramer et al., 2007).



Cuando las larvas infectan distintos tejidos humanos, la respuesta es nula o muy vaga durante su desarrollo en los mismos. En cambio, cuando los parásitos mueren en los tejidos, se produce una respuesta inflamatoria a su presencia. Sin embargo, son necesarios más estudios que determinen si la reacción sucede para eliminar al gusano, o es una reacción al gusano moribundo (Orihel y Eberhard, 1998).

1. DIROFILARIOSIS PULMONAR

Se caracteriza por la formación de nódulos pulmonares alrededor de gusanos juveniles, justo después de la muda desde L4. El hombre adquiere la infección al ser picado por un mosquito infectado, pero como no es un hospedador adecuado el parásito no completa su desarrollo habitual hasta el estado de adulto. Las larvas de *D. immitis* pueden ser destruidas por la respuesta inmune en el tejido subcutáneo o empezar a migrar hacia el corazón, aunque habitualmente son retenidas en una rama de la arteria pulmonar. Cuando la L4 alcanza una rama pequeña o mediana de la arteria pulmonar, la bloquea produciendo embolismo e inflamación localizada (Muro y Cordero, 2001). La importancia principal del hallazgo del nódulo es que influya en un diagnóstico erróneo, al ser confundido con una lesión maligna (Simón et al., 2005).



Aunque es más frecuente la aparición de lesiones individuales, en algún caso se han detectado hasta un máximo de cinco nódulos en un mismo individuo (Kochar, 1985). En general, las características radiológicas, como la forma esférica u oval, así como los bordes bien definidos y su densidad homogénea, sugieren un carácter benigno (Muro y Cordero, 2001). En estudios previos, se describe el tiempo de formación del nódulo de entre 2, 3 y 8 meses (Kahn et al., 1983; Kochar, 1985; Navarrete, 1972). En ocasiones las lesiones desaparecen posteriormente, lo que sugiere que éstas pueden ser transitorias (Cordero et al., 1992). El mayor tiempo conocido de la existencia de un nódulo en un hospedador es de 13 años (Beskin et al., 1966).

Existen evidencias de que los nódulos tienen tendencia a aparecer en el pulmón derecho, aunque sin predilección por ningún lóbulo. Lo habitual es que aparezca en regiones subpleurales. Se ha descrito la presencia de estas lesiones más frecuentemente en varones con una edad media de 53 años (Muro y Cordero, 2001). La dirofilariosis pulmonar es generalmente asintomática y solo un número pequeño de casos presentan síntomas. Cuando éstos aparecen son inespecíficos como tos con dolor torácico, esputo purulento o hemorrágico, hemoptisis, disnea, y en un número menor de casos cursa con fiebre, mialgia u otros síntomas inespecíficos (Simón et al., 2012).

2. DIROFILARIOSIS SUBCUTÁNEA Y OCULAR

La dirofilariosis subcutánea está causada por adultos y ejemplares jóvenes de *D. repens* que aparecen en tejidos subcutáneos, presentándose en forma de nódulos. Su crecimiento ocurre gradualmente en un tiempo que transcurre desde semanas a meses. Se caracteriza por tener una consistencia sólida, elástica y eritematosa. Histológicamente, los nódulos se clasifican en cuatro tipos según su contenido y características (Pampiglione and Rivasi, 2007).

En el caso de la dirofilariosis ocular, el número de casos ha aumentado mucho recientemente. Algunos casos tienen serias consecuencias, con síntomas que van desde disminución de la visión, a imágenes de puntos en movimiento y ceguera (Gen-

chi et al., 2001). En un 10% de los pacientes, aparecen complicaciones permanentes como daños en la retina, glaucoma, opacidad del humor vítreo y otros problemas que disminuyen la agudeza visual (Avdiukhina et al., 1996). Otros riesgos son consecuencia de la extracción quirúrgica de los gusanos de zonas sensibles, como el daño iatrogénico al nervio óptico (Korkhov et al., 2009). En los casos en los que el gusano se localiza a nivel orbital, se han descrito síntomas como edema palpebral y molestias oculares, entre otros (Stringfellow et al., 2002).

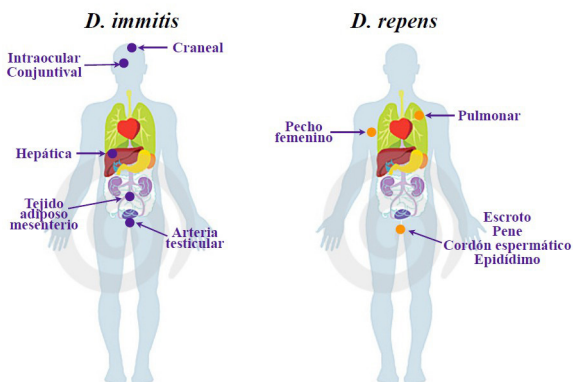


Figura 10: Localizaciones no habituales de *D. immitis* y *D. repens* en el hombre (imagen extraída de Simón y Gusoni (2012)).

3. DIAGNÓSTICO

En el diagnóstico de dirofilariosis humana, lo principal es que los médicos tomen conciencia de que esta parasitosis puede ser la causa de los síntomas del paciente. Un dato significativo en la anamnesis, es que el paciente esté viviendo o viajando a zonas donde habitan los mosquitos que transmiten dirofilaria. Los pacientes suelen olvidarse de informar acerca de alguna picada de insecto, por lo que no aparece este dato en la anamnesis (Simón et al., 2012).

En el caso de *D. repens*, cuando produce nódulos subcutáneos es el propio paciente el que solicita la atención médica. En *D. immitis*, que principalmente produce nódulos pulmonares, éstos son detectados de forma accidental en una radiografía de tórax. Puesto que tanto los nódulos subcutáneos, como los pulmonares son susceptibles de confundirse con tumores malignos u otras infecciones como tuberculosis u hongos, la cirugía es la opción más recomendada (Muro et al., 1999).

Durante el proceso de diagnóstico deben resolverse dos cuestiones fundamentales, que son la obtención de una muestra adecuada y una correcta identificación de los parásitos. Ante la ausencia de microfilarias en la sangre, el diagnóstico se lleva a cabo mediante biopsias que permiten la identificación de los parásitos preadultos por histología. Sin embargo, este procedimiento es invasivo, ya que requiere la obtención de material

biológico por toracotomía o punción/aspiración con aguja. Ello confiere a estas técnicas un potencial iatrogénico muy elevado.

I. Diagnóstico laboratorial

En el laboratorio se dispone de técnicas de diagnóstico serológico, que podrían ser una ventajosa alternativa a las técnicas invasivas, puesto que podrían evitar la intervención quirúrgica. Mediante estas técnicas se pueden detectar infecciones ocultas, facilitando el tratamiento y el estudio epidemiológico (Muro et al., 1999; Aranda et al., 1998; Cancrini et al., 1999).

Se han utilizado diferentes complejos antigénicos para detectar los anticuerpos y relizar el diagnóstico de la dirofilariosis humana (Simón et al., 1991; Santamaría et al., 1995). Se han puesto a punto tests de enzimo inmuno ensayo (ELISA) utilizando extractos antigénicos somáticos y excretos/secretos de vermes adultos, que pueden ser obtenidos en cantidades apreciables con relativa facilidad. No obstante, estos antígenos complejos producen reacciones cruzadas con otras especies de helmintos parásitos del hombre, principalmente *Toxocara canis*. Por lo tanto, el principal problema a resolver es la especificidad, para lo que se han utilizado algunos polipéptidos presentes en los complejos antigénicos, cuya especificidad para *D. immitis* se demostró previamente (Simón

et al., 1997; Perera et al., 1998). Un grupo japonés clonó el gen que codifica para una proteína de 35 KDa (DI35) (Sun y Sugane, 1992). La proteína, empleada en ELISA, demostró una elevada sensibilidad y especificidad para dirofilariosis pulmonar humana. Actualmente existe un polipéptido en la región de 22 KDa, denominado Di22, que es específica para dirofilariosis pulmonar y cuyo uso ha demostrado una sensibilidad del 100% y una especificidad del 90% (Perera et al., 1994; 1998).

Sin embargo, la serología aún presenta carencias. En primer lugar, es imposible definir con exactitud los valores predictivos positivo y negativo de los test usados. Otro problema es la elevada incidencia serológica en las personas expuestas a los mosquitos vectores en las zonas endémicas. Este dato siempre debe ser tenido en cuenta antes de formular un diagnóstico basado en la serología (Simón et al., 2012).

Miyoshi et al. (2006) realizaron un estudio de 6 casos de dirofilariosis pulmonar confirmada. De ellos, solo 4 dieron positivo a anticuerpos frente a *Dirofilaria* mediante técnicas de ELISA. Por otro lado, un resultado positivo de estos anticuerpos no indica necesariamente la presencia de una lesión pulmonar (Simón et al., 2005) pero refleja una exposición

previa al parásito. Por todo esto, la serología ha sido usada en estudios epidemiológicos y para valoración de riesgos de infección zoonótica, pero no para diagnosticar. [Simón et al. \(2003\)](#) describen una significativa elevación de la seroprevalencia de anticuerpos anti-WSP (*Wolbachia* surface protein) en pacientes con dirofilariosis pulmonar confirmada, al compararlo con individuos sanos de zonas endémicas y no endémicas. El contacto de la bacteria *Wolbachia* eliminada por un gusano muerto con el sistema inmune del hospedador, podría ayudar al diagnóstico serológico de la enfermedad.

En laboratorios especializados, existe la posibilidad de hacer un análisis de ADN en aquellos casos en los que se produce la extracción quirúrgica del nódulo mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Se obtienen reacciones positivas con mínimas cantidades de ADN del parásito. Esta técnica presenta un problema frente al protocolo seguido habitualmente para la toma de muestras, ya que habitualmente el nódulo reseccionado se introduce en formol, lo que podría inhibir la actividad de la ADN polimerasa ([Cangrini et al., 1999](#)).

II. Diagnóstico por imagen

La mayoría de los casos de infección por *D. immitis* en humanos presentan lesiones pulmonares; esto puede deberse a la natural predisposición del parásito por la vascularización pulmonar, o por la facilidad para realizar pruebas indirectas de diagnóstico en el tejido pulmonar (radiografía, T.A.C.).

Sin embargo, las localizaciones inusuales de *D. immitis* son características de la enfermedad de perros y gatos, pero también han sido detectadas en humanos. [Theis et al. \(2001b\)](#) informaron de la aparición de un gusano macho inmaduro en la arteria testicu-



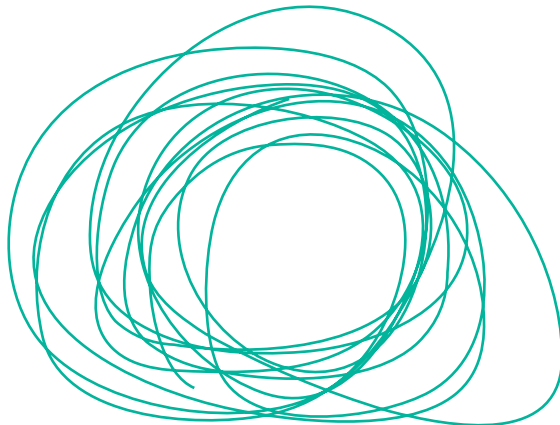
lar izquierda, cuya identificación fue confirmada por PCR. [Kim et al. \(2002\)](#) describieron la aparición de un macho inmaduro en un nódulo hepático. Esto nos indica que hay muchas arterias que permiten la localización y desarrollo de *D. immitis*, por lo que su localización extrapulmonar no la excluye como agente causal.

En radiografías o escáneres, el granuloma que se forma alrededor del gusano muerto, o moribundo, muestra una imagen en forma de moneda. Las características radiológicas de la lesión muestran un único nódulo pulmonar de bordes lisos y bien definidos, con morfología esférica u oval y densidad homogénea ([Muro y Cordero, 2001](#)). La mayoría de los casos en los que se observan estas lesiones, son pacientes asintomáticos ([Bielawski et al., 2001](#); [Milanez de Campos et al., 1997](#); [Stephen, 2001](#)).

III. Diagnóstico histológico

Existe un diagnóstico histológico atendiendo a las características morfológicas y morfométricas del gusano, la limitación de esta técnica es que se precisa la presencia de una forma adulta del helminto, que haya permanecido intacta durante la extirpación del nódulo y que no esté demasiado dañado por la reacción tisular.

El análisis histológico del nódulo revela un coágulo que suele tener secuestrado un gusano envuelto por una pared fibrosa de un grosor de 1 a 3 mm. En muchos casos, encontramos al gusano en distintas fases de descomposición en la luz de la arteria, y en otros solo encontramos una reacción celular, puesto que el gusano ya ha sido destruido en el momento del hallazgo del nódulo (Simón et al., 2005). Los estudios histológicos de los nódulos pulmonares causados por *D. immitis* han mostrado que se componen de eosinófilos, linfocitos y células plasmáticas acompañados de reacción histiocítica y cambios inflamatorios en los tejidos que rodean a los capilares. También se observan en ocasiones zonas necróticas, por los trayectos de salida de los gusanos (Simón et al., 2012).



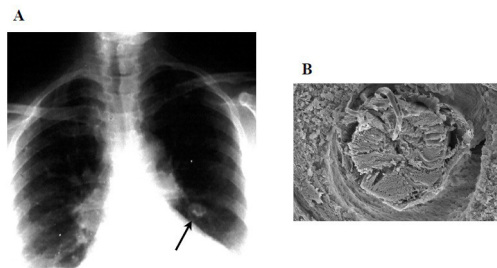


Figura 10: Radiografía de torax de un paciente con un nódulo solitario pulmonar (flecha) causado por *D immitis* (Imagen extraída de Simón y Gussoni (2012)) (A). Fotografía a microscopía electrónica de barrido de una arteria pulmonar con un verme de *D. immitis* atrapado en un coágulo que ocupa toda la arteria (Imagen extraída de Riache et al., 2009) (B).

4. TRATAMIENTO

Tal y como comentamos anteriormente, el descubrimiento de una lesión de las características mencionadas requiere de un intenso trabajo de diagnóstico para excluir otros agentes infecciosos (hongos y bacterias) y neoplasias. No hay test diagnósticos efectivos, salvo la resección quirúrgica del nódulo del tejido pulmonar que es el tratamiento de elección. El coste de esta intervención es elevado, sin embargo elimina el nódulo completamente. [Miyoshi et al. \(2006\)](#) describen la laparoscopia torácica como una alternativa menos invasiva.

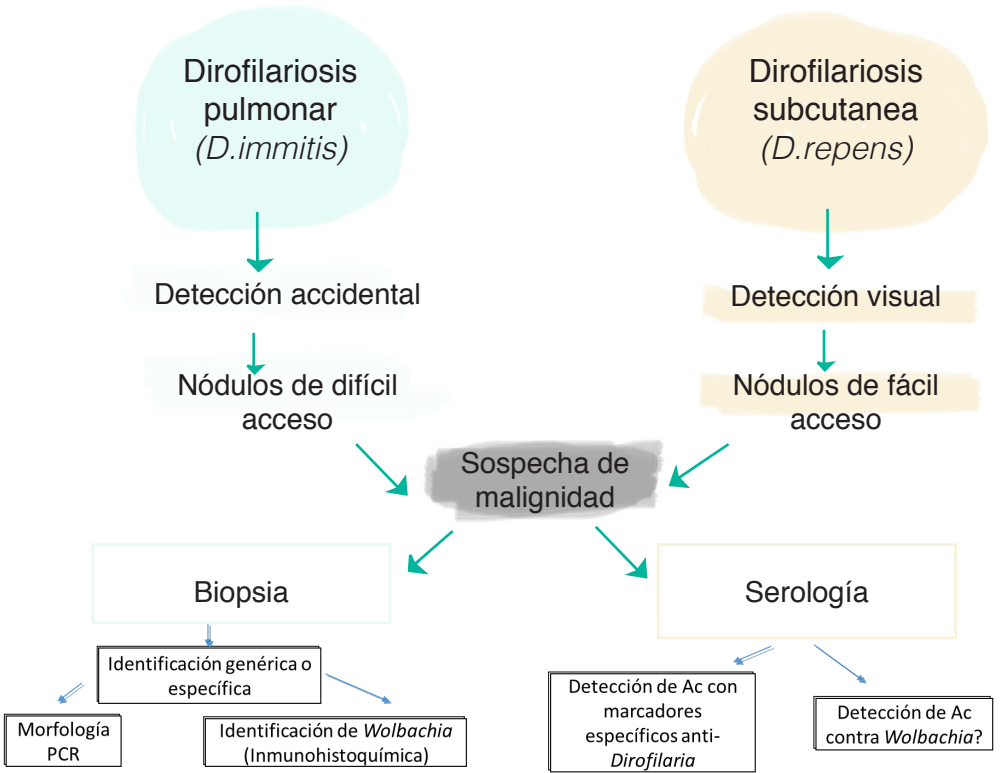
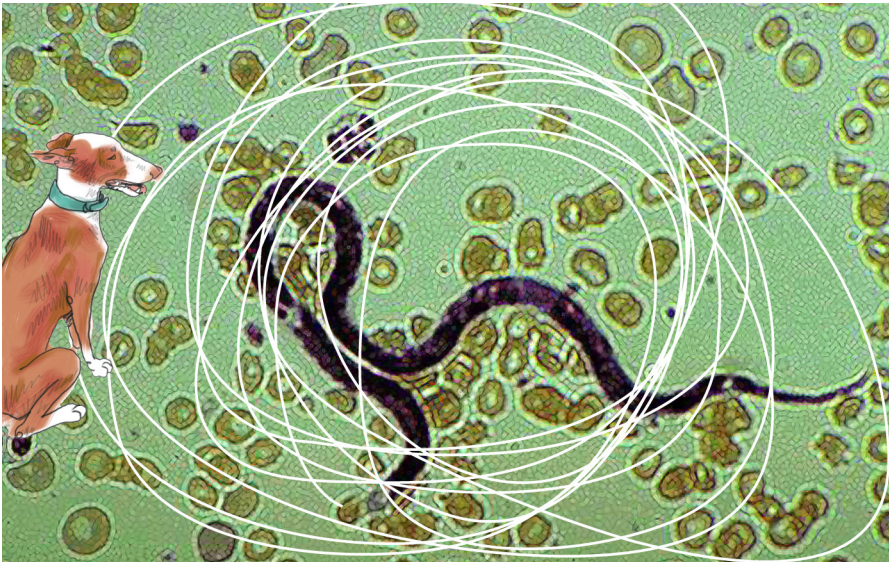


Figura 11: Algoritmo del diagnóstico de la dirofilariosis humana desde el punto de vista clínico.

C. RELACIÓN HOSPEDADOR-PARÁSITO EN LA DIROFILARIOSIS

La relación hospedador-parásito en la dirofilariosis está supeditada a la capacidad de *D. immitis* y *D. repens* para infectar distintos hospedadores en los que se desarrollan produciendo distintas patologías, y a la presencia de *Wolbachia* en larvas y adultos de ambas especies, de modo que el hospedador está expuesto a los antígenos del nematodo y de la bacteria (Simón et al., 2009a). Los tipos de respuesta inducida por los dos antígenos y la predominancia de uno u otro, depende de la supervivencia o muerte del parásito, y a la respuesta inflamatoria típica en dirofilariosis.



1. RESPUESTA INMUNE

El desarrollo de larvas infectivas a adultos y la naturaleza crónica de la mayoría de estas infecciones, parecen sugerir una baja efectividad de la respuesta inmune y la buena capacidad del parásito de evitar los mecanismos de control del hospedador reduciendo su inmunogenicidad o induciendo el estado de inmunotolerancia del hospedador. Sin embargo, se sabe que en la dirofilariosis animal generalmente el hospedador suele ser capaz de controlar la carga parasitaria y mantenerla en límites compatibles con su propia supervivencia, destruyendo la mayor parte de las larvas en las reinfecciones (Simón et al., 2001). En el hospedador se pueden encontrar distintos tipos de anticuerpos (IgG, IgM y IgE) contra las distintas etapas del desarrollo del parásito, y los mayores niveles se observan cuando existe infección microfilarémica (Desplazes et al., 1995; Gbakima et al.; Grauer, 1987; Grieve et al., 1979; Griever y Knight, 1985; Mejía y Carlow, 1994; Tamashiro et al., 1985).

Se ha postulado que los mecanismos mediados por anticuerpos son eficientes en la eliminación de microfilarias, con la IgG y la IgM mediando la adhesión de neutrófilos a la superficie de la microfilaria. Esto tiene efectos citotóxicos letales en la larva todavía infectiva y sobre el gusano adulto (Wakelin, 1984). En infecciones crónicas, se observa una supresión progresiva de la inmunidad celular, mientras se mantiene la respuesta de anticuerpos (Grieve et al., 1979; Weil et al., 1981).

Un aumento de la respuesta de anticuerpos después del tratamiento con adulticidas (Tanaka y Atwell, 1991) y la consiguiente liberación masiva de antígenos después del tratamiento, se correlaciona con el incremento de la respuesta inmunopatogénica (Desowitz et al., 1978). Actualmente hay evidencias de que la muerte del gusano adulto y de las microfilarias produce la liberación de *Wolbachia* a la sangre, que interactúa con los tejidos del hospedador. Se han detectado anticuerpos IgG específicos frente a WSP (*Wolbachia* Surface Protein) en sangre y orina de perros con distintos cuadros clínicos de dirofilariosis (Kramer et al., 2005; Morchón et al., 2012b) y de humanos diagnosticados con dirofilariosis pulmonar y subcutánea (Grandi et al., 2008; Simón et al., 2003).

2. INFLUENCIA DE LA MICROFILARIA Y LA PRESENCIA DE ADULTOS EN LA INTENSIDAD DE LA RESPUESTA DE ANTICUERPOS

Tal y como se ha dicho en apartados anteriores, varios estudios experimentales indican que existe una fuerte respuesta de anticuerpos frente a microfilarias en perros infectados con *D. immitis*. En perros microfilarémicos, se observan niveles significativamente más altos de anticuerpos IgG frente a *D. immitis* y a *Wolbachia* que en perros amicrofilarémicos (Grieve et al., 1979; Marcos-Atxutegi et al., 2004; Morchón et al., 2007).

Existen investigaciones que han valorado las diferencias en niveles de anticuerpos y su relación con el estado clínico del hospedador. Se han escrito artículos describiendo perros amicrofilarémicos con tromboembolismos masivos, que exhibieron una respuesta más fuerte de anticuerpos anti-*D. immitis* y anti-*Wolbachia* IgG que en perros asintomáticos y también amicrofilarémicos (Simón et al., 2007). En perros con glomerulonefritis y proteinuria asociada a dirofilariosis, se obtienen niveles más altos de anticuerpos IgG anti-WSP en orina de animales microfilarémicos, que en animales amicrofilarémicos.

Pacientes humanos diagnosticados de dirofilariosis pulmonar muestran respuestas de IgG o IgM contra antígenos del parásito adulto de *D. immitis* (Simón et al., 1991), mientras que en los pacientes que no presentan nódulos pulmonares, predominan los anticuerpos IgE (Espinoza et al., 1993; Sato et al., 1985). Así

mismo, se han observado niveles elevados de anticuerpos IgG anti-WSP en pacientes con dirofilariosis pulmonar, pero no en individuos seropositivos pero sin nódulos pulmonares (Simón et al., 2003), o en pacientes con *D.repens* asociados a dirofilaria subcutánea (Grandi et al., 2008). Todos estos datos sugieren que la respuesta de anticuerpos está relacionada con el estado parasitológico y el estado clínico del hospedador (Kramer et al., 2005). De hecho, Punkosdy and colleagues (2003) encontraron elevados niveles de IgG anti-WSP en la mitad de los individuos con linfoedema o hidrocele, en una región de Haití donde *W.bancrofti* es endémica, sugiriendo que la respuesta inmune frente a WSP está más relacionanda con la cronicidad de la enfermedad que con el estado parasitario.

3. MECANISMOS INMUNOPATOGÉNICOS

La inmunopatología de la dirofilariosis es muy compleja y las manifestaciones clínicas van a depender del tipo de respuesta inmune que estimule el parásito. Actualmente se sabe que los cambios inflamatorios asociados a la enfermedad aparecen cuando el gusano muere, ya sea por muerte natural, o a consecuencia del tratamiento (Dreyer et al., 2000; Taylor et al., 2001). El descubrimiento de la presencia de *Wolbachia* en *D.immitis*, así como en otras especies de filaria, supuso un cambio en la interpretación de los estudios de la dirofilariosis y sobre todo de su patogenia.

Cuando un gusano muere en las arterias pulmonares existe una respuesta dual Th1/Th2 que influyen en la secreción de citoquinas y los niveles de anticuerpos. La Th2 actúa contra antígenos de *D.immitis*, mientras que la Th1 es una respuesta provocada por *Wolbachia* (Marcos-Atxutegi et al., 2003).

De forma general en las parasitosis, los linfocitos Th2 determinan un patrón de secreción de citoquinas (IL4, IL5, IL10) que estimulan la proliferación de células B y la secreción de inmunoglobulinas. Dentro de las inmunoglobulinas, es la IgE la que participa con mayor intensidad. La combinación de los antígenos del parásito con la IgE produce la degranulación de los mastocitos con liberación de agentes vasoactivos que producen aumento de la permeabilidad vascular entre otros efectos. Los macrófagos, plaquetas y eosinófilos tienen receptores que permiten su unión a las IgE unidas a los parásitos, de esta forma se activan aumentando la producción de enzimas lisosómicas, metabolitos del oxígeno, leucotrienos y prostaglandinas, cuyo efecto es la destrucción del parásito. Los eosinófilos son atraídos hacia los sitios donde hay gusanos a través de la acción de moléculas quimiotácticas, que también estimulan liberación de eosinófilos a la circulación. Por ello se ha relacionado esta infección con signos típicos de hipersensibilidad como son la eosinofilia, edema o el asma.

Los linfocitos Th1 estimulan la secreción de interferón gamma (IFN- γ), IL2 y el factor de necrosis tumoral beta (TNF- β), los cuales activan macrófagos y son responsables de la inmunidad mediada por células.

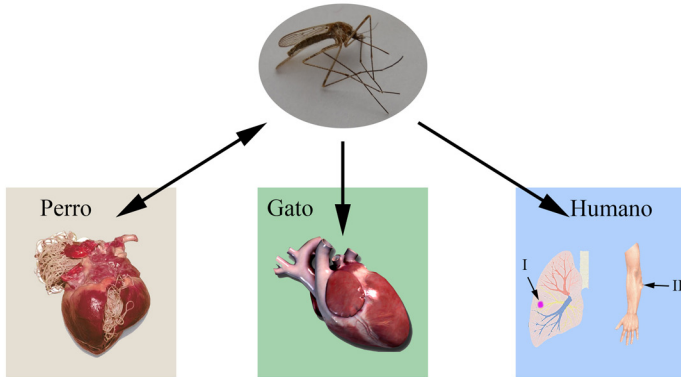
La inflamación es una importante y frecuente consecuencia de la dirofilariosis (Pampiglione et al., 1995; Pampiglione y Rivasi, 2000; Simón et al., 2007; Theis, 2005). Muchos datos confirman la relación entre *Wolbachia* y la inflamación que tiene lugar cuando un gusano adulto muere. En humanos, la mayoría de los pacientes diagnosticados de dirofilariosis pulmonar muestran una respuesta proinflamatoria frente a WSP basada exclusivamente en IgG1 (Th1) (Simón et al., 2003; Simón et al., 2007), mientras que individuos expuestos a *D.immitis* sin presencia de nódulo pulmonar presentan una respuesta predominantemente basada en IgE (Th2) (Espinoza et al., 1993; Pou-Barreto et al., 2008).

Otro dato importante es que los macrófagos juegan un papel de activación y regulación de la respuesta innata, uniendo también las respuestas innata y adaptativa (Taylor et al., 2001). Macrófagos y neutrófilos están presentes en la infección por *D.immitis* (Kramer et al., 2005) y en el caso de la dirofilariosis humana, ambas células son las que se encuentran en mayor cantidad en nódulos pulmonares y subcutáneos (Pampiglione and Rivasi, 2000; Simón and Genchi, 2000).

De modo que, durante la infección por *D.immitis* vamos a encontrar una respuesta inmune innata y adaptativa (Th1/Th2). El tipo Th2 o respuesta antiinflamatoria, es estimulado por los antígenos de *D.immitis* de parásitos adultos y la presencia de microfilarias. Los niveles de expresión de IL-4 e IL-10 aumentan y se presentan los anticuerpos relacionados con la respuesta Th2: IgG1 (en perros) e IgE (en humanos). La respuesta proinflamatoria o Th1 es estimulada por *Wolbachia* procedente de los gusanos moribundos o ya muertos. La WSP estimula la expresión de IFN- γ , que interactúa con los monocitos inhibiendo su apoptosis y haciendo que la inflamación persista. *Wolbachia* también estimula la respuesta Th1 mediada por anticuerpos y la expresión de mediadores proinflamatorios por las células del endotelio vascular. Las células endoteliales también incrementan los niveles de expresión de las moléculas de adhesión/transmigración y de proliferación celular. Algunos de estos estímulos están también desencadenados por antígenos somáticos de *D.immitis* (Simón et al., 2012).

Hay algunos estudios de modelos experimentales “in vitro” que relatan la respuesta inmune y la inmunopatología de la dirofilariosis. La primera reacción que inducen los antígenos de filaria es una respuesta Th2, mientras que en aquellos estimulados con *Wolbachia* solo se observó una respuesta Th1, usando un modelo de inmunización en ratones (Marcos-Atxuyegui et al., 2003). Además, en el mismo trabajo se muestra que las poblaciones de eosinófilos y neutrófilos aumentan cuando el sistema inmune del ratón es estimulado por antígenos somáticos de L3 o de adultos de *D.immitis*. Los neutrófilos acumulados en los riñones y en las paredes de las arterias pulmonares durante la infección en la dirofilariosis canina, sugiere que los neutrófilos participan en el desarrollo de la reacción inflamatoria en la enfermedad. En un estudio “in vitro”, Bazzocchi et al. (2003) demostraron que la WSP estimula la expresión de la IL-8 en los neutrófilos caninos, de este modo se implica *Wolbachia* en el desarrollo de las reacciones inflamatorias de modo independiente a los lipopolisacáridos (LPS). Un estudio reciente en el que se inocularon ratones con una combinación de WSP y *Wolbachia* –hsp60 (GroEL) ha demostrado que estas moléculas estimulan una intensa expresión de mediadores proinflamatorios innatos, especialmente óxido nítrico sintetasa inducible (iNOs) y TNF- α , confirmando la hipótesis de Bazzocchi et al. (2003). Efectivamente, hay fuertes evidencias de que *Wolbachia* no posee LPS (Wu et al., 2004) y estos hallazgos evidencian que *Wolbachia* puede participar en la reacción inflamatoria de la enfermedad a

través de otras moléculas que no son LPS, como se ha descrito en oncocercosis (*Onchocerca volvulus*) y en las filariasis linfáticas (*Wuchereria bancrofti*, *Brugia malayi*, *B. timori*) (Brattig et al., 2001; Taylor et al., 2001; Brattig et al., 2004).



Biología	Los gusanos se convierten en sexualmente maduros a los 120 días post infección	El desarrollo de gusanos adultos es más largo que en perros	Los gusanos adultos no completan su desarrollo
Inmunología	<p>Infecciones Mf⁺: Respuesta inmune tipo Th2 frente a filaria</p> <p>Infecciones Mf⁻: Respuesta inmune tipo Th1 frente a Wolbachia</p>	<p>Respuesta mediada por anticuerpos moderada frente a antígenos de L3</p> <p>Respuesta mediada por anticuerpos fuerte frente a <i>Dirofilaria</i> y <i>Wolbachia</i></p>	<p>Predomina la respuesta inmune tipo Th1 contra la WSP en pacientes diagnosticados con dirofilariosis pulmonar</p> <p>Predomina la respuesta basada en IgE (Th2) en individuos expuestos sanos</p>
Patología	La mayoría de las infecciones tienen un desarrollo de tipo crónico, pero la muerte simultánea de muchos gusanos puede producir episodios agudos	La evolución de la enfermedad es menos predecible que en casos de filariosis canina	Nódulos pulmonares benignos o nódulos subcutáneos se pueden confundir con tumores

Figura 12: Ciclo vital de *Dirofilaria spp.* Mosquitos infectados pueden inocular las larvas 3 (L3) del parásito en perros, gatos y humanos y transmitir microfilarias de perros microfilarémicos. Los gusanos son considerados el

reservorio de *Dirofilaria spp.* porque los gusanos adultos pueden sobrevivir durante muchos años a altas cargas parasitarias produciendo microfilarias (mf+) en la mayoría de las infecciones. La dirofilariosis felina se caracteriza por la baja carga parasitaria de gusanos adultos (de 1 a 3) y por la ausencia de microfilarias en sangre (mf-). La mayoría de las infecciones en humanos son asintomáticas (individuos en buen estado de salud). En alguna ocasión, la infección en humanos termina con la localización de un gusano joven en los pulmones (*D.immitis*) o en tejidos subcutáneos (*D.repens*), donde ya no pueden desarrollarse más y el hospedador puede matarlos, dando lugar a nódulos benignos de tipo pulmonares o subcutáneos respectivamente. En la figura se detallan algunos aspectos biológicos, inmunológicos y patológicos de la dirofilariosis en los distintos hospedadores (figura modificada de Simón et al., 2009).



D. DISTRIBUCIÓN Y PREVALENCIA DE *D. IMMITIS*

D.immitis afecta a perros y gatos, tanto domésticos, como salvajes, y a humanos en zonas tropicales y templadas por todo el mundo, mientras *D.repens* se encuentra exclusivamente en el viejo mundo. La mayoría de la información epidemiológica disponible surge de un número limitado de países, en los cuales esta enfermedad ha sido considerada de principal importancia durante décadas, tanto en veterinaria como en medicina humana. Sin embargo, cada vez más frecuentemente, los datos se están generando en países donde la dirofilariosis no estaba previamente documentada, o cuya información era limitada. La comparación de los datos epidemiológicos de los últimos 10 años muestra que los cambios en la distribución y prevalencia de dirofilariosis están ocurriendo en todo el mundo. Estos cambios podrían ser parcialmente atribuidos al creciente aumento del interés por la dirofilariosis en la comunidad científica, especialmente con respecto a las infecciones humanas, y al cambio climático que ha incrementado el rango de vectores específicos de *Dirofilaria spp* en algunas regiones (Simón et al., 2012).

1. DIROFILARIOSIS CANINA

I. América

Empezando por el Norte, en Canadá, la prevalencia media de dirofilariosis es del 0,24% (Slocombe and Villeneuve, 1993), aunque en la zona sur de Ontario, puesto que es una zona endémica, puede llegar a ascender al 8,4% (Klotins et al., 2000). También se han informado sobre casos en el Valle de Okanagan (Columbia Británica), debido al traslado de perros desde zonas endémicas (Zimmerman et al., 1992).

En Estados Unidos, se han detectado casos a lo largo de todo el país, aunque en el caso de Alaska no haya muchos datos publicados. En la actualidad, las prevalencias más altas se encuentran en los estados de la costa atlántica, excepto en Florida, donde ya se tiene mayor concienciación de la enfermedad, y en la rivera del Mississippi (Guerrero et al., 2006; Bowman et al., 2009; Brown et al., 2012).

Cuando se observan las prevalencias en un mapa llama la atención que, alrededor de las zonas endémicas, donde están los porcentajes de dirofilariosis más elevados, existen zonas donde son relativamente bajos. En California la media de la prevalencia es del 1,6%, pero con focos donde esta aumenta considerablemente hasta el 10%. Lo

más probable es que los casos detectados en estas zonas sean animales que proceden de regiones donde existe una mayor incidencia de la enfermedad. Además, se sabe que hay relación entre los casos de coyotes infectados con *D.immitis* y los casos de seroprevalencia positiva en humanos (Sacks et al., 2004). En el norte del país, las prevalencias son menores y no suelen superar el 1%.

Ya en Méjico, la incidencia media de dirofilariosis es del 7.5%. Durante los últimos 25 años, las prevalencias en la costa del Golfo se han mantenido entre el 20% y el 42% (Guerrero et al., 1992; Labarthe y Guerrero, 2005; Bolio-González et al., 2007; Cantó et al., 2011).

Según Kozek et al. (1995), la prevalencia en Puerto Rico va del 3,1% al 20,4% en zonas de la costa sureste de la isla. En Cuba, las prevalencias van desde el 7% de La Habana, al 63% de la Isla de la Juventud, y en la República Dominicana la prevalencia es del 18% (Duran-Struuck et al., 2005)

En Sudamérica, la dirofilariosis pulmonar canina es endémica en distintos países. En Venezuela se han encontrado microfilarias en la sangre del 2,3% de los perros testados (Pérez y Arlett, 1998; Labarthe y Guerrero, 2005).

Colombia presentó una prevalencia de entre el 4,8 y el 8,4%, y de forma inesperada se observó el parásito en

zonas con clima relativamente frío y en altitudes elevadas (Guerrero et al., 1989 y 1992; McCown et al., 2014).

La prevalencia en Río de Janeiro (Brasil), fue del 21,3%, con más perros infectados en las playas del Norte (49%), en zonas de montaña cercanas a Río de Janeiro es del 27,4% y del 33% en los suburbios de la ciudad, incrementándose en los últimos años (Guerrero et al., 1992; Labarthe et al., 2014).

En Argentina, la dirofilariosis en la ciudad de Buenos Aires tiene prevalencias que van del 0 al 23,5% que dependen de las características urbanas y ambientales de la zona (Rosa et al., 2002). La prevalencia más elevada del país se observa en zonas rurales del Noreste de la provincia de Formosa alcanzando el 74% y actualmente se están describiendo casos en zonas consideradas libres previamente (Mancebo et al., 1992; Cuervo et al., 2013).

II. Australia

En la isla continente, la dirofilariosis es endémica en las áreas costeras del Norte y del Oeste, también en las regiones del este de los estados de Queensland, Victoria y Nueva Gales del Sur, donde las prevalencias son del 1 al 3%, similar a los de las costas del suroeste de Estados Unidos. En Sydney, hace 30 años las prevalencias eran del 30%,

descendiendo hasta llegar al 11,4% en el último estudio publicado (Bidgood y Collins, 1996).

III. Asia

Las prevalencias en Asia son elevadas en determinadas regiones. En Irán, el rango de prevalencia es muy grande yendo desde el 0,95 al 36,8% de perros infectados. En la India, se han informado casos de *D. immitis* sobre todo por la zona noreste del país (Chakravarty et al., 1983; Patnaik, 1989) y se ha confirmado su existencia, junto con *D. repens* en Dheli (Megat Abd Rani et al., 2010). Otra zona endémica es Malasia, donde las prevalencias alcanzan el 70% en algunas áreas (Lok, 1988). Los estudios más recientes muestran prevalencias de 11.4% a 18.03% en el Noreste del país (Borthakur et al., 2015). También se ha descrito la presencia del parásito en Bangladesh (Fuehrer et al., 2013).

En Japón existe mucha información sobre esta enfermedad, ya que llevan muchos años realizando estudios. Según estudios de Tanaka et al. (1985), la prevalencia más elevada se observa en la región Kantonesa, siendo esta del 59%. En los últimos años se ha observado un descenso de la prevalencia en Tokio aunque ésta sigue siendo muy elevada (Oi et al., 2014).

En Corea del Sur, los estudios más recientes muestran una prevalencia media del 40%, con porcentajes más elevados en las zonas de costa (69,5%) (Song et al., 2003); los últimos estudios muestran una importante reducción de la prevalencia con una media de 6.9% en diferentes albergues animales del país (Jung et al., 2012).

En el noroeste de China se ha publicado una rpevalencia media de 3.04% (Cong et al., 2015). En Taipei (Taiwán), La prevalencia media es del 53,8% (Kuo et al., 1995), aumentando ligeramente cuando hablamos de perros callejeros (57%) (Wu y Fan, 2003).

IV. Africa

Dirofilaria immitis está presente en diferentes regiones africanas como Egipto, Marruecos, Kenia, Mozambique, Angola, Nigeria, Zambia y en Sierra Leona (Matola, 1991; Genchi et al., 2001; Schwan & Durand, 2002; Siwila et al., 2015). La prevalencia en Tanzania es de 10,2% (Matola, 1991). Sudáfrica no es una zona endémica, siendo importados de otras áreas endémicas los casos detectados (Genchi et al., 2001).

V. Europa

En Europa se han realizado y se siguen realizando, numerosos estudios epidemiológicos sobre dirofilariosis canina. La enfermedad es endémica en países de la cuenca mediterránea y del sur, como Portugal, España, Francia e Italia, mostrando áreas con prevalencias muy elevadas.

Es en Italia donde se encuentra la mayor zona endémica de Europa, situada a lo largo del valle del río Po, en el norte. Allí, encontramos una prevalencia en perros de entre el 50 y el 80% (Genchi y Rossi; 1998). De la zona centro del país, es en La Toscana donde se encuentra la mayor prevalencia, siendo esta del 12% (Genchi et al., 1993; Magi et al., 2012). En las zonas del sur, a pesar de que las temperaturas son más favorables para el desarrollo de las larvas en los mosquitos es *D.repens* la que predomina, mientras que hay prevalencias muy bajas de *D.immitis*. Como se observa en la región de Campania con un 0,6% de perros microfilarémicos y Sicilia con un 0,01% (Giannetto et al., 1997 y 2007; Cringoli et al., 2001). La dirofilariosis canina está apareciendo en zonas no endémicas consideradas hasta entonces libres de la enfermedad (Magi et al., 2015).

En Francia, la dirofilariosis canina se observa sobre todo en el sur del país y en la costa mediterránea, con prevalencias entre el 5 y 15%, aunque también se ha identificado en la zona del norte, en Cherburgo (Doby et al., 1986; Pantchev et al., 2009).

En Portugal, la enfermedad se distribuye principalmente en las regiones del Sur, con una prevalencia de entre el 9.4% y el 16,7%, y 27.3% en el centro del país. En la isla de Madeira en cambio, la prevalencia es del 30% (Araujo, 1996; Genchi et al., 2001, 2005; Vieira et al., 2014; Maia et al., 2015).

En otros países europeos como Eslovenia, Bulgaria, Grecia y Turquía la prevalencia de *D. immitis* se sitúa entre el 2 y 17%. En Rumanía, la prevalencia más reciente describe una prevalencia de 2.05%, aunque llega a alcanzar el 67% en algunas zonas (Olteanu, 1996; Ionică et al., 2015).

En la zona Centro y Norte de Europa se ha detectado un aumento de la prevalencia en países como Alemania, Austria, Holanda, Hungría, Reino Unido y Suecia, que se deben a perros importados de zonas endémicas y se describen los primeros casos endémicos por la presencia de climas favorables derivados del cambio climático (Meyer et al., 1994; Deplazes et al., 1995; Wohlsein et al., 1996; Voros et al., 2000; Jensen et al., 2003; Sassnau et al., 2014).

En el sur de Rusia, en Rostov se realizó un estudio con 795 perros, de los cuales 75 mostraron microfilaremia, siendo 42 de *D. immitis* y presentando 19 de ellos coinfección junto con *D. repens*. (Kartashev et al., 2011).

En España, aún falta mucha información sobre la distribución de la dirofilariosis canina, puesto que hay muchas provincias en las que no se han realizado estudios. Las Islas Canarias y las provincias suroeste de la Península son las que presentan las prevalencias más elevadas (Guerrero et al., 1989; Montoya et al., 2007; Montoya-Alonso et al., 2010; 2011). En Gran Canaria, la realización de diversos estudios epidemiológicos en años diferentes, ha permitido un seguimiento de la evolución de la dirofilariosis canina donde se detectó la mayor prevalencia de España hasta la fecha un 67,02% en 1994 (Montoya et al., 1998). Afortunadamente, en estudios posteriores se ha podido observar un descenso de la prevalencia hasta situarse en un 23% en 2002 y 19% en el último trabajo publicado (Sosa et al., 2002; Montoya-Alonso et al., 2011). En Tenerife también se ha producido un descenso de la prevalencia canina, pasando del 41,8% (Valladares et al., 1987) al 21% (Montoya et al., 2006).

La prevalencia más alta detectada en la Península Ibérica es del 36,7% en Huelva (Guerrero et al., 1989). Otras zonas con prevalencias elevadas las encontramos en las

provincias de Cádiz (12%), Barcelona (12,8%), Alicante (18%), Tarragona (26%) y Salamanca (33,3%). También se ha detectado en la isla de Ibiza con un 39% de prevalencia (Anguiano et al., 1985; Guerrero et al., 1989; Pérez-Sánchez et al., 1989; Aranda et al., 1998; Rodes et al., 2006). Ha sido recientemente cuando se han detectado casos de dirofilariosis canina en el Norte, en La Rioja con un 11% de prevalencia y La Coruña con un 4,2% (Morchón et al., 2010; Simón et al., 2009).

2. DIROFILARIOSIS HUMANA

Antes de empezar a hablar de la distribución de la dirofilariosis humana, es adecuado hablar de los factores más importantes que influyen en ella. Por un lado, la presencia de mosquitos capaces de ejercer como vectores del parásito, así como la existencia de condiciones climáticas adecuadas para su desarrollo. Hay que tener en cuenta también la introducción en un área determinada, de nuevas especies de mosquitos vectores de la enfermedad; un ejemplo de esto lo constituye *Aedes albopictus* que, siendo originario de Asia, ya se ha extendido al resto de continentes. El que se haya expandido tan rápido, se debe en su mayor parte a las redes de transporte internacional de neumáticos usados y productos de jardinería, así como al transporte accidental de adultos en vehículos desde áreas cercanas ya

afectadas (Reiter y Sprenger, 1987; Madon et al., 2002; Flacio et al., 2004; Roiz et al., 2007).

Aedes albopictus presenta una elevada antropofilia y esto hace que esté implicado en la transmisión de diversas enfermedades al hombre, entre ellas la dirofilariosis (Cancrini et al., 1995). La capacidad que tiene para transmitir larvas infectantes de *D. immitis* ha sido confirmada en Italia y en algunas zonas de Norteamérica (Comiskey y Wesson, 1995; Cancrini et al., 2003; Gratz, 2004). Recientemente en Roma, se ha realizado un estudio de los hábitos alimenticios del mosquito, en el cual se observó que, en zonas urbanas *Aedes albopictus* se alimenta casi exclusivamente de humanos, y en zonas rurales su alimentación es mixta (humano-caballo y humano-perro) (Valerio et al., 2010).



Figura 13: Ejemplar adulto hembra de *Culex pipiens*.

Otro factor que juega un papel esencial en la distribución de la dirofilariosis, son las condiciones ambientales. El calentamiento global ha hecho que se alargue la duración de la estación de riesgo de transmisión de la enfermedad (Genchi et al., 2009), además de influir en la introducción y expansión de vectores típicos desde otras zonas (Hendrickx et al., 2004; Rogers y Randolph, 2006).



Figura 14: Campos regados en verano, en una zona hiperendémica de dirofilariosis canina. El clima cálido y la humedad elevada favorecen la existencia y proliferación de los mosquitos vectores.

En los mismos lugares donde la dirofilariosis es endémica en perros, existe la posibilidad de transmisión al hombre. Los casos de *D. immitis* en humanos, han sido detectados en distintos países de todo el mundo. La existencia de numerosas especies de mosquitos vectores, cuya alimentación se basa en distintos hospedadores, y el hecho de que perros y humanos convivan estrechamente, hace que el riesgo de transmisión de la dirofilariosis aumente (Genchi et al., 2001). Sin embargo, el hecho de que la dirofilariosis humana sea asintomática, hace que el número de casos esté subestimado (Theis et al., 2005). Es muy probable que los casos que se han diagnosticado hasta ahora, se deban a estudios concretos en busca de la enfermedad, o a la existencia de buenas herramientas diagnósticas, principalmente de diagnóstico por imagen, que hacen que sean detectadas de forma accidental. Son más los casos diagnosticados de dirofilariosis subcutánea/ocular producida por *D. repens*, debido a que el mismo paciente se observa el parásito o los nódulos subcutáneos que produce (Simón et al., 2009b).

A medida que aumenta el interés por el parásito, aumentan los casos detectados (Simón et al., 2005). Entre el año 1965 (primer caso diagnosticado) y el 1989 se publicaron 165 casos viniendo la mayoría de Estados Unidos, Japón y Australia (Vélez et al., 2001). Desde entonces, los casos conocidos han ido en aumento.

Hasta 2011, se habían diagnosticado 12 casos de dirofilariosis humana en España, siendo los casos de dirofilariosis pulmonar más frecuentes en el oeste de la Península y en las islas Canarias y los de dirofilariosis subcutánea/ocular predominantes en la costa mediterránea e Islas Baleares (Ruiz-Moreno et al., 1998; Simón et al., 2001). La localización de los casos analizados coincide con la distribución de la dirofilariosis canina en el país (Cordero et al., 1990 y 1992a y b).

En Francia hasta el mismo año, se habían diagnosticado 83 casos, la mayoría localizados en zonas cercanas a la costa Mediterránea y Córcega (Raccurt, 1999), aunque se ha visto un incremento de infecciones en humanos en el suroeste de la costa Atlántica desde 1996 (Masseron et al., 1996; Guillot et al., 1998).

En Italia, la dirofilariosis humana se distribuye por todo el país, habiéndose denunciado 286 casos. El causante de la mayoría de ellos es *D. repens*, incluso en áreas de la mitad norte del país donde predomina *D. immitis* (Simón et al., 2005; Rivasi et al., 2006).

En Grecia solo se ha diagnosticado un caso de pulmonar, frente a los 28 diagnosticados de dirofilariosis subcutánea (Pampiglione et al., 2000; Maltezos et al., 2002).

En Hungría los casos de dirofilariosis humana asciende a 26 (Elek et al., 2000; Pónyai et al., 2006; Kucsera et al., 2007;

Szénási et al., 2008), en Ucrania a 23 y en Rusia a 192, 131 de los cuales se detectaron en la región de Rostov, coincidiendo con la mayor incidencia de casos en perros de Rusia, 129 de dirofilariosis subcutánea y 2 pulmonares (Dorofeev et al., 1997; Postnova et al., 1997; Avdiukhina et al., 2003; Bronstein et al., 2003; Kramer et al., 2007; Kartashev et al., 2011).

En la zona centro y norte de Europa, que no es considerada zona endémica, los casos humanos se detectan cada vez con más frecuencia. Se han diagnosticado casos aislados en Bélgica, Reino Unido y Noruega (Simón et al., 2005) y en Alemania unos 8 casos, 2 de los cuales correspondían a dirofilariosis pulmonar (Jelinek et al., 1996). En Austria se diagnosticaron 20 casos de dirofilariosis subcutánea u ocular entre 1981 y 2008 (Auer et al., 1997), la mayoría de los cuales se atribuyeron a viajes realizados a zonas endémicas.

En Japón, los casos de dirofilariosis pulmonar detectados entre 1998 y 2004, ascienden a 24 (Miyoshi et al., 2006).

En Estados Unidos, se han diagnosticado un total de 110 casos desde 1941. El estudio retrospectivo de dirofilariosis pulmonar realizado por Theis (2005), reveló que la mayoría de los casos aparecieron en pacientes que vivían en la zona sureste del país, un área altamente endémica.

En Brasil se diagnosticó el primer caso de América Central y América del Sur (Magalhães, 1887), desde entonces se han do-

cumentado 50 nuevos casos, principalmente en Río de Janeiro, Sao Paulo y Florianópolis (Vezzani et al., 2006). En el 75% de los casos diagnosticados en Sao Paulo desde 1982 a 1996 se observó la presencia de nódulo pulmonar (Milanez de Campos et al., 1997). Otros casos se han dado en Venezuela, Colombia y Argentina (Salfelder et al., 1976; Beaver et al., 1990; Vezzani et al., 2006).

En el caso de la dirofilariosis pulmonar, como ya se ha comentado, su dificultad diagnóstica hace que esté subestimada por lo que probablemente, no constituyan un reflejo del verdadero riesgo de infección que *D. immitis* supone para los seres humanos. Por otro lado, los estudios seroepidemiológicos, ofrecen datos más útiles para la evaluación del riesgo real de contacto con el parásito (Simón et al., 2005). En España, existen estudios realizados en la provincia de Salamanca, donde en el valle del Tormes existe una prevalencia de dirofilariosis canina del 33,3% y una seroprevalencia total en humanos del 21% (Simón et al., 1991; Muro et al., 1991; Espinoza et al., 1993) y en La Rioja, donde la prevalencia canina y seroprevalencia en humanos prácticamente son la misma (12 y 11,6% respectivamente) (Morchón et al., 2010).

También se han realizado estudios seroepidemiológicos en la zona endémica del Norte de Italia (Pavía), donde se encontró una correlación entre las prevalencias caninas y las seroprevalencias humana (Prieto et al., 2000).

Por otra parte, las técnicas serológicas también permiten una identificación de las infecciones humanas por *D. immitis* en áreas donde la búsqueda mediante técnicas radiológicas es prácticamente imposible. Un ejemplo es el estudio de anticuerpos contra *D. immitis* en una población de indios Tikuna, que habitan en un área aislada del Amazonas en el sur de Colombia y cuyos perros estaban infectados con *D. immitis*. Se detectaron microfilarias de *D. immitis* en más de la mitad de los animales y anticuerpos específicos en el 32,2% de las personas (Vieira et al., 1998). Posteriores estudios llevados a cabo en poblaciones humanas residentes en diferentes áreas geográficas del país permitieron detectar anticuerpos contra *D. immitis* (Vieira et al., 2000)

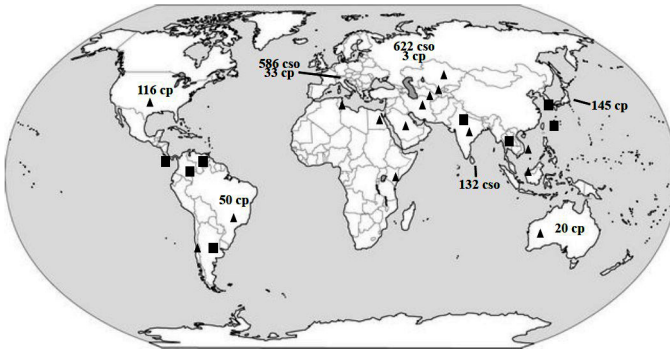
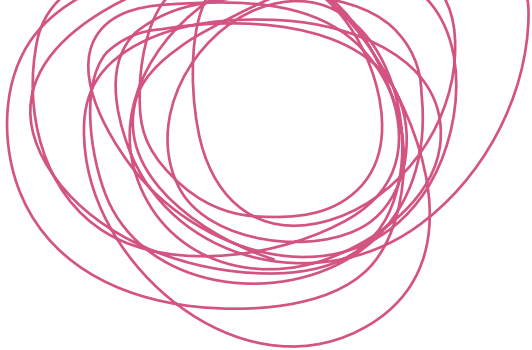
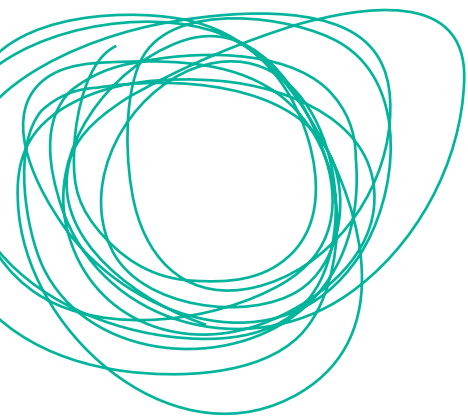
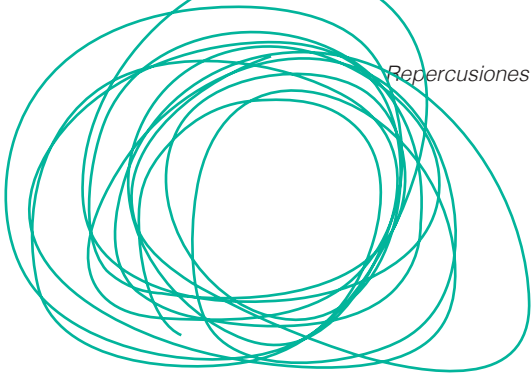


Figura 15: Distribución geográfica de la dirofilariosis humana. Se especifica el número de casos en los países con mayor incidencia. (■): casos pulmonares esporádicos; (▲): casos subcutáneos/oculares esporádicos. Imagen extraída de Simón y Gussoni (2012).





Artículos

- 1. Canine dirofilariosis caused by *Dirofilaria immitis* is a risk factor for the human population on the island of Gran Canaria, Canary Islands, Spain.** Parasitol Res. 2010; 107, 1265-1269.
- 2. Seroprevalence of human dirofilariasis on the island of Gran Canaria, Canary Islands-Spain.** Trop. Med. Int. Health 2011; 16, 229.
- 3. Estudio seroepidemiológico del riesgo zoonótico de dirofilariosis pulmonar por *Dirofilaria immitis* en la población humana de las islas Canarias.** En proceso de publicación.

ARTÍCULO 1:

Canine dirofilariosis caused by *Dirofilaria immitis* is a risk factor for the human population on the island of Gran Canaria, Canary Islands, Spain.

Parasitol Res. 2010; 107, 1265-1269.

Canine dirofilariosis caused by *Dirofilaria immitis* is a risk factor for the human population on the island of Gran Canaria, Canary Islands, Spain

Jose Alberto Montoya-Alonso · Isabel Mellado ·
Elena Carretón · Elena Dolores Cabrera-Pedrero ·
Rodrigo Morchón · Fernando Simón

Received: 7 June 2010 / Accepted: 13 July 2010 / Published online: 30 July 2010
© Springer-Verlag 2010

Abstract The aim of the present study was compare the prevalence of *D. immitis* in dogs and seroprevalence in humans of Gran Canaria (Canary Islands, Spain) taking into consideration the four isoclimatic areas of the island. A close relationship between the prevalence of *Dirofilaria immitis* in dogs and the seroprevalence in humans, in each isoclimatic area, was observed. The highest seroprevalence of infection in both canine and human hosts were found in a strip of mid-range altitude with 25.47% and 30.4% in dogs and 25.66% and 29.73% in humans, respectively. The coastal zone and the highest part of the island have prevalences significantly lower. These results demonstrate that the risk of infection by *D. immitis* in the human population in each area is tied to the prevalence in the canine population. Physicians should be alerted to the possibility of finding cases of human pulmonary dirofilariosis amongst the inhabitants of the island.

Introduction

Cardiopulmonary dirofilariosis (heartworm disease, HWD) caused by *Dirofilaria immitis* is a vector-borne disease,

affecting primarily dogs and cats from temperate and tropical areas of the world. Different species of culicid mosquitoes of the genera *Culex*, *Aedes*, and *Anopheles* act as vectors for the dirofilariosis. Some of these species feed indistinctly on animal reservoirs and man. Thus, in endemic areas, zoonotic infections through *D. immitis* can occur (Simón et al. 2009a, b).

In Europe, the highest prevalences have been reported in the canine populations of the Mediterranean countries. Moreover, heartworm disease is being detected with increasing frequency in central and Northern European countries as a consequence of the global warming and travels (Genchi et al. 2005). In Spain, the distribution of canine dirofilariosis is incompletely known because epidemiological studies have not been carried out in some provinces (Guerrero et al., 1989; Montoya et al., 2007). These studies do not reveal the existence of canine *D. immitis* infections in the Northern provinces of the Iberian Peninsula. Nevertheless, canine infections in two of these provinces have been recently reported (Morchón et al. 2009; Simón et al. 2009b), suggesting both that the lack of data is due more to the absence of studies than to the real lack of dirofilariosis and to a probable expansion of the infection from Southern endemic provinces.

The climate of Canary Islands (Spain) is very different from those of the European continent because they are off the African Atlantic coast, only 95 km from the Western Sahara. The first epidemiological studies on canine dirofilariosis in the island of Gran Canaria showed a prevalence of 36% in dogs living in the capital of the island, Las Palmas de Gran Canaria (Guerrero et al. 1989). Prevalences of 67.02%, 58.92% and 52.18% were obtained in epidemiological surveys of the whole canine population of the island (Montoya et al. 1998),

J. A. Montoya-Alonso · E. Carretón · E. D. Cabrera-Pedrero
Internal Medicine, Faculty of Veterinary Medicine,
University of Las Palmas de Gran Canaria,
35413 Arucas, Las Palmas, Spain

I. Mellado · R. Morchón · F. Simón (✉)
Laboratory of Parasitology, Faculty of Pharmacy,
University of Salamanca,
Avda. Campo Charro s/n,
37007 Salamanca, Spain
e-mail: fersimon@usal.es

these being the highest prevalences observed in Spain. Data supporting the existence of the other important zoonotic species (*D. repens*) in the canine population of the island of Gran Canaria have not been published until now.

Human dirofilariosis is habitually underdiagnosed (Simón et al. 2005). The reported clinical cases reveal only a part of the human infections (Simón et al. 2009a, b) because seroepidemiological studies carried out in exposed populations show that humans contact frequently with *Dirofilaria* species (Prieto et al. 2000). Moreover, the habitual asymptomatic course of human infections can contribute to the fact that some cases pass undetected (Simón et al. 2005). In the Canary Islands, a recent study showed a high seroprevalence of specific anti-*D. immitis* IgG and IgE antibodies to the human population of the island of Tenerife (Pou-Barreto et al. 2008). Nevertheless, data regarding human dirofilariosis on the island of Gran Canaria have not been published until now, in spite of the high prevalences observed in the canine population.

In the present study, we analyze the current seroprevalence and distribution of human dirofilariosis and their relationship to the distribution of heartworm infection in the canine population of the island of Gran Canaria.

Methods

Physiographic and climate of the island of Gran Canaria

The island is situated near the African coast of the Sahara at 28°N, 15°O. It is circular in shape with a diameter of approximately 80 km. It has a volcanic peak of 1,949 m over the sea at its centre. This structure, its geographical location, and the constant presence of the trade winds determine the existence of four concentric isoclimatic zones (Fig. 1) These are ascending in altitude, from the coast to the highest central peak of the island (Montoya et al. 1998): (1) in the dry, desert climate zone (DD), between 0 and 200 m, there is less than 18 mm/year rainfall, temperatures are higher than 18°C, and summers are very dry. Intensive agriculture is located in this zone, mainly bananas and tropical fruits. (2) In the dry, stepparic climate zone (DS), between 200 and 500 m, the average temperature is higher than 18°C, and the rainfall is 500 mm/year. The atmosphere is cool and pleasant, and there are vines, cereal, and fruits cultivated. (3) In the temperate, mild climate zone, there are dry summers and mild winters (TM), between 500 and 1,100 m. Average temperatures ranges are from 12°C to 16°C. In winter, the weather is cold and wet, with cloud formation that benefits the soil by the way of dew and fog. Precipitation reaches 500 to 1,000 mm/year. This area of the island is characterized by green foliage and cereals and potatoes are grown here. (4) The temperate, cold climate zone (TC)

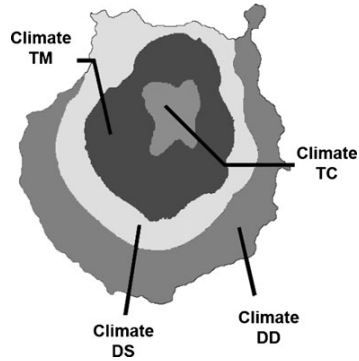


Fig. 1 Isoclimate zones on the island of Gran Canaria. Dry and desert climate zone (DD), dry and stepparic climate zone (DS), temperate and mild climate zone (TM), and temperate and cold climate zone (TC)

cold winters and summers with temperatures below 22°C, it lies between 1,100 and 2,000 m, it has summers with hot days and winters with cold nights; it snows some years, and precipitation is about 400 mm. Temperatures may often fall below 0°C. Most of the human (60%) and canine (44%) populations are in the DD zone, followed by the DS zone with the 20% and 22%, respectively, the TM zone with the 15% and 21%, the TC zone being the least populated area with the 5% and 13%, respectively.

Samples analyzed

We analyzed 697 privately owned dogs (352 males and 345 females) which had been taken to veterinary clinics in 2008 for routine health examinations. The sample reflects the distribution of the canine population throughout the isoclimatic areas: 302 samples were from the DD zone, 157 from the DS, 148 from the TM, and 90 from the TC. The criteria for inclusion were >5 months of age, no HWD chemoprophylaxis, no previous history of heartworm infection, and the owner's agreement to the participation in the survey. A complete record was kept for each dog, including identification (age, sex, and breed), clinical history, and demographic dates.

Serum samples from 493 humans (208 men and 285 women) taken in 2008 in a local hospital were also analyzed. By ages, 40 samples were from individuals younger than 20 years, 256 from 20 to 40 years, 142 from 40 to 60, and 55 from individuals older than 60 years. The confidentiality of the information of the patients was always maintained. Two hundred and sixty serum samples were from the DD zone, 113 from the DS, 74 from the TM, and 46 from the TC. The study was performed in accordance

with deontological regulations and the present legislation on human and animal protection.

Procedures

The presence of circulating antigens and microfilariae of *D. immitis* were studied in the dog samples. To identify canine *D. immitis* infections, blood samples were analyzed by the Canine Heartworm Antigen, Petcheck PF IDEXX test (Westbrook, USA), for the detection of *D. immitis* circulating antigens, according to manufacturer instructions. The presence or absence of microfilariae was determined by a modified Knott (Acevedo et al. 1981).

Human samples were analyzed by ELISAs to detect specific anti-*D. immitis* IgG antibodies using adult *D. immitis* somatic antigens as described previously (Simón et al. 1991). Briefly, 96-well microplates were coated with 0.8 µg of an extract of *D. immitis* adult worms. All serum samples were analyzed at a 1:100 dilution, and the secondary antibody (anti-human immunoglobulin G peroxidase-conjugated from Merck, Germany) was used at 1:4,000 dilution. Optical densities were measured at 492 nm in an Easy Reader (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA). The cut-offs (OD=0.8) was established by calculating the mean value ± 3 standard deviations of 20 serum samples from clinically healthy blood donors living in an area free of *D. immitis*.

Statistical analysis

The data were analyzed using the SPSS Base 17.0 software for Windows. The descriptive analysis of the variables considered was carried out studying the proportions in the qualitative variables. The chi-square test was performed to compare proportions. In all the cases, the significance level was established at $p < 0.05$.

Results

One hundred and thirty-five dogs out of 697 dog samples analyzed were positive using the IDEXX test. Thus, the overall prevalence of *D. immitis* is 19.36% of which 83 (61.48%) were microfilaremic and 52 (38.52%) were amicrofilaremic infections. There are no significant differences between males (64/352, 18.18%) and females (71/345, 20.57%). Considering the isoclimatic areas, prevalences of 13.57% in DD (56.09% of microfilaremic infections), 25.47% in DS (62.50% of microfilaremic infections), 30.4% in TM (66.66% of microfilaremic infections), and 10% in TC (55.55% of microfilaremic infections) (Fig. 2) were observed. There are no significant differences between prevalences from TM and DS, nor are there among those of DD and TC, but there are

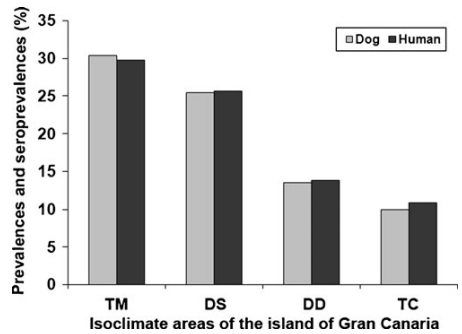


Fig. 2 Comparative canine and human *D. immitis* seroprevalences in different isoclimatic areas on the island of Gran Canaria. Significant differences ($p < 0.05$) were observed in the prevalences and seroprevalences of *D. immitis* infections in dogs and humans from TM and DS areas by one part and those observed in DD and TC areas by the other. No significant differences were observed between prevalences in dogs and seroprevalences in humans in each isoclimatic area

significant differences ($p < 0.05$) between prevalences observed in TM and DS and those observed in DD and TC.

Ninety-two out of 493 human serum samples analyzed were positive in ELISA for *D. immitis*. Thus, total seroprevalence in humans is 18.66%. There are no significant differences among men (41/208, 19.71%) and women (51/285, 17.89%). When the isoclimatic areas were taken into consideration, seroprevalences of 13.85% in DD, 25.66% in DS, 29.73% in TM, and 10.86% in TC (Fig. 2) were observed. No significant differences were found between seroprevalences from TM and DS, nor were there seroprevalences between DD and TC areas. Nevertheless, as what occurs in dogs, there are significant differences ($p < 0.05$) between seroprevalences of TM and DS and those observed in DD and TC. When age was considered, the highest seroprevalence was found in the youngest part of the population (< 20 years), with 25%, followed by that observed in individuals between 20 and 40 years with 18.76%, and individuals between 40 and 60 years (18.7%). The lowest seroprevalence was observed in individuals older than 60 years (10.9%). There are significant differences between all the groups ($p < 0.05$) except between groups of 20–40 and 40–60 years. Canine prevalences and human seroprevalences found in each isoclimatic area were very similar (Fig. 2). Statistical analysis showed no significant differences.

Discussion

The existence of canine and feline cardiopulmonary dirofilariosis in the island of Gran Canaria is well

documented (Guerrero et al. 1989; Montoya et al. 1998; Morchón et al. 2004). Nevertheless, studies focusing on human dirofilariosis have not been carried out to date. In the present study, data demonstrating the existence of human *D. immitis* infections and their correlation with the canine prevalences are presented.

The highest *D. immitis* prevalences and the highest microfilaremic infection rates are concentrated in a strip of mid-range altitude (DS and TM areas), the prevalences being lower in the coastal strip (DD) and in the highest part of the island (TC). These differences can be attributed to the fact that in the mid-range altitude zone, there are suitable conditions of humidity and temperature for the development of the mosquito vector populations. In fact, there exist irrigated cultures and many ponds and reservoirs of water in this area. In addition, many hunting dogs with a high prevalence of HWD resident in these areas are not included in a prophylactic regime. In the other two areas, the environmental conditions limit both the vector populations and their period of activity. Moreover, the main urban areas are located in the DD zone; thus in this area, the highest human and canine population appear, chemoprophylaxis being habitually performed. Probably, the habitual practice of chemoprophylaxis in this part of the canine population is the main factor affecting the decrease of the prevalence of cardiopulmonary dirofilariosis in the island of Gran Canaria, from 52.18% in 1996 (Montoya et al. 1998) to 19.36% in the present study. Although this decrease will be analyzed in depth in the future, the present study demonstrates that the situation is not the same throughout the whole insular territory. Therefore, research considering the climatic and social situation in the different zones of the island should be carried out to obtain an accurate picture of the epidemiological situation, as this picture does not appear when the canine population as a whole is analyzed.

The seroprevalences observed in human populations living in each area show a high correlation with canine prevalences and with microfilaremic infection rates. This demonstrates, in the first place, that the existence of canine heartworm infections on the island of Gran Canaria is a potential risk for the resident human population, as has been observed in the nearby island of Tenerife (Pou-Barreto et al. 2008) and in other endemic European areas (Prieto et al. 2000; Simón et al. 1991). It is necessary to stress that the positive serology in humans only indicates a contact with the parasite (Pou-Barreto et al. 2008). Considering the high seroprevalence, the incidence of pulmonary nodules caused by *D. immitis* should be studied in the human population of the island of Gran Canaria to determine the real risk of the development of pulmonary dirofilariosis. This would enable physicians to be alerted the need for inclusion of the pulmonary dirofilariosis in the differential diagnosis of pulmonary nodules. An interesting fact is that the distribu-

tion of the human seroprevalences by age is different on the island of Gran Canaria than in other endemic areas previously analyzed. The highest seroprevalence of anti-*D. immitis* IgGs is usually detected in the oldest half of the exposed populations (Prieto et al. 2000); but in this study, the highest seroprevalence appears in the youngest part of the population. This seems to indicate that on the island of Gran Canaria, the exposure to the parasite is very early, probably due to the limited mobility of the resident individuals. Moreover, the species of vectors implicated in the transmission and their abundance and activity are other important factors. In fact, we have previously observed *D. immitis* DNA in *Culex theileri*, a strong anthropophilic species, captured in the island of Gran Canaria (own non-published data).

In conclusion, the data presented here demonstrate the existence of a high correlation between the prevalences of *D. immitis* in canine and human populations in the different isoclimatic areas of the island of Gran Canaria, confirming the risk of contact for people living in areas where there is canine dirofilariosis and the importance of climatic characteristics. Periodic epidemiological studies are necessary to determine changes in the prevalence of canine dirofilariosis and to evaluate the effectiveness of the preventive measures in each specific area. The existence of a high seroprevalence in humans should alert physicians to the possibility of finding pulmonary nodules caused by *D. immitis* among the human population of the island of Gran Canaria.

Acknowledgments This research is partly supported by Agencia Canaria de Investigación, Innovación y Sociedad de la Información, Gobierno de Canarias, España (cofinanced with FEDER funds) (grant C20080100093) and by Junta de Castilla y León (grant SA090/A09)

References

- Acevedo RA, Theis JH, Kraus JF, Longhurst WM (1981) Combination of filtration and histochemical stain for detection and differentiation of *Dirofilaria immitis* and *Dipetalonema reconditum* in the dog. *Am J Vet Res* 42:537–540
- Genchi C, Rinaldi L, Cascone C, Mortarino M, Cringoli G (2005) Is heartworm disease really spreading in Europe? *Vet Parasitol* 133:137–148
- Guerrero J, Rojo F, Rodenas A (1989) Estudio de la incidencia de la enfermedad del gusano del corazón en la población canina española. *Med Vet* 6:217–220
- Montoya JA, Morales M, Ferrer O, Molina JM, Corbera JA (1998) The prevalence of *Dirofilaria immitis* in Gran Canaria, Canary Islands, Spain (1994–1996). *Vet Parasitol* 75:221–226
- Morchón R, Ferreira AC, Martín-Pacho JR, Montoya A, Mortarino M, Genchi C, Simón F (2004) Specific IgG antibody response against antigens of *Dirofilaria immitis* and its *Wolbachia* endosymbiont bacterium in cats with natural and experimental infections. *Vet Parasitol* 125:313–321
- Morchón R, Moya I, González-Miguel J, Montoya MN, Simón F (2009) Zoonotic *Dirofilaria immitis* infections in La Rioja, Northern Spain. *Epidemiol Infect* 138:380–383

- Montoya JA, Morales M, Juste MC, Corbera JA (2007) Heartworm (*Dirofilaria immitis*) infection in dogs: current update in Spain, pp: 175–180. In: *Dirofilaria immitis* and *D. repens* in dog and cat and human infections (C. Genchi, L. Rinaldi, G. Cringoli, eds.) Rolando Editore, Naples, Italy, 211 pp.
- Pou-Barreto C, Quispe-Ricalpe MA, Morchón R, Vázquez C, Genchi M, Postigo I, Valladares B, Simón F (2008) Galectin and aldolase-like molecules are responsible for the specific IgE response in humans exposed to *Dirofilaria immitis*. *Parasite Immunol* 30:596–602
- Prieto G, Cancrini G, Muro A, Genchi C, Simón F (2000) Seroepidemiology of *Dirofilaria immitis* and *Dirofilaria repens* in humans from three areas of souther Europe. *Res Rev Parasitol* 60:95–98
- Simón F, Muro A, Cordero M, Martín JA (1991) Seroepidemiologic survey of human dorofilariosis in Western Spain. *Trop Med Parasitol* 42:106–108
- Simón F, López-Belmonte J, Marcos-Atxutegi C, Morchón R, Martín-Pacho JR (2005) What is happening outside North America regarding human dirofilariasis? *Vet Parasitol* 133:181–189
- Simón F, Morchón R, González-Miguel J, Marcos-Atxutegi C, Siles-Lucas M (2009a) What is new about animal and human dirofilariasis? *Trends Parasitol* 25:404–409
- Simón F, Morchón R, González-Miguel J, Rodés-Moltó D (2009b) *Dirofilariosis canina* en La Coruña. Galicia. *Argos* 106:10–12

ARTÍCULO 2:

2. Seroprevalence of human dirofilariasis on the island of Gran Canaria, Canary Islands-Spain. Trop. Med. Int. Health 2011; 16, 229.

Abstracts of the 7th European Congress on Tropical Medicine and International Health

I.4-009

Identification of main biting midge species and detection of arboviruses in Korea

J.-K. Oem¹, J.-Y. Chung¹, H.-R. Kim¹, T.-K. Kim², T.-U. Lee², O.-S. Lee¹ and Y.-C. Bae¹¹National Veterinary Research and Quarantine Service, Anyang; ²Gyeongnam Institute of Livestock and Veterinary Research, Gyeongnam, Korea; ³Jeollanamdo Institute of Livestock and Veterinary Science Gwangju, Korea

INTRODUCTION Culicoides biting midges are known to transmit several diseases caused by viruses. We undertook this study to identify main biting midges and to detect the arboviruses from those.

MATERIALS AND METHODS Culicoides biting midges transmitting arboviruses in three cattle farms were collected in Tongyeong city in Gyeongnam province and Gangjin city in Jeongnam province and Goyang city in Gyeonggi province, from May to October, 2010. Adult Culicoides biting midges were collected once a week by using a light trap. The trap was set between 4:00 and 5:00 p.m. and collected the next morning in 9:00. Collected samples were sent to National Veterinary Research and Quarantine Service (NVRQS) and were sorted into species based on the identification keys of Kitaoka (1984) and were stored at -80°C until virus detection. Samples were pooled based on collection date and species. Arboviruses in Culicoides biting midges were detected by RT-PCR.

RESULTS A total of 21,297 Culicoides biting midges were collected. *Culicoides punctatus*, *Culicoides arakawae*, *Culicoides oxystoma*, *Culicoides maculatus*, *Culicoides japonicus* were 87.9%, 7.7%, 3.9%, 2.5%, 0.8%, respectively. *Culicoides punctatus* was most frequently collected all three provinces and proved to be the most abundant *Culicoides* spp. in Korea. Identified midges were used for detecting arboviruses. Akabane virus, Aino virus, Chuzan virus and bovine ephemeral fever virus were detected from only *Culicoides punctatus* and *Culicoides arakawae* by RT-PCR.

CONCLUSIONS This study is just start but will elucidate the role of Culicoides biting midges in the transmission of bovine arboviruses in the future. So far, *Culicoides punctatus* is most frequently found in the cattle farms in Korea. However, it remains to isolate the arboviruses from Culicoides biting midges and to control and prevent outbreaks of arbovirus diseases in Korea.

I.4-010

The therapeutic effects of lowsonia inermis and cedrus libani on Leishmania major promastigotes: an in vitro study

F. M. Kahrani¹, M. H. Motazedian², M. Mohabali¹, R. Miri², P. Habibi² and S. Kamarloie²¹Teheran University of Medical Sciences, Iran; ²Shiraz University of Medical Sciences

Leishmaniasis is parasitic disease caused by different species of protozoan parasites belonging to the genus Leishmania. In this study, *Leishmania major* (MRHO/IR/75/ER) promastigotes were cultured at 23–25°C in Brain Heart Infusion (BHI) medium supplemented with 10% heat-inactivated fetal bovine serum (FBS) and penicillin and streptomycin, then by using a MTT (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) assay, the biological activity of lowsonia inermis and *Cedrus libani* methanol extracts (0.07, 0.15, 0.31, 0.62, 1.25, 2.5, 5, 10 mg/ml) on *L. major* promastigotes was investigated. All experiments were repeated at least three times. *Cedrus libani* methanol extract did not show activity while lowsonia inermis methanol extract inhibited the growth of promastigote forms of *L. major* in vitro after 72 h. of incubation and had a 50% inhibitory concentration (IC₅₀) of 1.25 mg/ml. The methanol extract of *Lawsonia inermis*

(henna) seems to be a promising antileishmanial agent. Further experiments are needed for isolation of active fractions and identification of the active components of methanol extract.

I.4-011

Seroprevalence of human dirofilariasis on the island of gran canaria, Canary Islands-Spain

J. A. Montoya-Alonso¹, E. D. Cabrera-Pedrero¹, E. Carretón¹, J. C. Méndez¹, I. Mellado², R. Morchón² and F. Simón²¹Internal Medicine, University of Las Palmas de Gran Canaria, Spain; ²Laboratory of Parasitology, Faculty of Pharmacy, University of Salamanca, Spain

Dirofilaria immitis is the causal agent of canine and feline heartworm disease, a vector-borne transmitted disease from temperate, semitropical and tropical areas of the world. The existence of canine dirofilariasis implies a risk for human populations living in an endemic area in which, the parasite can cause pulmonary dirofilariasis, characterized by the appearance of solitary benign pulmonary nodules, which can be confused with lung cancer. The aim of the study was to update the current seroprevalence and distribution of human dirofilariasis on Gran Canaria. Three hundred random serum samples from humans (121 men and 179 women) taken in 2011 in a local hospital were analyzed. The sample reflects the distribution of the human population throughout different areas of Gran Canaria. Human samples were analyzed by ELISA to detect specific anti-*D. immitis* IgG antibodies using adult *D. immitis* somatic antigens (DiSA). Total seroprevalence in humans was 13.3% (40/300). There were no significant differences among men (174/121, 14.04%) and women (234/179, 12.84%). When age was considered, the highest seroprevalence was found in individuals between 20 and 60 years, followed by that observed in individuals younger than 20 years; the lowest seroprevalence was found in the oldest section of the population (>60 years). There were significant differences between the three groups ($P < 0.05$). Current human seroprevalence is similar to that found in 2010 (12%). This demonstrates that Gran Canaria, an endemic area of canine heartworm disease, is a potential risk for the resident human population. The seroprevalence observed in human populations living in each area shows a high correlation with canine prevalences, which confirms the key epidemiological role played by the canine hosts. These results should alert physicians to pulmonary dirofilariasis in the differential diagnosis of pulmonary nodules.

I.4-012

Temporal evolution and impact of climate factors on the incidence of L. major cutaneous leishmaniasis in central Tunisia

A. Toumi¹, S. Chlif¹, J. Bettaieb¹, A. Boukthir¹, Z. E. Ahmad², N. B. Alya¹ and A. B. Salah¹¹Laboratory of Medical Epidemiology, Pasteur Institute of Tunis, Tunisia; ²Regional Directorate of Public Health, Sidi Bouzid, Tunisia

INTRODUCTION Old world Zoonotic cutaneous leishmaniasis (ZCL) is endemic with epidemic peaks in the Middle East and North Africa. Like other vector born diseases, ZCL is highly sensitive to environmental and climate factors. However, no study has addressed the temporal dynamics or the impact of climate factors on the risk of ZCL among humans.

MATERIALS AND METHODS The seasonality of ZCL incidence was assessed by using a box diagram, Fisher and Kruskal-Wallis tests. The intrannual cycles of ZCL was checked by the partial autocorrelation function. We used X-12-ARIMA algorithm to adjust for seasonality and measure the inter-epidemic period in years of monthly incidence data from 1991 to 2007 in Sidi Bouzid, Tunisia. Prediction of ZCL incidence was based on the procedure

ARTÍCULO 3:

3. Estudio seroepidemiológico del riesgo zoonótico de dirofilariosis pulmonar por *Dirofilaria immitis* en la población humana de las islas Canarias. En proceso de publicación.

Estudio seroepidemiológico del riesgo zoonótico de dirofilariosis pulmonar por *Dirofilaria immitis* en la población humana de las islas Canarias

RESUMEN

La dirofilariosis pulmonar humana por *Dirofilaria immitis* es considerada una zoonosis emergente en todo el mundo. Al estar altamente subdiagnosticada, los estudios serológicos nos ofrecen datos más útiles para la correcta evaluación del riesgo real de contacto con el parásito. Canarias es una zona hiperendémica de dirofilariosis animal; así el objetivo de este estudio fue evaluar el riesgo de zoonosis en la población de las Islas Canarias mediante la determinación de anticuerpos IgG específicos frente a *D.immitis* en suero de 1479 habitantes de las 7 Islas Canarias. La seroprevalencia total fue de 6.4%, variando entre islas desde 0% (El Hierro) hasta 12.7% (Tenerife); aquellas islas con mayores prevalencias de dirofilariosis canina son las que presentaron mayores seroprevalencias humanas, mientras que las islas con bajas prevalencias o ausencia de dirofilariosis en perros, mostraron igualmente una baja incidencia o ausencia de IgG específicos entre sus habitantes. Igualmente, las seroprevalencias variaron en función de los diferentes climas presentes en las Islas Canarias, siendo mayores en áreas rurales con vegetación y humedad, y menores en zonas de clima desértico. Los resultados obtenidos ponen de relieve

la existencia del riesgo de zoonosis en las Islas Canarias, lo que debe alertar a las autoridades sanitarias y ser tenido en cuenta en el diagnóstico diferencial cuando se detecten nódulos pulmonares.



INTRODUCCIÓN

La dirofilariosis cardiopulmonar es una enfermedad transmitida por vectores, que afecta principalmente al perro y al gato. Presenta una distribución mundial y es endémica de zonas con elevadas temperaturas y humedades, que favorezcan la proliferación de los mosquitos de los géneros *Culex*, *Aedes* y *Anopheles*, transmisores de la enfermedad (Simón et al., 2012).

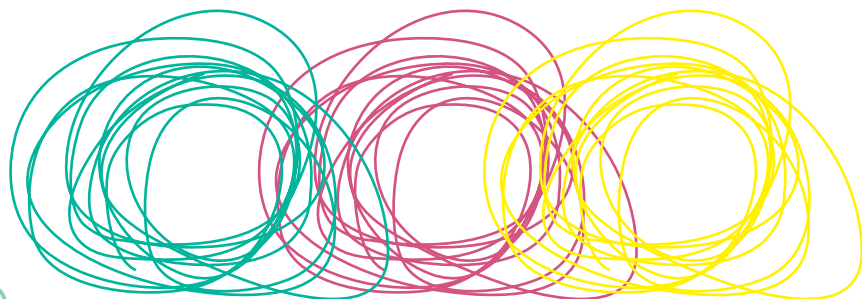
En todos aquellos lugares donde la dirofilariosis es endémica en perros, existe la posibilidad de la transmisión de la enfermedad al hombre. El ser humano puede convertirse en un hospedador accidental al ser picado por un mosquito portador de la larva infectiva de *D. immitis*. En este hospedador, el parásito no se desarrolla completamente, sino que sus larvas juveniles se enquistan en las ramas de las arterias pulmonares, formando nódulos pulmonares que generalmente suelen ser solitarios y en forma de moneda. Frecuentemente, cuando son detectados mediante técnicas de imagen, son confundidos con tumores pulmonares, con las consecuencias físicas y emocionales que ello conlleva (Simón et al., 2009).

Además, se conoce que la dirofilariosis animal se está extendiendo hacia zonas más frías, previamente consideradas libres de la enfermedad, por lo que se considera una enfermedad y una zoonosis emergente, y los casos humanos se detectan con una frecuencia creciente. Esto probablemente sea debido, entre otros, al cambio climático y a la creación de microclimas favora-

bles dentro de los núcleos urbanos, al aumento de movilidad de perros portadores desde zonas endémicas, y a la introducción y expansión de nuevas especies de mosquitos capaces de transmitir la enfermedad (Genchi et al., 2009; Morchón et al., 2012).

Por otro lado, la dirofilariosis pulmonar humana está altamente subdiagnosticada, al ser una patología generalmente asintomática, y la incidencia a nivel mundial probablemente sea mucho mayor que el número de casos descritos hasta la fecha. Así, los estudios serológicos nos ofrecen datos más útiles para la correcta evaluación del riesgo real de contacto con el parásito (Simón et al., 2005).

Canarias es considerada una zona hiperendémica de dirofilariosis animal, siendo por lo tanto una región de elevado riesgo de infección zoonósica (Montoya et al., 2006; Montoya et al., 2011b). Sin embargo, hasta la fecha únicamente se ha evaluado y confirmado el riesgo zoonósico en la isla de Gran Canaria (Montoya-Alonso et al., 2010b; 2011a; 2011b). Por ello, el objetivo de este trabajo fue completar el mapa seroepidemiológico frente a *Dirofilaria immitis* en la población humana de las islas Canarias.



MATERIAL Y MÉTODOS

1. Localización y clima de las islas Canarias

Las Islas Canarias se encuentran en el Océano Atlántico, entre los meridianos 13° y 19°, de longitud W, y los paralelos 27° y 30°, de latitud N. Constituyen un archipiélago situado a 115 km de la costa noroccidental del continente africano por su isla más oriental. Está compuesto por siete islas y seis islotes, que ocupan una extensión aproximada de 7491 km², siendo la longitud total de sus costas de 1126 Km. Las islas se encuentran divididas en dos provincias: Las Palmas, más oriental, compuesta por las islas de Lanzarote, Fuerteventura y Gran Canaria, y Santa Cruz de Tenerife, más occidental, de la que forman parte las islas de Tenerife, La Gomera, La Palma y El Hierro.

Tanto la propia insularidad como su situación geográfica, hacen de Canarias una región de características fisiográficas muy diferentes de las del resto del territorio español, pudiendo apreciarse, asimismo, notables diferencias entre unas islas y otras, lo cual se pone de manifiesto, por ejemplo, en el contraste entre el acentuado relieve propio de las islas centrales y occidentales y el aspecto, mucho más suave, que presenta el relieve de las islas más orientales.

Para la delimitación de los distintos tipos de clima presentes en el archipiélago Canario se ha utilizado la clasificación climática de Köppen-Geiger, una de las clasificaciones más habitual-

mente empleada en estudios climatológicos en todo el mundo (Peel et al., 2007; Agencia Estatal de Meteorología 2012). La clasificación de Köppen-Geiger define distintos tipos de clima a partir de los valores medios mensuales de la precipitación y de la temperatura; para la delimitación de los distintos tipos de clima establece umbrales de temperatura y precipitación basados principalmente en su influencia sobre la distribución de la vegetación y la actividad humana (Essenwanger, 2001).

1.1. Climas Secos (tipo B):

Se caracteriza porque la precipitación media anual es inferior a la evaporación. Estos climas se definen en términos de proporciones evaporación/precipitación con fórmulas empíricas algo complejas. La delimitación de los climas tipo B se realiza según el régimen anual de precipitaciones para tener en cuenta que la precipitación invernal es más efectiva para el desarrollo de la vegetación que la estival al ser menor la evaporación:

a.: Precipitación total anual = 20 (temperatura media anual +7):
precipitación repartida a lo largo del año

b.: Precipitación total anual = 20 x temperatura media anual: verano seco (el 70% o más de la precipitación anual se concentra en el semestre comprendido entre octubre y marzo)

Köppen distingue entre dos subtipos de clima, BS (estepa) y BW (desierto) según la precipitación anual alcance o no la mitad del valor umbral establecido anteriormente para delimitar los clima de tipo B. Generalmente, el clima BS presenta una precipitación anual de 380 a 760 mm en función de la temperatura, y el clima BW tiene una precipitación anual inferior a 250 mm. A su vez distingue entre las variedades cálida (letra h) y fría (letra k) según la temperatura media anual esté por encima o por debajo de 18°C respectivamente.

BWh (desértico cálido) y BWk (desértico frío): La variedad BWh es el clima predominante en las islas de Lanzarote y Fuerteventura, extendiéndose por prácticamente toda la superficie de las islas salvo las zonas más altas. También se distribuye ampliamente por el sur de las islas de Gran Canaria, Tenerife y La Gomera y, en menor medida, en zonas costeras de la isla de El Hierro. La variedad BWk se observa únicamente de forma testimonial en las laderas del suroeste de las islas de Tenerife y La Gomera, entre 500 y 700 m de altitud.

BSh (estepario cálido) y BSk (estepario frío): Se observan en todas las islas del archipiélago canario, frecuentemente reemplazando a los climas desérticos al aumentar la altitud. En Fuerteventura y Lanzarote se circunscriben a las cumbres más altas de las islas, mientras que en Gran Canaria se extienden ampliamente por una franja de altitud media-baja en el norte de la isla y a mayor altitud en la vertiente sur. Alcanzan el nivel del

mar en el norte y este de las islas de Tenerife, La Gomera y el Hierro, mientras que en La Palma son las variedades de clima predominantes en las zonas más secas situadas en las costas del suroeste.

1.2. Climas Templados (tipo C):

La temperatura media del mes más frío está comprendida entre 0 y 18°C. Köppen distingue entre los subtipos Cs, Cw y Cf según se observe un periodo marcadamente seco en verano (Cs), en invierno (Cw) o bien no haya una estación seca (Cf). El subtipo Cw no aparece en Canarias.

A su vez añade una tercera letra según sea el verano caluroso (temperatura media del mes más cálido superior a 22°C, letra a), templado (temperatura media del mes más cálido menor o igual a 22°C y cuatro o más meses con temperatura media superior a 10°C, letra b) o fresco (temperatura media del mes más cálido menor o igual a 22°C y menos de cuatro meses con temperatura media superior a 10°C, letra c).

Csa (templado con verano seco y cálido): Esta variedad se observa principalmente en zonas costeras del norte y este de la isla de La Palma y a mayor altitud en las islas de Gran Canaria, Tenerife y La Gomera.

Csb (templado con verano seco y templado): Se extiende ampliamente por el interior de las islas de La Palma, El Hierro, La Gomera y Tenerife, así como en las zonas más elevadas de Gran Canaria.

Csc (templado con verano seco y fresco): En las islas Canarias se observa únicamente en una estrecha franja alrededor del Pico del Teide en la isla de Tenerife, entre 2 600 y 2 900 m de altitud aproximadamente.

1.3. Climas Fríos (tipo D):

La temperatura media del mes más frío es inferior a 0°C y la temperatura media del mes más cálido es superior a 10°C. Los umbrales para los subtipos y variedades del clima D son análogos a los del clima C, con el añadido de una cuarta variante para la tercera letra correspondiente a climas con inviernos muy fríos (temperatura del mes más frío inferior a -38°C, letra d) que no se observa en Canarias. En Canarias únicamente se presenta el subclima Dfc (frío sin estación seca y verano fresco), que se localiza en las zonas más altas de la isla de Tenerife, desde unos 2 900 m de altitud hasta la cima del Teide.

Datos demográficos adicionales se encuentran recogidos en la tabla 1.

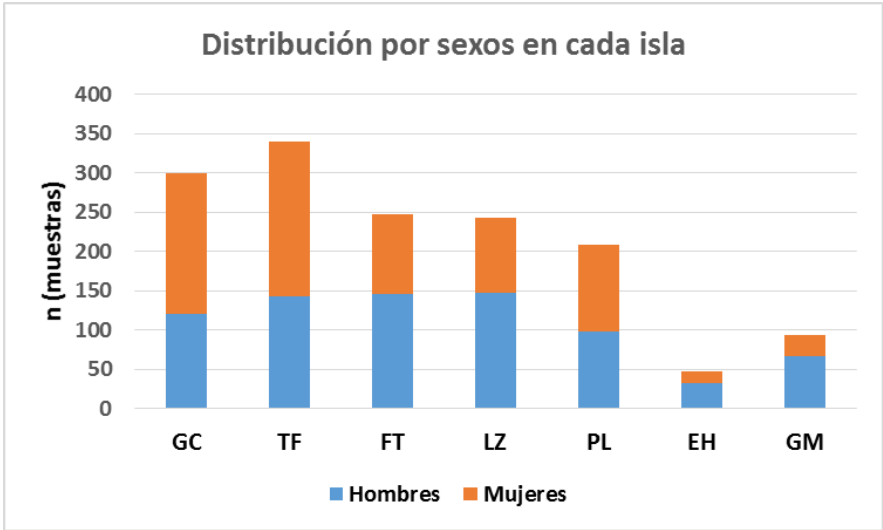
Isla	Area (Km2) *	Habitantes * *	Densidad** (habitantes/km2)
Tenerife	2034 (27.3%)	889936 (42.3%)	437
Fuerteventura	1660 (22.3%)	106930 (5.1%)	64
Gran Canaria	1560 (20.9%)	851157 (40.4%)	546
Lanzarote	846 (11.4%)	141940 (6.7%)	168
La Palma	708 (9.5%)	83456 (4%)	118
La Gomera	370 (5%)	20721 (1%)	56
El Hierro	269 (3.6%)	10675 (0.5%)	40
Total	7447	2104815	283

Tabla 1: Datos demográficos de las islas Canarias. (%): porcentaje respecto al total de las islas. Fuente: Instituto Canario de Estadística (ISTAC) www.gobiernodecanarias.org/istac, datos obtenidos de (*) Instituto Geográfico Nacional (**) Instituto Nacional de Estadística (INE).

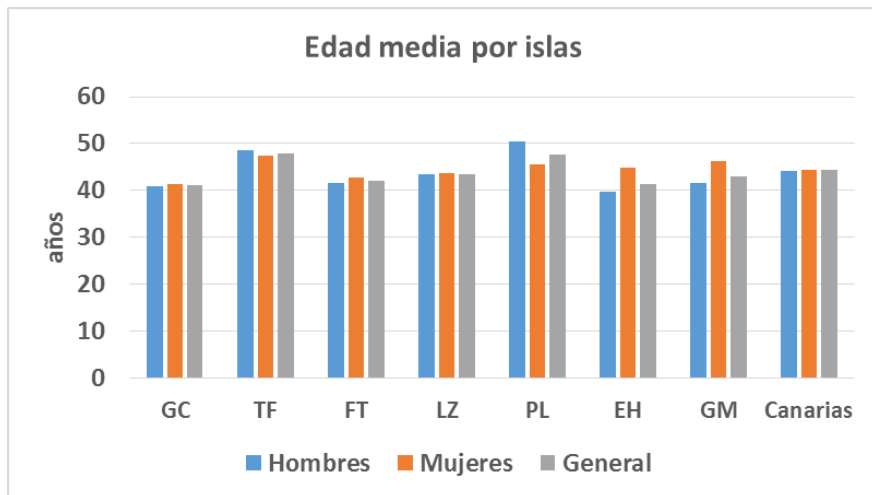
2. Recogida y análisis de las muestras

Para el presente estudio se reunieron 1479 sueros de humanos residentes en las Islas Canarias recogidos entre Marzo de 2014 y Octubre de 2015. De ellos, 752 (50,84%) eran hombres y 727 (49,15%) eran mujeres. Los pacientes presentaron una media de edad de 44,29 años (hombres: 44,16 años; mujeres:

44,40 años). La distribución de muestras de cada sexo por islas y las edades medias de cada isla se pueden observar en las gráficas 1 y 2, respectivamente.

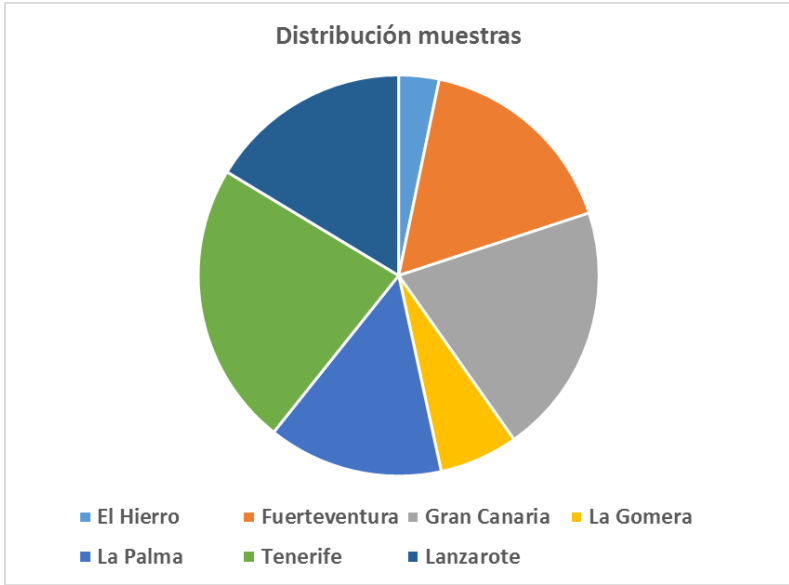


Gráfica 1. Número total de muestras de hombres y mujeres recogidos en cada una de las islas Canarias. Leyenda: GC (Gran Canaria), TF (Tenerife), FT (Fuerteventura), LZ (Lanzarote), PL (La Palma), EH (El Hierro), GM (La Gomera).



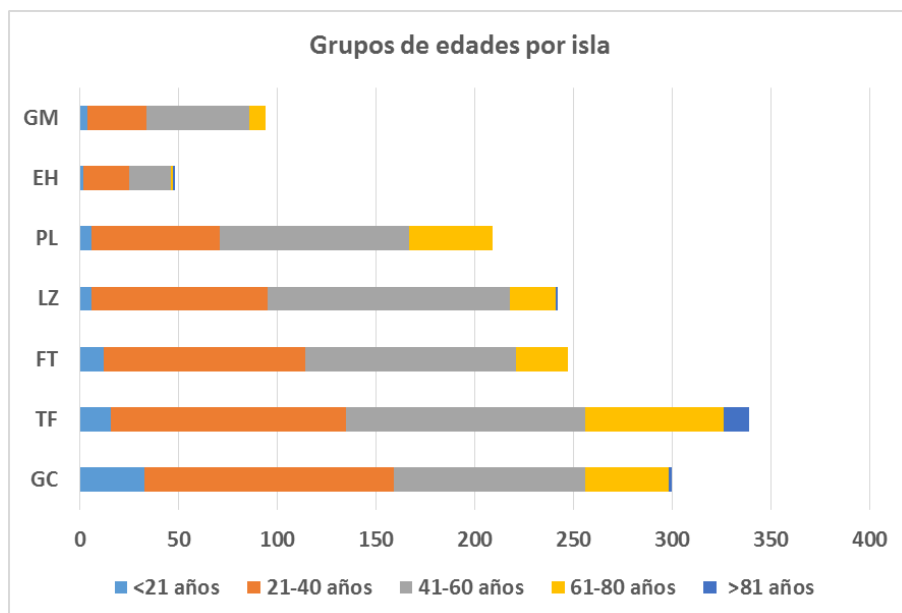
Grafica 2. Media de edad (años) de las muestras recogidas en cada una de las islas Canarias y la media total de Canarias. Leyenda: GC (Gran Canaria), TF (Tenerife), FT (Fuerteventura), LZ (Lanzarote), PL (La Palma), EH (El Hierro), GM (La Gome-
ra).

El estudio comprende sujetos desde los 2 años hasta los 91 años de edad. Los sueros procedían de laboratorios locales de las 7 Islas Canarias; la procedencia de los sueros se refleja en el gráfico 3.

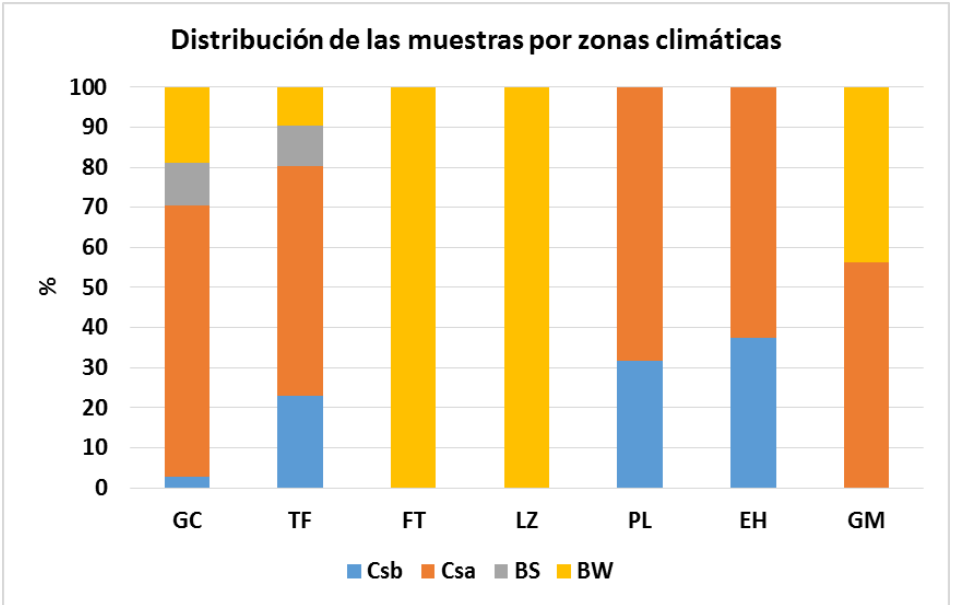


Gráfica 3: Distribución comparativa de las muestras recogidas para este estudio según la isla de origen.

Por edades, 79 muestras pertenecían a individuos menores de 21 años, 554 a personas entre 21 y 40 años, 617 a personas entre 41 y 60 años, 212 muestras pertenecían a individuos entre 61 y 80 años y 17 pertenecían a personas mayores de 81 años de edad. La distribución de los grupos de edad es similar a la estructura poblacional de las Islas Canarias según datos de 2013, y se muestra en la gráfica 4 (Instituto Canario de Estadística, 2013).



Gráfica 4: Número de muestras de cada isla distribuidos por grupos de edades. Eje X: número de muestras. Leyenda: GM (La Gomera), EH (El Hierro), PL (La Palma), LZ (Lanzarote), FT (Fuerteventura), TF (Tenerife), GC (Gran Canaria).



Gráfica 5. Distribución porcentual de las muestras recogidas por cada zona climática en cada una de las Islas Canarias. Leyenda: GC (Gran Canaria), TF (Tenerife), FT (Fuerteventura), LZ (Lanzarote), PL (La Palma), EH (El Hierro), GM (La Gomera).

La confidencialidad de los datos de los pacientes fue mantenida durante todo el proceso y el estudio se llevó a cabo siguiendo las normas deontológicas y la legislación vigente de protección de datos. Este estudio ha sido aprobado por el comité de ética del Servicio de Medicina Veterinaria de la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria.

Las muestras fueron analizadas empleando métodos de ELISA para la detección de anticuerpos IgG específicos anti-*D.immitis*, mediante el uso de antígenos somáticos de *D.immitis* en técnicas descritas y validadas anteriormente en humanos (Simón et al., 1991). Descrito brevemente, la técnica consiste en tapizar cada microplaca con 0.8 μ g de un extracto de parásitos adultos de *D.immitis*. Todos los sueros fueron analizados a una dilución 1:100, y el anticuerpo secundario se empleó a una dilución 1:4000 (inmunoglobulina G anti-humana conjugada con peroxidasa; Merck, Alemania). Las densidades ópticas fueron medidas a 492 nm en el lector Easy Reader (Laboratorios Bio-Rad, Hercules, CA, EEUU). Los valores de corte (densidad óptica= 0.8) se establecieron mediante el cálculo del valor medio \pm 3 desviaciones standard de 20 muestras de personas clínicamente sanas habitantes de una zona libre de *D.immitis*.

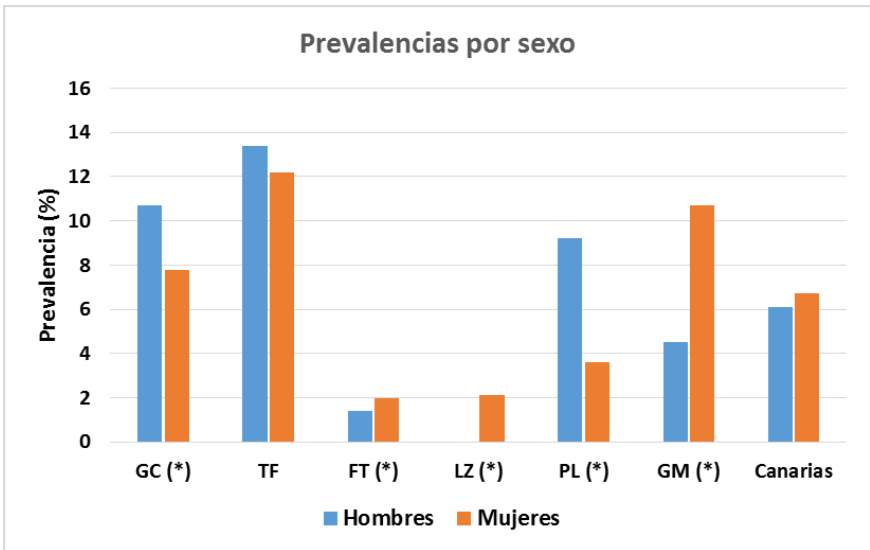
3. Análisis estadístico

Para el análisis de los datos se utilizó el programa IBM SPSS versión 22.0 para Windows. El análisis descriptivo de las variables se llevó a cabo considerando las proporciones de las variables cualitativas.

Para comprobar si existían diferencias significativas entre las variables cualitativas, se compararon las proporciones mediante la construcción de las tablas de contingencia, realizando la prueba de independencia χ^2 y la prueba de Pearson. El nivel de significancia se estableció cuando $p < 0.05$.

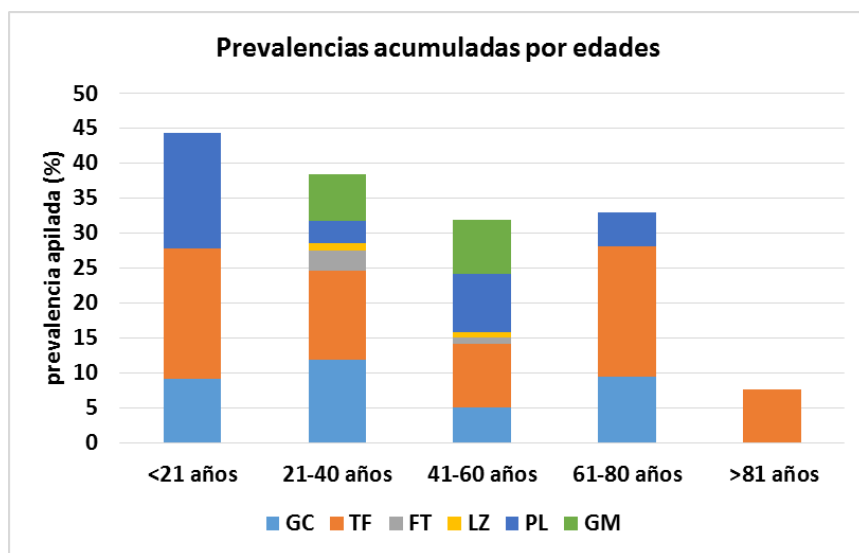
RESULTADOS

La seroprevalencia de dirofilariosis humana en las Islas Canarias fue de 6.4%, con una mayor prevalencia en mujeres (6.7%) que en hombres (6.1%) ($p>0.05$). Los resultados por sexo en cada una de las islas se reflejan en la gráfica 6.



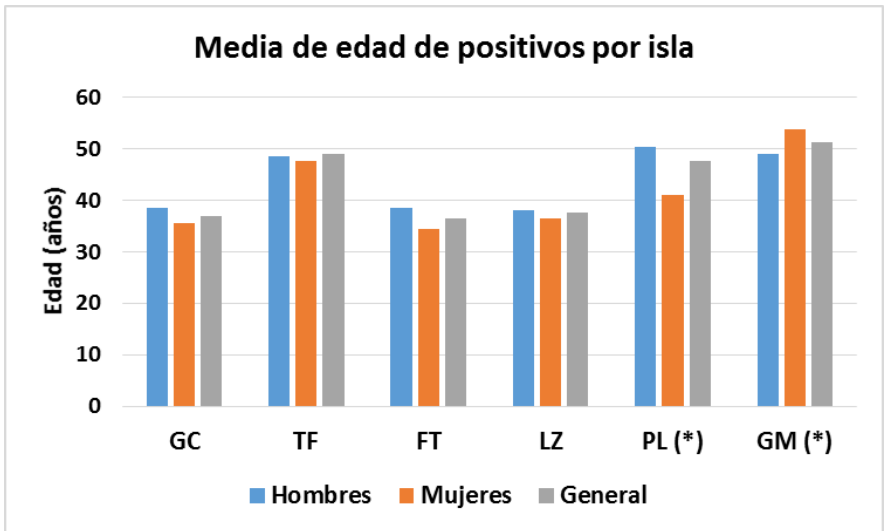
Gráfica 6. Prevalencias obtenidas en hombres y en mujeres en cada una de las islas Canarias y en el total del archipiélago canario. (*): se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambos sexos. Leyenda: GC (Gran Canaria), TF (Tenerife), FT (Fuerteventura), LZ (Lanzarote), PL (La Palma), GM (La Gomera).

Por grupos de edades, las seroprevalencias fueron 8.9% en menores de 21 años, 6.9% en personas entre 21 y 40 años, 4.5% en el rango de edad entre 41 y 60 años, 9.9% en los sujetos entre 61 y 80 años, y 5.5% en personas mayores de 81 años. Existen diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes grupos de edad ($p < 0.05$). La gráfica 7 ilustra resultados obtenidos en los diferentes grupos de edad por islas.



Gráfica 7. Prevalencias acumuladas (%) por rangos de edades en cada isla. Leyenda: GC (Gran Canaria), TF (Tenerife), FT (Fuerteventura), LZ (Lanzarote), PL (La Palma), GM (La Gomera).

La edad media de las personas infectadas fue de 44.9 años (45.5 años en hombres y 44.1 años en mujeres), con un rango de edad de personas infectadas desde los 5 hasta los 87 años de edad. Los resultados de edades por islas se muestran en la gráfica 8.



Gráfica 8. Media de edad (años) de los habitantes positivos en cada una de las islas Canarias. . (*): se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre la media de edad de ambos sexos. Leyenda: GC (Gran Canaria), TF (Tenerife), FT (Fuerteventura), LZ (Lanzarote), PL (La Palma), GM (La Gomera).

Los resultados de seroprevalencia por islas pueden observarse en la figura 1

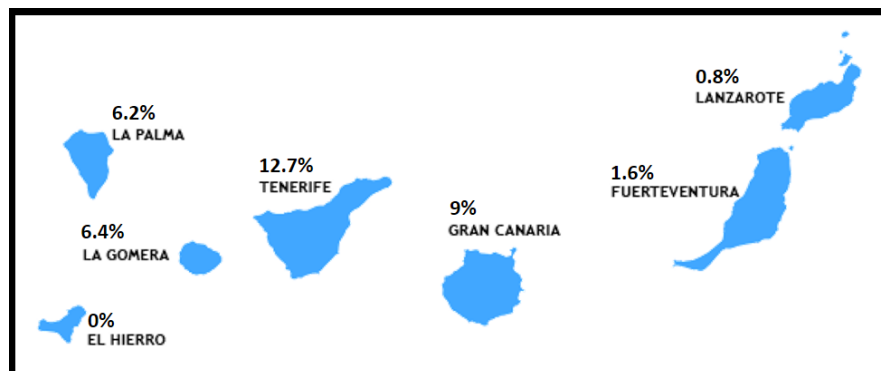


Figura 1: Resultados de seroprevalencia frente a *Dirofilaria immitis* por isla de los habitantes de las islas Canarias.

Cuando se evaluaron los resultados por zonas climáticas, las prevalencias más elevadas se encontraron en los climas BS (13.6%) y CSb (8.8%), mientras que las seroprevalencias más bajas se hallaron en los climas CSa (8.5%) y BW (2.9%). Los resultados obtenidos por zonas climáticas en cada una de las islas se encuentran descritos en la tabla 2 y los diferentes climas presentes en cada isla se encuentran representados en la figura 2.

	Tenerife	Gran Canaria	La Gomera	La Palma	El Hierro	Fuerteventura	Lanzarote
BW	15.1% (5/33)	7% (4/54)	7.3% (3/41)	--	*	1.6% (4/247)	0.8% (2/242)
BS	14.7% (5/34)	12.5% (4/32)	*	*	*	--	--
CSa	11.8% (23/194)	8.9% (18/203)	5.7% (3/53)	6.3% (9/143)	0% (0/30)	--	--
CSb	13.4% (10/78)	12.2% (1/8)	*	6.1% (4/66)	0% (0/18)	--	--

Tabla 2: Seroprevalencia humana (%) por climas en las islas Canarias en función de las zonas climáticas según la clasificación de Köppen-Geiger; (personas positivas/total de **personas** estudiadas) (--): Clima no presente o su presencia en la isla no es significativa. (*): la zona climática está presente en la isla pero no hay muestras procedentes de ese clima. (BW: clima desértico, BS: clima estepario, Csa: clima templado cálido, Csb: clima templado suave).

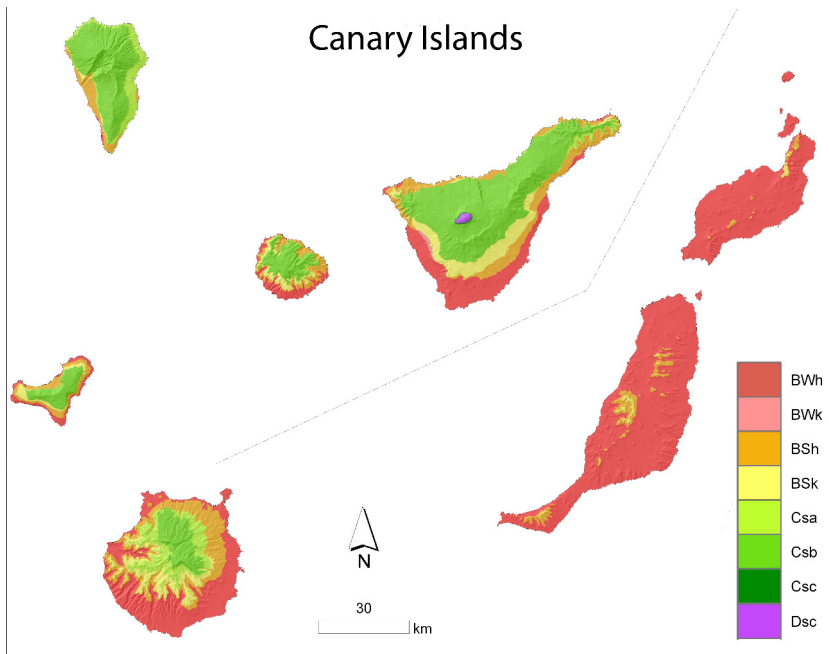


Figura 2. Clasificación climática de Köppen-Geiger de las islas Canarias. Leyenda: BWh (clima desierto cálido), BWk (clima desierto frío), BSh (clima estepario cálido), BSk (clima estepa-

rio frío), Csa (clima templado cálido), Csb (clima templado suave), CSc (clima templado fresco), DSc (frío sin estación seca y verano fresco). Mapa extraído del Atlas climático de los archipiélagos de Canarias, Madeira y Azores (Agencia Estatal de Meteorología, 2012).

DISCUSIÓN

La dirofilariosis cardiopulmonar canina es una enfermedad cosmopolita y de distribución mundial, que se localiza en zonas con elevada temperatura y humedad durante, al menos, una parte del año. Estas condiciones ambientales favorecen el desarrollo y mantenimiento de abundantes poblaciones de mosquitos vectores. España cuenta con unas condiciones óptimas para el desarrollo de *D. immitis*, y la mayor o menor prevalencia que presente cada zona depende principalmente de factores como las condiciones medioambientales y los hábitos de la población canina (Simón et al., 2012). Actualmente las prevalencias caninas más elevadas se encuentran en el sur de la península ibérica, y en zonas de regadío y cercanías de grandes ríos (como la ribera del Tormes en Salamanca o el delta del Ebro) (Carretón et al., 2012). Apenas hay datos acerca de las prevalencias en el norte de la península ibérica, pero ya existen numerosos casos de dirofilariosis en La Rioja y Coruña (Morchón et al., 2010; Morchón et al., 2012; Miró et al., 2013). Las prevalencias más elevadas se han observado en las Islas Canarias, donde en

la isla de Gran Canaria llegó a alcanzar un 67% de la población canina en el año 1994, estando actualmente por debajo del 20%, gracias a la implantación de tratamientos preventivos (Montoya et al., 1998; Montoya-Alonso et al., 2010a; 2011b).

A pesar de las singulares características climáticas y de las elevadas prevalencias entre la población canina, que favorecen la transmisión zoonótica de la enfermedad, en España hasta la fecha únicamente se había evaluado la presencia de anticuerpos en la población humana de Salamanca en 1991 (Simón et al., 1991), La Rioja en 2010 (Morchón et al., 2010) y de Gran Canaria (Montoya-Alonso et al., 2010b; 2011a; 2011b), lo que pone en evidencia la falta de estudios relacionados con esta enfermedad zoonótica. Así, el presente estudio es el primero que completa el mapa seroepidemiológico de la dirofilariosis humana en las Islas Canarias y uno de los escasos trabajos realizados en España.

Los resultados obtenidos muestran una gran heterogeneidad en la seroprevalencia en función de cada isla. Además, dentro de cada una de ellas, la misma también varía según el área en el que se distribuya la población estudiada. Esto probablemente sea debido a las características climáticas propias de cada isla y de los climas presentes, así como a factores demográficos (Montoya-Alonso et al., 2011b; Agencia Estatal de Meteorología, 2012).

La seroprevalencia total humana en las Islas Canarias ha sido del 6.4%. Al ser el primer estudio epidemiológico completo de la comunidad autónoma, no existen datos previos con los que compararlos. El último estudio realizado sobre mascotas, ha mostrado una prevalencia de dirofilariosis en el perro de 15.7% (Montoya-Alonso et al., 2015 – enviado). Estudios previos llevados a cabo mostraron relación similar entre la seroprevalencia humana y prevalencias caninas de una misma zona (Simón et al., 1991; Morchón et al., 2010; Montoya-Alonso et al., 2010b; 2011b), lo que unido a los resultados del presente estudio corrobora el riesgo zoonótico que constituye esta enfermedad animal para el ser humano.

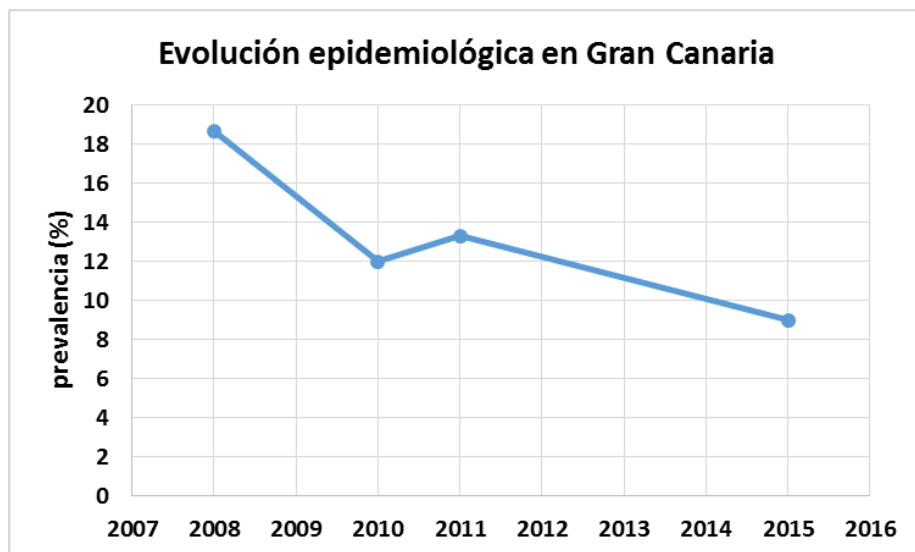
Llama la atención la gran heterogeneidad de prevalencias encontrada en los resultados según la isla estudiada. De manera similar, el último estudio sobre prevalencia canina de *D. immitis* realizado en las mismas fechas que el presente trabajo, muestra que la distribución de la dirofilariosis animal en las Islas Canarias igualmente varía, según la isla, desde el 0% al 22.5% (Montoya-Alonso et al., 2015 – en revisión); por lo tanto, es lógico que el riesgo de infección humana y la seroprevalencia sea menor en aquellas islas en las que la prevalencia de la dirofilariosis canina es muy baja o inexistente. Así, las islas deberían dejar de ser consideradas como un área hiperendémica como conjunto, y empezar a evaluar el riesgo zoonótico en las diferentes islas de manera individual.

Así, las islas con prevalencia canina de 0% (El Hierro y Lanzarote) o baja prevalencia (1.8% en Fuerteventura) (Montoya-Alonso et al., 2015 – en revisión), en el presente estudio han resultado presentar seroprevalencias humanas igualmente bajas o inexistentes: 0% en El Hierro, 0.8% en Lanzarote y 1.6% en Fuerteventura. El hecho de encontrar casos seropositivos en habitantes de islas libres de dirofilariosis animal (Lanzarote) puede ser fácilmente atribuible al frecuente desplazamiento de los habitantes entre las diferentes Islas Canarias.

Las islas de La Gomera y La Palma han presentado seroprevalencias de 6.4% y 6.2% entre sus habitantes. La diferencia de la seroprevalencia entre ambas islas no es significativa, del mismo modo que tampoco lo es la prevalencia de la población canina (16.3% en La Gomera y 15.7% en La Palma) (Montoya-Alonso et al., 2015 – en revisión). Esto probablemente sea debido a las similares condiciones climáticas y demográficas que presentan ambas islas.

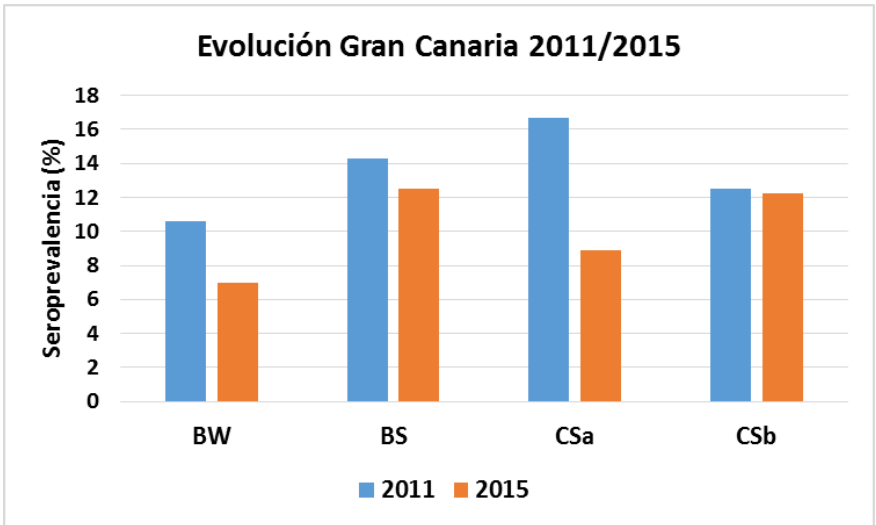
Existen estudios previos que habían valorado la seroprevalencia humana en la isla de Gran Canaria, en los que se demostró una gran correlación con la prevalencia de dirofilariosis canina en las diferentes áreas isoclimáticas de la isla, quedando demostrado el riesgo zoonótico de la población de la isla (Montoya-Alonso et al., 2010b; 2011b). Estudios anteriores mostraron seroprevalencias de 18.66% en 2008 (Montoya-Alonso et al., 2010b) y 13.3% en 2011 (Montoya-Alonso et al., 2011a), apa-

reciando una tendencia descendente entre la población de la isla. El resultado obtenido en el presente estudio corrobora esta tendencia, como se observa en la gráfica 9. Esto puede ser debido a la similar propensión al descenso en la prevalencia entre la población canina de la isla, acentuada por las campañas de concienciación y prevención por parte de veterinarios y propietarios, si bien el último estudio realizado muestra una ruptura en esta tendencia, apareciendo una pequeña elevación de la prevalencia entre los perros de la isla de Gran Canaria (Montoya-Alonso et al., 2015 - en revisión); para valorar la influencia que esto haya podido tener sobre la población humana, se deberían llevar futuros estudios seroepidemiológicos entre la población para evaluar el nivel de exposición zoonótica.



Gráfica 9. Evolución de la seroepidemiología de *D. immitis* entre la población humana de la isla de Gran Canaria, entre los años 2008 y 2015.

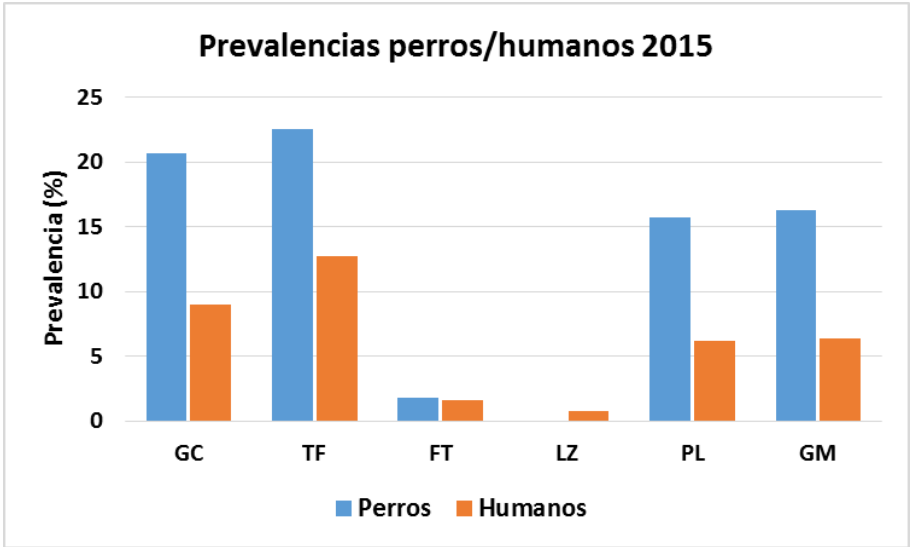
Cuando se compara la evolución de la seroepidemiología humana en los distintos climas presentes en la isla de Gran Canaria, se observa un descenso general de la misma en todas las regiones, siendo especialmente acusada en el clima CSa (ver gráfica 10).



Gráfica 10. Evolución seroepidemiológica de la isla de Gran Canaria entre los años 2011 y 2015, en las diferentes áreas climáticas presentes en la isla. Leyenda: BW (clima desértico), BS (clima estepario), CSa (clima templado cálido), CSb (clima templado suave).

En cuanto a la isla de Tenerife, el presente trabajo ofrece una seroprevalencia de 12.7%, siendo la incidencia más elevada de las Islas Canarias. Igualmente, se trata de la isla con la mayor prevalencia de dirofilariosis canina en la actualidad (Montoya-Alonso et al., 2015 – en revisión), por lo que se distingue como la isla de mayor riesgo de infección zoonótica. Existe un trabajo previo en el que se evaluaban titulaciones de anticuerpos específicos en habitantes de la isla (Pou-Barreto et al., 2008); sin embargo, los resultados no pueden ser comparados con los actuales ya que no se trataba de un estudio epidemiológico y las muestras no fueron recogidas al azar. En cualquier caso, la existencia de habitantes seropositivos en la isla de Tenerife ya queda previamente patente.

Así, los resultados obtenidos demuestran una clara relación entre la prevalencia de la dirofilariosis canina, y la presencia de anticuerpos específicos frente a *D. immitis* entre la población de las Islas Canarias, como se ilustra en la gráfica 10. Esto permite concluir que la dirofilariosis canina constituye un riesgo de infección para el ser humano en aquellas islas donde es endémica, mientras que el riesgo desaparece en aquellas islas con baja prevalencia o ausencia de la enfermedad canina.

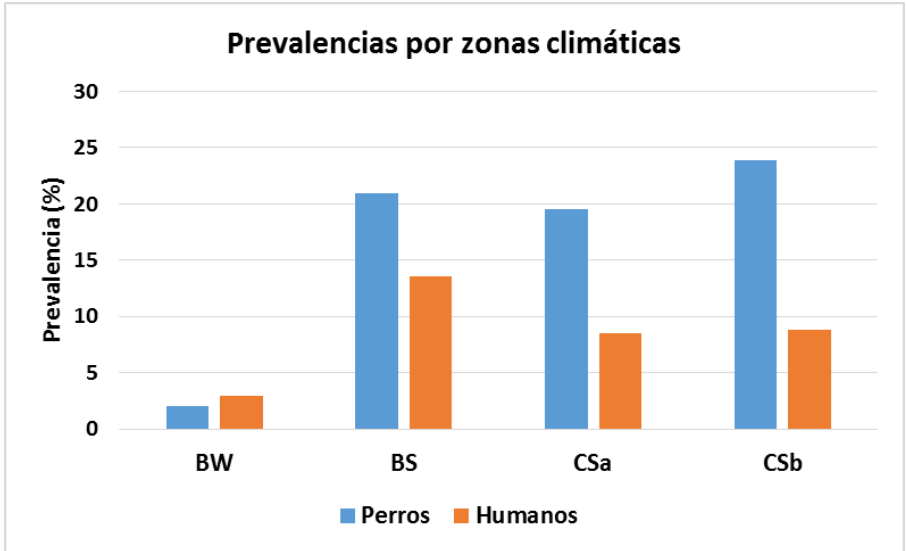


Gráfica 11. Comparativa entre la prevalencia de dirofilariosis cardiopulmonar canina y seroprevalencia de dirofilariosis pulmonar humana en las Islas Canarias en el año 2015. Leyenda: GC (Gran Canaria), TF (Tenerife), FT (Fuerteventura), LZ (Lanzarote), PL (La Palma), GM (La Gomera).

Cuando se comparan los resultados por diferentes grupos de personas, se observa que no existen diferencias significativas entre hombres y mujeres. Sin embargo, evaluando las islas individualmente, todas las islas excepto Tenerife muestran diferencias estadísticamente significativas, siendo en algunas islas superior la incidencia en hombres y en otras en mujeres (ver gráfica 6).

Por grupos de edades, las mayores seroprevalencias se encuentran en los rangos de edad de 61-80 años (9.9%). El resultado obtenido es similar al de Montoya-Alonso et al. (2011b), que obtuvo en Gran Canaria las mayores prevalencias en los sujetos >60 años.

Al evaluar los individuos por zonas isoclimáticas, se observa que las mayores prevalencias se presentan en los climas BS y CSb (13.6% y 8.8%, respectivamente). Comparando con la situación canina actual, ambas zonas también presentaron las prevalencias más elevadas (21% y 23.8%, respectivamente), mostrando cierta similitud (Montoya-Alonso et al., 2015 – en revisión). La prevalencia más baja tanto en personas como en perros se presenta en el clima BW (2.9% en humanos frente a 2% en perros) (gráfica 11). Quizá la mayor homogeneidad en la seroprevalencia entre la población humana al compararla con la población canina pueda deberse a las características antropomórficas propias del ser humano, ya que éste se desplaza con frecuencia y regularidad entre diferentes zonas climáticas dentro de una misma isla, no siendo esto frecuente entre los perros.



Gráfica 12. Comparativa de las prevalencias caninas y seroprevalencias humanas de *D. immitis* presentes en los diferentes climas de las Islas Canarias. Leyenda: BW (clima desértico), BS (clima estepario), CSa (clima templado cálido), CSb (clima templado suave).

En conclusión, los datos expuestos demuestran la existencia del riesgo de zoonosis en las Islas Canarias, no siendo uniforme en todas las islas y siendo dependiente de la prevalencia canina presente en la misma. La existencia de elevadas seroprevalencias en las islas endémicas de dirofilariosis debe alertar a las autoridades sanitarias frente a esta zoonosis, y

tenerla en cuenta en el diagnóstico diferencial cuando se detecten nódulos pulmonares. Asimismo, de deben llevar a cabo campañas de concienciación ciudadana para aumentar la tasa de prevención frente a la dirofilariosis en las mascotas, para tratar de disminuir la prevalencia de la enfermedad y, de esta manera, disminuir el riesgo de infección zoonótica en la población de las Islas Canarias que son endémicas.

REFERENCIAS

Agencia Estatal de Meteorología (Eds.), 2012. Departamento de Producción de la Agencia Estatal de Meteorología de España y Departamento de Meteorología e Clima, Instituto de Meteorología de Portugal. Atlas climático de los archipiélagos de Canarias, Madeira y Azores. Agencia Estatal de Meteorología, Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente, España, 80 pp. Disponible en: http://www.aemet.es/documentos/es/conocermas/publicaciones/2Atlas_climatologico/Atlas_Clima_Macaronesia_Baja.pdf

Carretón, E., Morchón, R., Montoya-Alonso, J.A., 2012. Dirofilariosis cardiopulmonar canina. En: Montoya-Alonso, J.A., Carretón, E. (Eds.), Dirofilariosis: Pautas de manejo clínico. Multiméica Ediciones Veterinarias, Barcelona, Spain, pp. 1–130.

Genchi, C., Rinaldi, L., Mortarino, M., Genchi, M., Cringoli, G., 2009. Climate and *Dirofilaria* infection in Europe. *Vet. Parasitol.* 163, 286-292.

Essenwanger, O.M., 2001. *General Climatology 1C: Classification of Climates.* Elsevier Science, London, 113 pp.

Instituto Canario de Estadística, 2013. *Canarias en Cifras 2013.* Disponible en: http://www3.gobiernodecanarias.org/medusa/ecoblog/pgarsane/files/2015/09/CANARIASENCIFRAS_2013.pdf

Montoya, J.A., Morales, M., Ferrer, O., Molina, J.M., Corbera, J.A., 1998. The prevalence of *Dirofilaria immitis* in Gran Canaria, Canary Islands, Spain (1994-1996). *Vet. Parasitol.* 75, 221-226.

Montoya, J.A., Morales, M., Juste, M.C., Bañares, A., Simon, F., Genchi, C., 2006. Seroprevalence of canine heartworm disease (*Dirofilaria immitis*) on Tenerife Island: an epidemiological update. *Parasitol. Res.* 100, 103-105.

Montoya-Alonso, J.A., Cabrera-Pedrero, E.D., Carreton, E., Mendez, J.C., Mellado, I., Morchon, R., Simon, F., 2011a. Seroprevalence of human dirofilariasis on the island of Gran Canaria, Canary Islands-Spain. *Trop. Med. Int. Health* 16, 229.

Miró, G., Montoya, A., Roura, X., Gálvez, R., Sainz, A. Seropositivity rates for agents of canine vector-borne diseases in Spain: a multicentre study. *Parasit. Vectors* 22, 117.

Montoya-Alonso, J.A., Carretón, E., Corbera, J.A., Juste, M.C., Mellado, I., Morchón, R., Simón, F., 2011b. Current prevalence of *Dirofilaria immitis* in dogs, cats and humans from the island of Gran Canaria, Spain. *Vet. Parasitol.* 176, 291-294.

Montoya-Alonso, J.A., Carretón, E., Juste, M.C., Mellado, I., Morchón, R., Simón, F., 2010a. Epidemiological survey of canine heartworm disease on the island of Gran Canaria (Canary Islands - Spain) between 2000 and 2008. *Vet. Parasitol.* 173, 165-168.

Montoya-Alonso, J.A., Carretón, E., Morchón, R., Silveira-Viera, L., Falcón, Y., Simón, F., 2015. Current epidemiological status

of *Dirofilaria immitis* in the pet population of the Canary Islands. Vet. Paras. (en revisión)

Montoya-Alonso, J.A., Mellado, I., Carretón, E., Cabrera-Pedre- ro, E.D., Morchón, R., Simón, F., 2010b. Canine dirofilariosis caused by *Dirofilaria immitis* is a risk factor for the human popu- lation on the island of Gran Canaria, Canary Islands, Spain. Pa- rasitol. Res. 107, 1265-1269.

Morchón R, Carretón E, González-Miguel J, Mellado-Hernán- dez I., 2012. Heartworm Disease (*Dirofilaria immitis*) and Their Vectors in Europe - New Distribution Trends. Front. Physiol. 12, 196.

Morchón, R., Moya, I., González-Miguel, J., Montoya, M.N., Si- món, F., 2010. Zoonotic *Dirofilaria immitis* infections in a pro- vince of Northern Spain. Epidemiol. Infect. 138, 380-383.

Peel, M.C., Finlayson, B.L., McMahon, T.A., 2007. Updated world map of the Koppen-Geiger climate classification. Hydrol. Earth Syst. Sci. 11, 1633-1644.

Pou-Barreto, C., Quispe-Ricalde, M.A., Morchón, R., Vázquez, C., Genchi, M., Postigo, I., Valladares, B., Simón, F., 2008. Galectin and aldolase-like molecules are responsible for the specific IgE response in humans exposed to *Dirofilaria immitis*. *Parasite Immunol.* 30, 596-602.

Simón, F., López-Belmonte, J., Marcos-Atxutegi, C., Morchón, R., Martín-Pacho, J.R., 2005. What is happening outside North America regarding human dirofilariasis? *Vet. Parasitol.* 133, 181-189.

Simón, F., Morchón, R., González-Miguel, J., Marcos-Atxutegi, C., Siles-Lucas, M., 2009. What is new about animal and human dirofilariosis? *Trends Parasitol.* 25, 404-499.

Simón, F., Muro, A., Cordero, M., Martín, J., 1991. A seroepidemiologic survey of human dirofilariosis in Western Spain. *Trop. Med. Parasitol.* 42, 106-108.

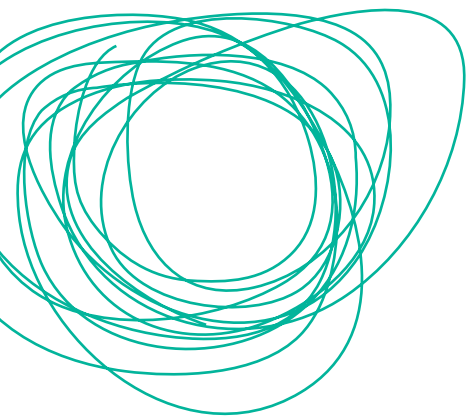
Simón, F., Siles-Lucas, M., Morchón, R., González-Miguel, J., Mellado, I., Carretón, E., Montoya-Alonso, J.A., 2012. Human and animal dirofilariosis: the emergence of a zoonotic mosaic. *Clin. Microbiol. Rev.* 25, 507-544.



Conclusiones



1. Existe una elevada seroprevalencia de *Dirofilaria immitis* en los habitantes de Gran Canaria, así como una fuerte correlación con la infestación canina en las diferentes áreas climáticas de la isla. La elevada seroprevalencia hallada debe poner en alerta a las autoridades sanitarias e incluir la dirofilariosis pulmonar dentro del diagnóstico diferencial cuando se detecten nódulos pulmonares solitarios en el hombre
2. La evolución del riesgo zoonótico por *D. immitis* en la isla de Gran Canaria mostró un significativo descenso del 2008 al 2011, que podría ser debido a la disminución de la incidencia de la enfermedad en la población canina de la isla
3. El estudio de seroprevalencia a *D. immitis* en los habitantes de las Islas Canarias muestra la existencia del riesgo de zoonosis, no siendo uniforme en todas las islas y siendo dependiente de la prevalencia canina presente en cada una de ellas.





Resumen/Summary

La dirofilariosis pulmonar humana por *Dirofilaria immitis* es considerada una zoonosis emergente en todo el mundo. Al estar altamente subdiagnosticada, los estudios serológicos nos ofrecen datos más útiles para la correcta evaluación del riesgo real de contacto con el parásito. Canarias es una zona hiperendémica de dirofilariosis animal; así, el objetivo de la tesis fue evaluar el riesgo de zoonosis en la población de las Islas Canarias mediante la determinación de anticuerpos IgG específicos frente a *D.immitis* así como evaluar la evolución seroepidemiológica en una población hiperendémica de dirofilariosis, tomando como ejemplo la isla de Gran Canaria. Para ello, se tomaron 493 muestras de suero de habitantes de Gran Canaria durante el año 2008 y 300 muestras en 2011. Además, en 2008 fueron analizados simultáneamente 697 perros habitantes de la isla de Gran Canaria. Finalmente, entre los años 2014-2015, fueron tomadas 1479 muestras de suero de habitantes de las siete Islas Canarias. Todas las muestras humanas fueron analizadas empleando métodos de ELISA para la detección de anticuerpos IgG específicos anti-*D.immitis*, mediante el uso de antígenos somáticos de *D.immitis* en técnicas descritas y validadas anteriormente en humanos. Los sueros de perro fueron analizados mediante un test comercial para la detección de antígenos circulantes de gusanos adultos de *Dirofilaria immitis*. En 2008, Gran Canaria obtuvo una seroprevalencia humana de 18.66% y una prevalencia canina de 19.36%. En 2011, la seroprevalencia entre la población humana varió hacia el 13.3%. Al analizar las

diferentes zonas climáticas de la isla, se observó una fuerte correlación entre ambas prevalencias canina y humana. En 2015, el estudio seroepidemiológico mostró una seroprevalencia de 6.4% en las Islas Canarias, variando entre islas desde 0% (El Hierro) hasta 12.7% (Tenerife); aquellas islas con mayores prevalencias de dirofilariosis canina son las que presentaron mayores seroprevalencias humanas, mientras que las islas con bajas prevalencias o ausencia de dirofilariosis en perros, mostraron igualmente una baja incidencia o ausencia de IgG específicos entre sus habitantes. Los resultados obtenidos ponen de relieve la existencia del riesgo de zoonosis en las Islas Canarias, lo que debe alertar a las autoridades sanitarias y ser tenido en cuenta en el diagnóstico diferencial cuando se detecten nódulos pulmonares. Asimismo, de deben llevar a cabo campañas de prevención de dirofilariosis animal para tratar de disminuir la prevalencia de la enfermedad en las islas endémicas.

Palabras clave: dirofilariosis pulmonar, *Dirofilaria immitis*, zoonosis, parasitosis, seroepidemiología

Pulmonary dirofilariosis caused by *Dirofilaria immitis* is currently considered as an emerging zoonosis worldwide. Since it is widely being subdiagnosed, serological studies offer us useful data for the accurate evaluation of the real risk of contact with the parasite. The Canary Islands are a hyperendemic area of animal heartworm disease; thus, the aim of the thesis was to evaluate the risk of zoonotic infection among the population of the Canary Islands, by determining specific IgG antibodies against *D. immitis* as well as assessing the seroepidemiologic evolution in a population living in an hyperendemic area of dirofilariosis, using the example of the island of Gran Canaria. For that, 493 human sera samples from Gran Canaria were taken during 2008, and 300 samples in 2011. Furthermore, 697 canine blood samples were analysed in 2008 from dogs living in Gran Canaria. Finally, in the years 2014-2015, 1479 sera samples of inhabitants of the seven Canary Islands were collected. All human samples were analysed by using ELISA techniques to detect specific anti-*D. immitis* IgG antibodies using adult *D. immitis* somatic antigens, as described previously. To identify canine heartworm infections, blood samples were analysed by a commercial test for the detection of *D. immitis* circulating antigens. In 2008, total seroprevalence in humans of Gran Canaria was 18.66%, and the overall prevalence of canine *D. immitis* was 19.36%. In 2011, a decrease in the seroprevalence was observed with a result of 13.3% among the inhabitants of Gran Canaria. When the different climate areas of the islands were

evaluated, it was observed a strong correlation between both human and canine prevalences. In 2015, the seroepidemiological study showed specific IgG antibodies in 6.4% of the population of the Canary Islands, varying among the islands from 0% (El Hierro) to 12.7% (Tenerife); those islands with higher prevalences of canine heartworm disease are also those with higher human seroprevalences while the islands with low prevalence or absence of heartworm infection among the canine population showed, in turn, low human seroprevalences. These results underline the existence of risk of zoonotic infection in the Canary Islands, which should alert the sanitary authorities and being taken into consideration in the differential diagnosis when solitary pulmonary nodules are detected. Furthermore, it should be carried out awareness campaigns of animal heartworm prevention, to reduce the prevalence of this disease in the endemic islands.

Keywords: pulmonary dirofilariosis, *Dirofilaria immitis*, zoonosis, parasitosis, seroepidemiology



Bibliografía

Abraham, D., 1988. Biology of *Dirofilaria immitis*. En: Boreham, P.F.L., Atwell, R.B. (Eds.) *Dirofilariasis*. CRC Press, Inc., Boca Ratón, Florida, pp. 29-46.

Abramowsky, C.R., Powers, K.G., Aikawa, M., Swinehart, G., 1981. *Dirofilaria immitis*. 5. Inmunopathology of filarial nephropathy in dogs. *Am. J. Pathol.* 104, 1-12.

Acevedo, R.A., Theis, J.H., Kraus, J.F., Longhurst, W.M., 1981. Combination of filtration and histochemical stain for detection and differentiation of *Dirofilaria immitis* and *Dipetalonema reconditum* in the dog. *Am. J. Vet. Res.* 42, 537-540.

Altman, N.H., 1972. Laboratory diagnosis of *Dirofilaria immitis*. En: Bradley, R.E. (Ed.), *Proceedings of the Heartworm Symposium '71*. American Heartworm Society. Gainesville, FL, University of Florida, pp. 87-93.

American Heartworm Society, 2012. Guidelines for the diagnosis, prevention and management of heartworm (*Dirofilaria immitis*) in dogs. Disponible en: <http://www.heartwormsociety.org>. Último acceso: Abril 1, 2013.

American Heartworm Society, 2014. Current canine guidelines for the prevention, diagnosis and management of heartworm (*Dirofilaria immitis*) infection in dogs (2014). Disponible en: <http://www.heartwormsociety.org>. Último acceso: Octubre 6, 2015.

Anderson, R.C., 2000. Nematode parasites of vertebrates. Their development and transmission. 2nd edition. CABI Publishing. Wallingford, Oxon UK. 650 pp.

Aranda, C., Panyella, O., Eritja, R., Castella, J., 1998. Canine filariasis. Importance and transmission in the Baix Llobregat àrea, Barcelona (Spain). *Vet. Parasitol.* 30, 267-275.

Atkins, C., 2005. Canine heartworm disease. En: Ettinger, S.J., Feldman, E.C., (Eds.), *Textbook of Veterinary Internal Medicine*, 6th ed. Elsevier, St. Louis, pp. 1118-1136.

Atkins, C., 2011. Heartworm disease in dogs: an update. En: *Proceedings of the 36th World Small Animal Veterinary Congress WSAVA*, October 14th-17th, 2011. Jeju, Korea, pp. 162-165.

Atwell, R.B., 1981. Prevalence of *Dirofilaria immitis* microfilaræmia in 6 to 8 week old pups. *Aust. Vet. J.* 57, 479.

Atwell, R.B., Searle, A.C.E., 1989. Therapeutic efficacy of RM340 in pound dogs infected with *Dirofilaria immitis*. En: Otto, G.F. (Ed.), *Proceedings of the Heartworm Symposium '89*. American Heartworm Society, Washington DC, pp. 143-145.

Auer H., Weinkarner M., Bstech A., Schnayder C., Dietze O., Kunit G., Aspöck H., 1997. Ein seltener fall einer *Dirofilaria repens*-infestation des Nebenhodens. *Tropenmedizin und Parasitologie* 19, 53-58.

Avdiukhina T.I., Postnova V.F., Abrosimova L.M., Kovtunov A.I., Arakel'ian S.E., Murashov N.E., Plenkina L.V., Grigor'eva E.S., Korotkov V.B., Petukhova G.A., Kurbatova L.I., Derbina Z.P., Dmitriev A.P., Korobov L.I., Loginov V.V., Grigor'ev G.A., Tarasov V.N., Savel'ev S.I., Sirotina E.P., 2003. Dirofilariasis (*D. repens*) in the Russian Federation and some of the Commonwealth of Independent States countries: situation and trends. *Meditssinskaia Parazitologiya i Parazitarnye Bolezni*, 4, 44-48.

Avdiukhina, T.I., Lysenko, A.I., Supriaga, V.G., Postnova, V.F., 1996. Dirofilariasis of the visión organ: registry and analysis of 50 cases in the Russian Federation and in countries of the United Independent States. *Vestn. Oftalmol.* 112, 35-39.

Badertscher, R.R., Losonsky, J.M, Paul, A.J., Kneller, S.K., 1988. Two dimensional echocardiography for diagnosis of dirofilariasis in nine dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 7, 843-846.

Bandi, C., McCall, J.W., Genchi, C., Corona, S., Venco, L., Sacchi, L., 1999. Effects of tetracycline on the filarial worm *Brugia pahangi* and *Dirofilaria immitis* and their bacterial endosymbiont *Wolbachia*. *Int. J. Parasitol.* 29, 357-364.

Barriga, O.O., 1982. Dirofilariasis. En: Steele, J.H., Schultz, M.G. (eds.) *Handbook Series in Zoonoses, Section C. Parasitic zoonoses*, vol. II. CRC Press Inc., USA, pp: 93-110.

Bazzocchi, C., Genchi, C., Paltrinieri, S., Lecchi, C., Mortarino, M., Bandi, C., 2003. Immunological role of the endosymbionts of *Dirofilaria immitis*: the *Wolbachia* surface protein activates canine neutrophils with production of IL-8. *Vet. Parasitol.* 117, 73-83.

Bazzocchi, C., Jamnongluk, W., O'Neill, S.L., Anderson, T.J., Genchi, C., Bandi, C., 2000. WSP gene sequences from the *Wolbachia* of filarial nematodes. *Curr. Microbiol.* 41, 96-100.

Beaber P., Orihel T., Leonard G., 1990. Pulmonary dirofilariasis: restudy of worms reported gravid. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 43, 167-169.

Beskin, C.A., Colvin, S.H. Jr., Beaver, P.C., 1966. Pulmonary dirofilariasis. Cause of pulmonary nodular disease. *JAMA* 198, 665-667.

Bidgood A., Collins G.H., 1996. The prevalence of *Dirofilaria immitis* in dogs in Sydney. *Aust. Vet. J.* 73, 103-104.

Bielawski, B.C., Harrington, D., Joseph, E., 2001. A solitary pulmonary nodule with zoonotic implications. *Chest* 119, 1250-1252.

Borthakur, S.K., Deka, D.K., Islam, S., Sarma, D.K., Sarmah, P.C. 2015. Prevalence and molecular epidemiological data on *Dirofilaria immitis* in dogs from Northeastern States of India. *Sci. World J.* 2015, 265385.

Boudreaux, M.K., Dillon, A.R., 1991a. Platelet function, anti-thrombin-III activity, and fibrinogen concentration in heartworm-infected and heartworm-negative dogs treated with thiacetarsamide. Am. J. Vet. Res. 52, 1986-1991.

Boudreaux, M.K., Dillon, A.R., Ravis, W.R., Sartin, E.A., Spano, J.S., 1991b. Effects of Treatment with Aspirin/dipyridamole combination in Heartworm-negative, Heartworm-infected, and Embolized Heartworm-infected Dogs. Am. J. Vet. Res. 52, 1992-1999.

Bové, C.M., Gordon, S.G., Saunders, A.B., Miller, M.W., Roland, R.M., Achen, S.E., Drourr, L.T., Bogges, M.M., 2010. Outcome of minimally invasive surgical treatment of heartworm caval syndrome in dogs: 42 cases (1999-2007). J. Am. Vet. Med. Assoc. 236, 187-192.

Bowman D., Little S.E., Lorentzen L., Shields J., Sullivan M.P., Carlin EP., 2009. Prevalence and geographic distribution of *Dirofilaria immitis*, *Borrelia burgdorferi*, *Ehrlichia canis*, and *Anaplasma phagocytophilum* in dogs in the United States: Results of a national clinic-based serologic survey. Vet. Parasitol. 160, 138-148.

Brattig, N.W., 2004. Pathogenesis and host responses in human onchocerciasis: impact of *Onchocerca* filarial and *Wolbachia* endobacteria. Microbes Infect. 6, 113-128.

Brattig, N.W., Buttner, D.W., Horeauf, A., 2001. Neutrophil accumulation around *Onchocerca* worms and chemotaxis of neutrophils are dependent on *Wolbachia* endobacteria. *Microbes Infect.* 3, 439-46.

Bronstein AM., Supryaga VG., Stavrovsky BI., Sabgaida TP., Luchshev VI., Korotkova GI., Legonkov YA., Firsova RA., Darchenkova NN., Starkova TV., Zhukova LA., Bugrov AN., 2003. Human dirofilariasis in the Moscow Region. *Meditinskaja Parazitologija i Parazitarnye Bolezni* 3, 51-56.

Brown, H.E., Harrington, L.C., Kaufman, P.E., McKay, T., Bowman, D.D., Nelson, C.T., Wang, D., Lund, R., 2012. Key factors influencing canine heartworm, *Dirofilaria immitis*, in the United States. *Parasit. Vectors.* 5, 245.

Buoro, I.B., Atwell, R.B., 1984. Development of a model of caval syndrome in dogs infected with *Dirofilaria immitis*. *Aust. Vet. J.* 61, 267-268.

Calvert, C.A., 1987. The best ways for evaluating the heartworm infected dog. *Vet. Med-US*, 244.

Calvert, C.A., Rawlings, C.A., McCall, J.W., 1999. Canine heartworm disease. En: Fox, P.R., Sisson, D., Moise, S.N. (Eds.), *Textbook of canine and feline cardiology*. WB Saunders, Philadelphia, p. 702-726.

Cancrini G., Frangipane di Regalbono A., Ricci I., Tessarin C., Gabrielli S., Pietrobelli M., 2003. *Aedes albopictus* is a natural vector of *Dirofilaria immitis* in Italy. *Vet. Parasitol.* 118, 195-202.

Cancrini G., Pietrobelli M., Frangipane di Regalbono AF., Tampieri M. P., della Torre A., 1995. Development of *Dirofilaria* and *Setaria* nematodes in *Aedes albopictus*. *Parassitologia*, 37, 141-145.

Cancrini, G., Kramer, L., 2001. Insect vectors of *Dirofilaria* spp. En: Simón, F., Genchi, C. (Eds.) Heartworm infection in humans and animals, Ediciones Universidad de Salamanca, España, pp: 63-82.

Cancrini, G., Magi, M., Gabrielli, S., Arispici, M., Tolari, F., Dell'Ómodarme, M., Prati, M.C., 2006. Natural vectors of dirofilariasis in rural and urban areas of the Tuscan región, central Italy. *J. Med. Entomol.* 43, 574-579.

Cancrini, G., Prieto, G., Favia, G., Giannetto, S., Tringali, R., Pietrobelli, M., Simón, F., 1999. Serological assays on eight cases of human dirofilariasis identified by morphology and DNA diagnostics. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 93, 147-152.

Cancrini, G., Sun Yanchang, S., della Torre, A., Coluzzi, M., 1988. Influenza Della temperatura sullo sviluppo larvale di *Dirofilaria repens* in diverse specie di zanzare. *Parassitologia* 30: 38.

Cantó, G.J., García, M.P., García, A., Guerrero, M.J., Mosqueda, J., 2011. The prevalence and abundance of helminth parasites in stray dogs from the city of Querato in central Mexico. *85*, 263-9.

Carastro, S.M., Dugan, S.J., Paul, A.J., 1992. Intraocular dirofilariasis in dogs. *Comp. Cont. Educ. Pract.* 14, 209-217.

Carretón, E., Morchón, R-, González-Miguel, J., Simón, F., Juste, M.C., Montoya-Alonso, J.A, 2013. Variation of D-dimer values as assessment of pulmonary thromboembolism during adulticide treatment of heartworm disease in dogs. *Vet. Parasitol.* 195, 106-11.

Chakravarty, A., Chaudhuri, M.N., 1983. Studies on canine filariasis in West Bengal. *Indian Journal of Animal Health*, 22: 151-155.

Chalifoux, L., Hunt, R.D., 1971. Histochemical differentiation of *Dirofilaria immitis* and *Dipetalonema reconditum*. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 158, 602-605.

Comiskey & Wesson. 1995. *Dirofilaria* (Filaroidea: Onchocercidae) infection in *Aedes albopictus* collected in Louisiana. *J. Med. Entomol.* 32: 734-737.

Confer, A.W., Qualls, C.W., MacWilliams, P.S., Root, C.R., 1983. Four cases of pulmonary nodular granulomatosis in dogs. *Cornell Vet.* 73, 41-51.

Cong, W., Meng, Q.F., Blaga, R., Villena, I., Zhu, X.Q., Qian, A.D., 2015. *Toxoplasma gondii*, *Dirofilaria immitis*, feline immunodeficiency virus (FIV), and feline leukemia virus (FeLV) infections in stray and pet cats (*Felis catus*) in northwest China: co-infections and risk factors. *Parasitol. Res.* DOI 10.1007/s00436-015-4738-y

Cordero M., Muñoz MR., Muro A., Simón F., 1990. Transient solitary pulmonary nodule caused by *Dirofilaria immitis*. *Eur. Respir. J.* 3, 1070-1071.

Cordero M., Muñoz, M.R., Muro, A.A., Simón F., Perera M.L., 1992a. Small calcified nodule: a undescribed radiologic manifestation of human pulmonary dirofilariasis. *J. Infect. Dis.* 165, 398-399.

Cordero, M., Muro, A., Simón, F., Tapia, J.I., Espinoza, E., 1992b. Are transient pulmonary solitary nodules a common event in human dirofilariasis? *Clin. Invest.* 70, 437-440.

Courtney, C.H., Zeng, Q.Y., 2001. Relationship between microfilaria count and sensitivity of the direct smear for diagnosis of canine dirofilariasis. *Vet. Parasitol.* 94, 199-204.

Cuervo, P.F., Mera, Y., Sierra, R., Waisman, V., Gerbeno, L., Sidoti, L., Albonico, F., Mariconti, M., Mortarino, M., Pepe, P., Cringoli, G., Genchi, C., Rinaldi, L., 2013. Detection of *Dirofilaria immitis* in mid-western arid Argentina. *Acta Parasitol.* 58, 612-4.

Desowitz, R.S., Barnwell, J.W., Palumbo, N.E., Una, S.R., Perri, S.F., 1978. Rapid decrease of precipitating and reaginic antibodies in *Dirofilaria immitis*-infected dogs which develop severe adverse reactions following treatment with diethylcarbamazine. Am. J. Trop. Med. Hyg. 27, 1148-1151.

Deplazes, P., Guscelli, F., Wunderlin, E., Bucklar, H., Skaggs, J., Wolff, K., 1995. Endoparasite infection in stray and abandoned dogs in southern Switzerland. Schweiz. Arch. Tierheilkd. 137, 172-179.

Dingman, P., Levy, J.K., Kramer, L.H., Johnson, C.M., Lappin, M.R., Greiner, E.C., Courtney, C.H., Tucker, S.J., Morchon, R., 2010. Association of *Wolbachia* with heartworm disease in cats and dogs. Vet. Parasitol. 170, 50-60.

Dorofeev L., Dashevski, V.V., Koltaniuk M.N., Sirotiuk NP., Zhulaeva TE., 1997. Cases of dirofilariasis in inhabitants of the Crimea. Meditsinskaia Parazitologija i Parazitarnye Bolezni, 4, 7-8.

Dreyer, G., Noroes, J., Figueredo-Silva, J., Piessens, W.F., 2000. Pathogenesis of lymphatic disease in bancroftian filariasis: a clinical perspective. Parasitol. Today. 16, 544-548.

Duran-Struuck, R., Jost, C., Hernandez, A.H., 2001. *Dirofilaria immitis* prevalence in a canine population in the Samana Peninsula (Dominican Republic). Vet. Parasitol. 5; 133, 323-7.

Dzimianski, M.T., McTier, T.L., McCall, J.W., 1989. Assessment of filaricidal activity of a new filaricide (RM 340) against immature and adult heartworm using experimental canine nodules. En: Otto, G.F. (Ed.), Proceedings of the Heartworm Symposium '89. American Heartworm Society, Washington DC, pp. 147-153.

Elek G., Minik K., Pajor L., Parlagi G., Varga I., Vetési F., Zombori J., 2000. New human dirofilariasis in Hungary. Pathol. Oncol. Res. 6, 141-145.

Espinoza, E., Cordero, M., Muro, A., Lorente, F., Simón, F., 1993. Anti-*Dirofilaria immitis* IgE: seroepidemiology and seasonal variation in an exposed human population. Trop. Med. Parasitol. 44, 172-176.

Flacio, E., Lüthy, P., Patocchi, N., Guidotti, F., Tonolla M., Peduzzi, R., 2004. Primo ritrovamento di *Aedes albopictus* in Svizzera. Bolletín Società Ticinese de Science Naturale, 92, 141-142.

Fok, E., 2007. The importance of dirofilariasis in carnivores and humans in Hungary, past and present. En: Genchi, C., Rinaldi, L., Cringoli, G. (Eds.). *Dirofilaria immitis* and *Dirofilaria repens* in dog and cat and human infections. Rolando Editore. Napoli, Italy, pp. 181-188.

Frank, J.R., Nutter, F.B., Kyles, A.E., Atkins, C.E., Sellon, R.L., 1997. Systemic arterial dirofilariasis in five dogs. J. Vet. Intern. Med. 11, 189-194.

Fuehrer, H.P., Treiber, M., Silbermayr, K., Baumann, T.A., Swoboda, P., Joachim, A., Noedl, H., 2013. Indigenous *Dirofilaria immitis* in Bangladesh. Parasitol. Res. 112, 2393-5.

Furlanello, T., Caldin, M., Vezzoni, A., Venco, L., Kitagawa, H., 1998. Patogenesi. En: Genchi, C., Venco, L., Vezzoni, A., (Eds.). La filariosi cardiopulmonare del cane e del gatto, Editorial Scivac, Italia, pp: 31-46.

García-Guasch, L., Caro-Vadillo, A., Manubens-Grau, J., Carreón, E., Morchón, R., Simón, F., Kramer, L.H., Montoya-Alonso, J.A., 2013. Is *Wolbachia* participating in the bronchial reactivity of cats with heartworm associated respiratory disease? Vet. Parasitol. 196, 130-5.

Gbakima, A.A., el Sadr, W., Greene, B.M., 1986. Delayed isotype switching in *Dirofilaria immitis* infection. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 80, 305-308.

Genchi C., Kramer L. H., Prieto G., 2001. Epidemiology of canine and feline dirofilariasis: a global view. En: Simón F., Genchi C. (Eds.), Heartworm infection in humans and animals, Ediciones Universidad de Salamanca, España, pp: 121-134.

Genchi, C., Kramer, L.H., Prieto, G., 2011. Dirofilarial infection in Europe. Vector Borne Zoonotic Dis. 11, 1307-1317.

Genchi, C., Rinaldi, L., Mortarino, M., Genchi, M., Cringoli, G., 2009. Climate and *Dirofilaria* infection in Europe. Vet. Parasitol. 163, 286-892.

Gilbert, J., Nfon, C.K., Makepeace, B.L., Njongmeta, L.M., Hastings, I.M., Pfarr, K.M., Renz, A., Tanya, V.N., Trees, A.J., 2005. Antibiotic chemotherapy of onchocerciasis: in a bovine model, killing of adult parasites requires a sustained depletion of endosymbiotic bacteria (*Wolbachia* species). J. Infect. Dis. 192, 1483-1493.

Grandi, G., Morchón, R., Kramer, L., Kartashev, V., Simón, F., 2008. *Wolbachia* and *Dirofilaria repens*, an agent causing human subcutaneous dirofilariasis. J. Parasitol. 94, 1421-1423.

Grandi, G., Živic̆njak, T., Beck, R., 2007. Pathogenesis of *Dirofilaria* spp. Infections. En: Genchi, C., Rinaldi, L., Crigoli, G. (Eds.) Mappa Parassitologica 8. Rolando Editore. Naples, pp. 59-66.

Gratz, N.G., 2004 Critical review of the vector status of *Aedes albopictus*. Med. Vet. Entomol. 18, 215-227.

Grauer, G.F., Culham, C.A., Cooley, A.J., Poff, B.C., Oberley, T.D., Brownfield, M.S., Grieve, R.B., 1987. Clinicopathologic and histologic evaluation of *Dirofilaria immitis*-induced nephropathy in dogs. Am. J. Trop. Med. Hyg. 37, 588-596.

Grauer, G.F., Culham, C.A., Dubielzig, R.R., Longhofer, S.L., Grieve, R.B., 1989. Experimental *Dirofilaria immitis*-associated glomerulonephritis induced in part by in situ formation of immune complexes in the glomerular capillary wall. J. Parasitol. 75, 585-593.

Grauer, G.F., Culham, C.A., Dubielzig, R.R., Presto, S.K., 1988. Effects of a specific tromboxane synthetase inhibitor on development of experimental *Dirofilaria immitis* immune complex glomerulonephritis in the dog. J. Vet. Intern. Med. 2, 192-200.

Grieve, R.B., Gebhardt, B.M., Bradley, R.E.Sr., 1979. *Dirofilaria immitis*: cell-mediated and humoral immune responses in experimentally-infected dogs. Int. J. Parasitol. 9, 275-279.

Grieve, R.B., Knight, D.H., 1985. Anti-*Dirofilaria immitis* antibody levels before and after anthelmintic treatment of experimentally infected dogs. J. Parasitol. 71, 56-61.

Grieve, R.B., Mika-Johnson, M., Jacobson, R.H., Cypers, R.H., 1981. Enzyme-linked immunosorbent assay for measurement of antibody responses to *Dirofilaria immitis* in experimentally infected dogs. Am. J. Vet. Intern. Med. 16, 376.

Guerrero J., Ducos de la Hitte J., Genchi C., Rojo F., Gómez-Bautista M., Carvalho Valera M., Labarthe N., Bordini E., Gonzales G., Mancebo O., Patino F., Uribe L. F., Samano R., 1992. Update on the distribution of *Dirofilaria immitis* in dogs from Southern Europe and Latin America. En: Soll M. D. (Ed.), Proceedings Heartworm Symposium '92, American Heartworm Society, USA, pp: 31-37.

Guerrero, J., Nelson, C.T., Carithers, D.S., 2006. Results and realistic implications of the 2004 AHS-Merial Heartworm survey. En: Proceedings of the AAVP 51st Annual Meeting, Honolulu, HI, pp 62-63.

Guillot P., Dachary D., Dallot M., Cadiergues M.C., Bain O., 1998. Dirofilariose sous-cutanée à *Dirofilaria repens*. Un cas contracté en Gironde. Annales de Dermatologie et de Vénérologie, 125, 105-107.

Hayasaki, M., 1996. Re-migration of Fifth-Stage Juvenile *Dirofilaria immitis* into pulmonary arteries after subcutaneous transplantation in dogs, cats and rabbits. J. Parasitol. 82, 835-837.

Hendrickx G., Biesemans J., de Deken R., 2004. The use of GIS in veterinary parasitology. En: Durr P, Gatrell A (Eds), GIS and Spatial Analysis in Veterinary Science. CABI Publishing, pp 145-176.

Henry, C.J., 1992. Salivary mucocele associated with dirofilariosis in a dog. J. Am. Vet. Med. Assoc. 200, 1965-1966.

Hirano, Y., Kitagawa, H., Sasaki, Y., 1992. Relationship between pulmonary arterial pressure and pulmonary thromboembolism associated with dead worms in canine heartworm disease. J. Vet. Med. Sci. 54, 897-904.

Hormaeche, M., Carretón, E., González-Miguel, J., Gussoni, S., Montoya-Alonso, J.A., Simón, F., Morchon, R., 2014. Proteomic analysis of the urine of *Dirofilaria immitis* infected dogs. *Vet. Parasitol.* 203, 241-6.

Ionica, A.M., Matei, I.A., Mircean, V., Dumitrache, M.O., D'Amico, G., Gyorke, A., Pantchev, N., Annoscia, G., Albrechtová, K., Otranto, D., Modrý, D., Mihalca, A.D., 2015. Current surveys on the prevalence and distribution of *Dirofilaria spp.* and *Acanthocheilonema reconditum* infections in dogs in Romania. *Parasitol. Res.* 114, 975-82.

Ishiara, K., Kitagawa, H., Sasaki, Y., 1990. Efficacy of heartworm removal in dogs with dirofilarial hemoglobinuria using Flexible Alligator Forceps. *Jpn. J. Vet. Sci.* 53, 591-599.

Jackson, R.F., Otto, G.F., 1975. Detection and differentiation of microfilariae. En: Morgan, H.C., et al. (Eds.), *Proceedings of the heartworm symposium '74*. V.M. Publishing Inc., Bonner Springs, Kansas pp. 21-25.

Jackson, R.F., Seymour, W.G., Growney, R.J., Otto, G.F., 1966. Surgical treatment of caval syndrome of canine heartworm disease. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 171, 1065-1069.

Jelinek T., Schulte-Hillen J., Loscher T., 1996. Human dirofilariasis. *Int. J. Dermatol.* 35, 872-875.

Kahn, F.W., Wester, S.M, Agger, W.A., 1983. Pulmonary dirofilariasis and transitional cell carcinoma. Being lung nodules mimicking metastatic malignant neoplasms. Arch. Intern. Med. 143, 1259-1260.

Kartashev V., Batashova I., Kartashov S., Ermakov A., Mironova A., Kuleshova Y., Ilyasov B., Kolodiy I., Klyuchnikov A., Ryabikina E., Babicheva M., Levchenko Y., Pavlova R., Pantchev N., Morchón R., Simón F., 2011. Canine and human dirofilariosis in the Rostov region (southern Russia). Vet. Med. Int. 2011:685713. doi: 10.4061/2011/685713.

Kim, M.K., Kim, C.H., Yeom, B.W., Park, S.H., Choi, S.Y., Choi, J.S., 2002. The first human case of hepatic dirofilariosis. J. Korean Med. Sci. 17, 686-690.

Kittleson, M.D., 1998. Heartworm infestation and disease (dirofilariosis). En: Kittleson, M.D., Kienle, R.D. (Eds.), Small Animal Cardiovascular Medicine. 1st ed. Mosby, St. Louis, pp. 370-401.

Kittleson, M.D., Kienle, R.D., 2000. Medicina cardiovascular de pequeños animales. 2a ed., Multimédica. Barcelona. España.

Klotins KC., Martin SW., Bonnett BN., Peregrine AS., 2000. Canine heartworm testing in Canada: are we being effective?. Can. Vet. J. 41, 929-937.

Knight, D.H., 1995. Guidelines, pp. 879-887. For diagnosis and management of heartworm (*Dirofilaria immitis*) infection. En: Bonagura, J.D. (Ed.), Kirk's Current Veterinary Therapy XII, Small Animal Practice, WB Saunders Co, Philadelphia

Knott, J., 1939. A method for making microfilaria surveys on dog blood. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 33, 191-196.

Kochar, A.S., 1985. Human pulmonary dirofilariasis. Report of three cases and brief review of the literatura. Am. J. Clin. Pathol. 84, 19-23.

Korkhov, A.P., Temirov, N.E., Nagornyĭ, S.A., Ermakova, L.A., Dumbadze, O.S., Beskrovnaia, Iu, G., Chernikova, E.A., 2009. A case of the rare intraocular site of *Dirofilaria spp.* in man. Med. Parazitol. Mosk. 1, 59.

Kotani, T., Powers, K.G., 1982. Developmental stages of *Dirofilaria immitis* in the dog. Am. J. Vet. Res. 43, 2199-2206.

Kozek WJ., Vazquez AE., Gonzalez C., Iguina J., Sanchez E., de Jesus F., Cardona CJ., Gomez C., Seneriz R., Diaz-Umpierre J., 1995. Prevalence of canine filariae in Puerto Rico and The Caribbean. En: Soll MD and Knight DH (eds). Proceedings of the Heartworm Symposium `95. Batavia, American Heartworm Society, pp: 55-64.

Kozek, W.J., 2005. What is new in the *Wolbachia*/Dirofilaria interactions? Vet. Parasitol. 133, 127-132.

Kozek, W.J., González Jr., J.A., Amigo, L.A., 2007. *Wolbachia* of *Dirofilaria immitis*: an historical perspective and morphological characteristics. En: Genchi, C., Rinaldi, L., Cringoli, G. (Eds.), *Mappe Parassitologiche* 8. Rolando Editore, Naples, pp.209-210.

Kramer L.H., Kartashev V.V., Grandi G., Morchón R., Nagornii S.A., Karanis P., Simón F., 2007. Human subcutaneous dirofilariasis, Russia. *Emerg. Infect. Dis.* 13, 150-152.

Kramer, L., Grandi, G., Leoni, M., Passeri, B., McCall, J., Genchi, C., Mortarino, M., Bazzochi, C., 2008. *Wolbachia* and its influence on the pathology and immunology of *Dirofilaria immitis* infection. *Vet. Parasitol.* 158, 191-195.

Kramer, L., Simón, F., Tamarozzi, F., Genchi, M., Bazzochi, C., 2005a. Is *Wolbachia* complicating the pathological effects of *Dirofilaria immitis* infections? *Vet. Parasitol.* 133, 133-136.

Kramer, L.H., Passeri, B., Corona, S., Simoncini, L., Casiraghi, M., 2003. Immunohistochemical/ immunogold detection and distribution of the endosymbiont *Wolbachia* of *D. immitis* and *Bruugia pahangi* using a polyclonal antiserum raised against WSP (*Wolbachia* surface protein). *Parasitol. Res.* 89, 381-386.

Kramer, L.H., Tamarozzi, F., Morchón, R., López-Belmonte, J., Marcos-Atxutegi, C., Martín-Pacho, R., Simón, F., 2005b. Immune response to and tissue localization of the *Wolbachia* sur-

face protein (WSP) in dogs with natural heartworm (*Dirofilaria immitis*) infection. Vet. Immunol. Immunopathol. 106, 303-308.

Kucsera I., Szénási, Danka J., 2007. Review of human dirofilariosis diagnosed at the Department of Parasitology, National Center of Epidemiology, Budapest, Hungary. En: Genchi C., Ronaldi L., Cringoli G. (Eds.), *Dirofilaria immitis* and *D. repens* in dog and cat and human infections, Rolando Editore, Italia, pp: 197.

Kume, S. Itagaki, S., 1955. On the life-cycle of *Dirofilaria immitis* in the as the final host. Br. Vet. J. 111, 16-24.

Kuo T.F., Yang C.Y., Yau C.F., 1995. Study on the incidence of pound dogs infested with heartworms and a comparison of different methods of detection during the summer season in Taipei. J. Chin. Soc. Anim. Sci. 21, 97-104.

Labarthe, N., Guerrero, J., 2005. Epidemiology of heartworm: what is happening in South America and Mexico? Vet. Parasitol. 133, 149-156.

Labarthe, N.V., Pereira Paiva, J., Reifur, L., Mendes-de-Almeida, F., Merlo, A., Carvalho Pinto, C.J., Juliani, P.S., Ornelas de Almeida, M.A., Câmara Alves, L., 2014. Updated canine infection rates for *Dirofilaria immitis* in areas of Brazil previously identified as having a high incidence of heartworm-infected dogs. Parasit. Vectors. 7, 493.

Langworthy, N.G., Renz, A., Mackenstedt, U., Henkle-Dührsen, K., de Bronsvort, M.B., Tanya, V.N., Donnelly, M.J., Trees, A.J., 2000. Macrofilaricidal activity of tetracycline against the filarial nematode *Onchocerca ochengi*; elimination of *Wolbachia* precedes worm death and suggests dependent relationship. Biol. Sci. 267, 1063-1069.

Lee, A.C., Montgomery, S.P., Theis, J.H., Blagburn, B.L., Eberhard, M.L., 2010. Public health issues concerning the widespread distribution of canine heartworm disease. Trends Parasitol. 26, 168-173.

Lichtenfels, J.R., Pilitt, P.A., Kotani, T., Powers, K.G., 1985. Morphogenesis of developmental stages of *Dirofilaria immitis* (Nematoda) in dogs. Proc. Helm. Soc. Wash. 52, 98-113.

Liu, S.K., Das, K.M., Tashjian, R.J., 1966. Adult *Dirofilaria immitis* in the arterial system of a dog. J. Am. Vet. Med. Assoc. 148, 1501-1507.

Lok JB., 1988. *Dirofilaria* sp: Taxonomy and distribution. En: Boreham P. F. L., Atwell R. B. (Eds.). *Dirofilariasis*, CRC Press Inc, USA, pp: 1-28.

Losonsky, J.M., Thrall, D.E., Lewis, R.E., 1983. Thoracic radiographic abnormalities in 200 dogs with heartworm infestation. Vet. Radiol. 24, 120-123.

Ludders, J.W., Grauer, G.F., Dubielzig, R.R., Ribble, G.A. Wilson, J.W., 1988. Renal microcirculatory and correlated histologic changes associated with dirofilariosis in dogs. *Am. J. Vet. Res.* 49, 826-830.

Madon, M.B., Mulla, M.S., Shaw, M.W., Kluh, S., Hazelrigg, J.E., 2002. Introduction of *Aedes albopictus* (Skuse) in southern California and potential for its establishment. *J. Vector Ecol.* 27, 149-154.

Magalhães PS., 1887. Descrição de uma espécie de filárias encontradas na circulação humano. *Rev. Cursos Prat. Theor. Fac. Med. Rio de Janeiro*, 3, 129-215.

Magi, M., Guardone, L., Mignone, W., Monni, G., Tozzini, G., Prati, M.C., Macchioni, F., 2015. Canine filarial infections in Liguria, north-west Italy. *J. Helminthol.* 11, 1-4.

Magi, M., Guardone, L., Prati, M.C., Tozzini, G., Torracca, B., Monni, G., Macchioni, F., 2012. Canine filarial infections in Tuscany, central Italy. *J. Helminthol.* 86, 113-6.

Maia, C., Coimbra, M., Ramos, C., Cristóvão, J.M., Cardoso, L., Campino, L., 2015. Serological investigation of *Leishmania infantum*, *Dirofilaria immitis* and *Angiostrongylus vasorum* in dogs from southern Portugal. *Parasit. Vectors.* 23; 8, 152.

Maltezos ES., Sivridis EL., Giatromanolaki AN., Simopoulos CE., 2002. Human subcutaneous dirofilariasis: a report of three cases manifesting as breast or axillary nodules. Scot. Med. J. 47, 86-88.

Mancebo O., Russo A., Bulman G., Carabajal L., Villavicencio de Mancebo V., 1992. *Dirofilaria immitis*: Características, prevalencia y diagnóstico de la dirofilariasis en la población canina en áreas urbanas, suburbanas y rurales de la Prov. de Formosa (Argentina) y descripción de la enfermedad en el coatí común (*Nasua solitaria*). Pet's, 8, 95-117.

Mandelker, L., Brutus, R.L., 1971. Feline and canine dirofilarial encephalitis. J. Am. Vet. Med. Assoc. 159, 776.

Mantovani, A., Jackson, R.F., 1966. Transplacental transmission of microfilariae of *Dirofilaria immitis* in the dog. J. Parasitol. 52, 116.

Marcos-Atxutegi, C., Kramer, L.H., Fernandez, I., Simoncini, L., Genchi, M., Prieto, G., Simón, F., 2003. Th1 response in BALB/c mice immunized with *Dirofilaria immitis* soluble antigens: a possible role for *Wolbachia*. Vet. Parasitol. 112, 117-130.

Marcos-Atxutegi, C., Gabrielli, S., Kramer, L.H., Cancrini, G., Simón, F., 2004. Antibody response against *Dirofilaria immitis* and the *Wolbachia* endosymbiont in naturally infected canine

and human hosts. En: Mas-Coma S (Ed.), Proceedings of the IX European Multicolloquium of Parasitology (EMOP IX). Editorial Medimond. Pianoro, Italy, p 297-302.

Marquardt, W.C., Demaree, R.S., Grieve, R.B., 2000. Parasitology and Vector Biology. Hartcourt Academic Press, USA, 702 pp.

Martini, M., Capelli, G., Plogayen, G., Bertotti, F., Turulli, C., 1996. The validity of some haematological and ELISA methods for the diagnosis of canine heartworm disease. Vet. Res. Commun. 20, 331-339.

Mass, H., Ali, I., Velez, W., Santiago, O., 1992. Hemodynamics of heartworm infection. Ann. N. Y. Acad. Sci. 653, 206-210.

Masseron T., Saillol L., Neil J., Floch J., 1996. Dirofilariose Coniuntivale à *Dirofilaria repens*: à propos d` un cas francais. Médical Tropical, 56, 457-458.

Matola YG., 1991. Periodicity of *Dirofilaria immitis* microfilariae in a dog from Muheza district, Tanzania. J. Helminthol. 65, 76-78.

McCall, J.W., 1998. Recerca e dati sperimentali. En: Genchi, C., Venco, L., Vezzoni, A. (Eds.) La filariosi cardiopulmonare del cane e del gatto. Editorial Scivac, Italia, pp. 47-54.

McCall, J.W., Genchi, C., Kramer, L., Guerrero, J., Dzimińska, M.T., Supakorndej, P., Mansoure, A.M., McCall, S.D., Supakorndej, N., Grandi, G., Carbone, B., 2008a. Heartworm and *Wolbachia*: Therapeutic implications. *Vet. Parasitol.* 158, 204-214.

McCall, J.W., Genchi, C., Kramer, L.H., Guerrero, J., Venco, L., 2008b. Heartworm disease in animals and humans. *Adv. Parasitol.* 66, 193-285.

McCown, M.E., Monterroso, V.H., Cardona W., 2014. Surveillance for *Ehrlichia canis*, *Anaplasma phagocytophilum*, *Borrelia burgdorferi*, and *Dirofilaria immitis* in Dogs from Three Cities in Colombia. *J. Spec. Oper. Med.*; 14, 86-90.

McGeevy, P.B., Theis, J.H., Lavoipierre, M.M.J., Clark, J., 1974. Studies on filariasis. III. *Dirofilaria immitis*: Emergence of infective the larvae from mouthparts of *Aedes aegypti*. *J. Helminthol.* 48, 221-224.

McHaffie, J., 2012. *Dirofilaria immitis* and *Wolbachia pipientis*: a thorough investigation of the symbiosis responsible for canine heartworm disease. *Parasitol. Res.* 110, 499-502.

Megat Abd Rani, P.A., Irwin P.J., Gatne M., Coleman GT., McInnes L.M., Traub R.J., 2010. A survey of canine filarial diseases of veterinary and public health significance in India. *Parasit. Vectors* 3, 30.

Mejía, J.S., Carlow, C.K.S., 1994. An analysis of the humoral immune response of dogs following vaccination with irradiated infetive larvae of *Dirofilaria immitis*. *Parasite Immunol.* 16, 157-164.

Milanez de Campos, J.R., Barbas, C.S., Filomeno, L.T., Minamoto, H., Filho, J.V., Jatene, F.B., 1997. Human pulmonary dirofilariasis: Analysis of 24 cases from Sao Paulo, Brazil. *Chest* 112, 729-733.

Miyoshi, T., Tsubouchi, H., Iwasaki, A., Shiraishi, T., Nabeshima, K., Shirakusa, T., 2006. Human pulmonary dirofilariasis: A case report review of the recent Japanese literatura. *Respirology* 11, 343-347.

Moise, N.S., 1988. Echocardiography. En: Fox, P.R. (Ed.), *Canine and Feline Cardiology*, Churchill Livingstone, Inc., New York, pp. 113-156.

Montaño, J.M.F., Árraga de Alvarado, C.M., Morillo, M.A., Sandoval Martinez, J.E., 2002. Diagnóstico de la dirofilariosis canina: un estudio comparativo usando las pruebas de ELISA y WOO. *Rev. Cientif. FCV-LUZ.* 5, 351-357.

Montoya, J.A., Morales, M., Ferrer, O. Molina, J.M., Corbera, J.A., 1998. The prevalence of *Dirofilaria immitis* in Gran Canaria, Canary Islands, Spain (1994-1996). *Vet. Parasitol.* 75, 221-226.

Montoya, J.A., Morales, M., Juste, M.C., Bañares, A., Simón, F., Genchi, C., 2006. Seroprevalence of canine heartworm disease (*Dirofilaria immitis*) in Tenerife Island: an epidemiological update. Parasitol. Res. 100, 103-105.

Montoya, J.A., Morales, M., Juste, M.C., Corbera, J.A., 2007. Heartworm (*Dirofilaria immitis*) Infection in dogs: current update in Spain. En: Genchi, C., Rinaldi, L., Cringoli, G. (Eds.) *Mappe Parassitologiche* 8. Rolando Editore. Naples, pp.175-180.

Montoya-Alonso, J.A., Carretón, E., Corbera, J.A., Juste, M.C., Mellado, I., Morchón, R., Simón, F., 2011. Current prevalence of *Dirofilaria immitis* in dogs, cats and humans from the island of Gran Canaria, Spain. Vet. Parasitol. 176, 291-294.

Montoya-Alonso, J.A., Carretón, E., Juste, M.C., Mellado, I., Morchón, R., Simón, F., 2010. Epidemiological survey of canine heartworm disease on the island of Gran Canaria (Canary Islands-Spain) between 2000 and 2008. Vet. Parasitol. 173, 165-168.

Morchón, R., López-Belmonte, J., Bazzocchi, C., Grandi, G., Kramer, L., Simón, F., 2007. Dogs with patent *Dirofilaria immitis* infection have higher expression of circulating IL-4, IL-10 and iNOs mRNA than those with occult infection. Vet. Immunol. Immunopathol. 115, 184-188.

Morchón, R., Carretón, E., González-Miguel, J., Mellado-Hernández, I., 2012a. Heartworm Disease (*Dirofilaria immitis*) and their vectors in Europe-New Distribution Trends. *Front. Physiol.* 3, 196.

Morchón, R., Carretón, E., Grandi, G., González-Miguel, J., Montoya-Alonso, J.A., Simón, F., Genchi, C., Kramer, L.H., 2012b. Anti-*Wolbachia* Surface Protein antibodies are present in the urine of dogs naturally infected with *Dirofilaria immitis* with circulating microfilariae but not in dogs with occult infections. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 12, 17-20.

Morchón, R., Ferreira, A.C., Martín-Pacho, J.R., Montoya, A., Mortarino, M., Genchi, C., Simón F., 2004. Specific IgG antibody response against antigens of *Dirofilaria immitis* and its *Wolbachia* endosymbiont bacterium in cats with natural and experimental infections. *Vet. Parasitol.* 125, 313-321.

Morchón, R., Moya, I., González-Miguel, J., Montoya, M.N., Simón, F., 2010. Zoonotic *Dirofilaria immitis* infections in a province of Northern Spain. *Epidemiol. Infect.* 138, 380-383.

Muro A., Cordero M., Ramos A., Simon F., 1991. Seasonal changes in the levels of anti-*Dirofilaria immitis* in an exposed human population. *Tropical Medicine and Parasitology* 42, 371–374.

Muro, A., Cordero, M., 2001. Clinical aspects and diagnosis of human pulmonary dirofilariasis, En: Simón, F., Genchi, C., (Ed.), Heartworm infection in humans and animals. Ediciones Universidad de Salamanca. Salamanca, Spain, pp. 191-202.

Muro, A., Genchi, C., Cordero, M., 1999. Human dirofilariasis in the European Union. Parasitol. Today. 15, 386-389.

Navarrete, A.R., 1972. Pulmonary dirofilariasis. Chest. 61, 51-54.

Nelson, C.T., McCall, J.W., Rubin, S.B., Buzhardt, L.F., Dorion, D.W., Graham, W., Longhofer, S.L., Guerrero, J., Robertson-Plouch, C., Paul, A.; Executive Board of the American Heartworm Society., 2005. 2005 guidelines for the diagnosis, prevention and management of heartworm (*Dirofilaria immitis*) infection in dogs. Vet. Parasitol. 133, 255-266.

Oi, M., Yoshikawa, S., Ichikawa, Y., Nakagaki, K., Matsumoto, J., Nogami, S., 2014. Prevalence of *Dirofilaria immitis* among shelter dogs in Tokyo, Japan, after a decade: comparison of 1999-2001 and 2009-2011. Parasite. 21, 10.

Oi, M., Yoshikawa, S., Ichikawa, Y., Nakagaki, K., Matsumoto, J., Nogami, S., Jung, B.Y., Gebeyehu, E.B., Seo, M.G., Byun, J.W., Kim, H.Y., Kwak, D. 2012. Prevalence of vector-borne diseases in shelter dogs in Korea. Vet. Rec. 8; 171, 249.

Olson, N.C., Scott, J.B., Stoffs, W.V., Robinson, N.E., 1982. Central blood volumen and lung extravascular thermal volumen in dogs with dirofilariasis. *Am. J. Vet. Res.* 43, 1019-1022.

Orihel, T.A., Eberhard, M.L., 1998. Zoonotic filariasis. *Clin. Microbiol. Rev.* 11, 366-381.

Orihel, T.C., 1961. Morphology of the larval stages of *Dirofilaria immitis* in the dog. *J. Parasitol.* 47, 251-262.

Paes-de-Almeida, E.C., Ferreira, A.M., Labarthe, N.V., Caldas, M.L., McCall, J.W., 2003. Kidney ultrastructural lesions in dogs experimentally infected with *Dirofilaria immitis* (Leidy, 1856). *Vet. Parasitol.* 113, 157-168.

Pampiglione S, Rivasi F., 2000. Human dirofilariasis due to *Dirofilaria* (Nochtiella) *repens*: an update of World literatura from 1995 to 2000. *Parassitologia*, 42, 235-254.

Pampiglione, S., Canestri Trotti, G., Rivasi, F., 1995. Human dirofilariosis due to *Dirofilaria* (Notchiella) *repens*: a review of world literatura. *Parassitologia* 37, 149-193.

Pampiglione, S., Rivasi, F., 2007. Human dirofilariosis to *Dirofilaria* (Notchiella) *repens*: an update of world literatura from 1995-2000. En: Genchi, C., Rinaldi, L. Cringoli, G., (Ed.), *Dirofilaria immitis* and *D. repens* in dog and cat and human infections. Rolando Editore. Naples, Italy, p 83-116.

Pantchev, N., Schaper, R., Limousin, S., Norden, N., Weise, M., Lorentzen, L., 2009. Occurrence of *Dirofilaria immitis* and tick-borne infections caused by *Anaplasma phagocytophilum*, *Borrelia burgdorferi* sensu lato and *Ehrlichia canis* in domestic dogs in France: results of a countrywide serologic survey. Parasitol. Res. 105 Suppl 1:S101-14.

Patnaik M.M., 1989. On filarial nematodes in domestic animals in Orissa. Indian Vet. J. 66, 573-574.

Patton, O.S., Garner, F.M., 1970. Cerebral infarction caused by heartworm (*Dirofilaria immitis*) in a dog. J. Am. Vet. Med. Assoc. 156, 600-605.

Perera, L., Muro, A., Cordero, M., Villar, E., Simón, F., 1994. Evaluation of a 22 kDa *Dirofilaria immitis* antigen for the immunodiagnosis of human pulmonary dirofilariasis. Trop. Med Parasitol. 45(3):249-52.

Perera, L., Pérez-Arellano, J.L., Cordero, M., Simón, F., Muro, A., 1998. Utility of antibodies against a 22 kD molecule of *Dirofilaria immitis* in the diagnosis of human pulmonary dirofilariasis. Trop. Med. Int. Health. 3, 151-5.

Perez M, Arlet M. (1998). Parasitological survey at the small animal hospital of the School of Veterinary Science, Central University of Venezuela. Proc XXIII WSAVA World Congress, Buenos Aires, Argentina, pp: 801.

Peribáñez, M.A., Lucientes, J., arce, S., morales, M., Castello, J.A., Gracia, M.J., 2001. Histochemical differentiation of *Dirofilaria immitis*, *Dirofilaria repens* and *Achantocheilonema dracunculoides* microfilariae by staining with a comercial kit, Leucognost-SP. Vet. Parasitol. 102, 173-175.

Pónyai K., Wikonkál N., Bottlik G., Hársing J., Kucsera I., Horváth A., Kárpáti S., 2006. *Dirofilaria repens* infection case in Hungary: a case report. J. Dtsch. Dermatol. Ges. 4, 1051-1053.

Postnova VF., Kovtunov AI., Abrosimova LM., Avdiukhina TI., Mishina LI., Pogorel'chuk T., Olenik VA., Beshko NI., 1997. New cases of human dirofilariasis. Meditsinskaia Parazitologija i Parazitarnye Bolezni, 1, 6-9.

Prieto, G., Camcrini, G., Muro, A., Genchi, C., Simón, F., 2000. Seroepidemiology of *Dirofilaria immitis* and *Dirofilaria repens* in humans from three areas of souther Europe. Res. Rev. Parasitol. 60, 95-98.

Prieto, G., G. Cancrini, A. Muro, C. Genchi, and F. Simon. 2000. Seroepidemiology of *Dirofilaria immitis* and *Dirofilaria repens* in humans from three areas of southern Europe. Res. Rev. Parasitol. 60, 95-98.

Punkosdy, G.A., Addis, D.G., Lammie, P.J., 2003. Characterization of antibody responses to *Wolbachia* surface protein in humans with lymphatic filariasis. Infect. Immun. 71, 5104-5114.

Quiroz-Romero, H., 1984. Parasitología y enfermedades parasitarias de los animales domésticos. Editorial Limusa, México. 876 pp.

Raccurt CP., 1999. La dirofilarirose, zoonose émergente et mèconnue en France. Médecine Tropicale, 59, 389-400.

Rawlings, C.A., 1982. Clinical laboratory evaluations of seven heartworm infected beagles: during disease development and following treatment. Cornell Vet. 72, 49-56.

Rawlings, C.A., 1986. Heartworm disease in dogs and cats. WB Saunders Co, Philadelphia, pp: 325.

Rawlings, C.A., Calvert, C.A., 1997. Verminosis cardiaca. En: Ettinguer, S.J., Feldman, E.C., 1997. Tratado de Medicina Interna Veterinaria. 4^a ed., Intermédica. Buenos Aires. Argentina.

Rawlings, C.A., Dawe, D.L., McCall, J.W., Keith, J.C., Prestwood, A.K., 1982. Four types of occult *Dirofilaria immitis* infection in dogs. J. Am. Vet. Med. Assoc. 180, 1323-1326.

Rawlings, C.A., Keith, J.C., Schaub, R.G., 1981. Development and resolution of pulmonary disease in heartworm infection: Illustrated review. J. Am. Anim. Hosp. Assoc. 17, 711-720.

Rawlings, C.A., McCall, J.W., Lewis, R.E., 1978. The response of the canine's heart and lungs to *Dirofilaria immitis*. J. Am. Anim. Hosp. Assoc. 14, 17-32.

Reiter, P., Sprenger, D., 1987. The used tire trade: a mechanism for the worldwide dispersal of container breeding mosquitoes. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 3, 494-501.

Riache, R., Godoy, R., Godoy, D., Del Curto, O., 2001. *Dirofilariasis Immitis* Pulmonar. Presentación de un caso y revisión de la bibliografía. Disponible en: <http://www.unne.edu.ar/unnevieja/Web/cyt/cyt/2001/3-Medicas/M-017.pdf>

Rivasi F., Boldorini R., Criante P., Leutner M., Pampiglione S., 2006. Detection of *Dirofilaria* (*Nochtiella*) *repens* DNA by polymerase chain reaction in embedded paraffin tissues from two human pulmonary locations. *APMIS* 114, 567-574.

Rogers D.J, Randolph S.E., 2006. Climate change and vector-borne diseases. *Adv. Parasitol.* 62, 345-381.

Rohn, D.A., Davis, K.L., Mehlhorn, U., Allen, S.J., Laine, G.A., 1995. Myocardial edema and compromised left ventricular function attributable to dirofilariasis and cardiopulmonary bypass in dogs. *Am. J. Vet. Res.* 56, 221-226.

Roiz, D., Eritja, R., Escosa, R., Lucientes, J., Marqués, E., Melero-Alcíbar, R., Ruiz, S., Molina, R., 2007. A survey of mosquitoes breeding in used tires in Spain for the detection of imported potential vector species. *J. Vector Ecol.* 32, 10-15.

Rosa A., Ribicich M., Betti A., Kistermann JC., Cardillo N., Basso N., Hallu R., 2002. Prevalence of canine dirofilariasis in the

City of Buenos Aires and its outskirts (Argentina). *Vet. Parasitol.* 109, 261–264.

Ruiz-Moreno JM., Bornay-Llinares FJ., Prieto Maza G., Medrano M., Simón F., Eberhard ML., 1998. Subconjunctival infection with *Dirofilaria repens*: serological confirmation of cure following surgery. *Arch. Ophthalmol.* 116, 1370-1372.

Sacchi, L., Corona, S., Casiraghi, M., Bandi, C., 2002. Does fertilization in the filarial nematode *Dirofilaria immitis* occur through endocytosis of spermatozoa? *Parasitology* 124, 87-95.

Sacks BN., Chomel B.B., Kasten RW., 2004. Modeling the distribution and abundance of the non-native parasite, canine heartworm, in California coyotes. *OIKOS*, 105, 415-425.

Salfelder K., Dávila de Arriga A., Rujano J., 1976. Caso humano de dirofilariasis pulmonar. *Acta Médica Venezolana*, 23, 87-90.

Santamaría, B., Cordero, M., Muro, A., Simón, F., 1995. Evaluation of *Dirofilaria immitis* excretory/secretory products for seroepidemiological studies on human dirofilariosis. *Parasite.* 2, 269-73.

Sasaki, Y., Kitagawa, H., Hirano, Y., 1992. Relationship between pulmonary arterial pressure and lesions in the pulmonary arteries and parenchyma, and cardiac valves in canine dirofilariosis. *J. Vet. Med. Sci.* 54, 739-744.

Sasaki, Y., Kitagawa, H., Ishihara, K., 1989. Clinical and pathological effects of heartworm removal from the pulmonary arteries using flexible alligator forceps. En: Otto, G.F., (Ed.), Proceedings of the Heartworm Symposium '89. American Heartworm Society, Washington DC, pp: 45-51.

Sassnau, R., Dauschies, A., Lendner, M., Genchi, C., 2014. Climate suitability for the transmission of *Dirofilaria immitis* and *D. repens* in Germany. Vet. Parasitol. 15; 205, 239-45.

Sato, M., Koyama, A., Iwai, K., Kawabata, Y., Kojima, S., 1985. Human pulmonary dirofilariasis with spacial reference to the ELISA for the diagnosis and follow-up study. Z. Parasitenkd. 71, 561-563.

Scharma, M.C., Pachauri, S.P., 1982. Blood cellular and biochemical studies in canine dirofilariasis. Vet. Res. Commun. 5, 295-300.

Schwan EV, Durand DT., 2002. Canine filariosis caused by *Dirofilaria immitis* in Mozambique: a small survey based on the identification of microfilariae. J. S. Afr. Vet. Assoc. 73, 124-126.

Sevimli, F.K., Kozan, E., Bülbü, A., Birdane, F.M., Köse, M., Sevimli, A., 2007. *Dirofilaria immitis* infections in dogs: unusually located findings. Parasitol. Res. 101, 1487-1494.

Simón, F. Siles-Lucas, M., Morchón, R., González-Miguel, J., Mellado, I., Carretón, E., Montoya-Alonso, J.A., 2012. Human

and animal dirofilariasis: the emergence of a zoonotic mosaic. Clin. Microbiol. Rev. 25, 507-544.

Simón, F., Genchi, C., 2000. Dirofilariasis and other zoonotic filariases: an emerging public health problem in developed countries. Res. Rev. Parasitol. 60, 1-16.

Simón, F., Genchi, C., Prieto, G., Allende, E., 2001. Immunity in the vertebrate hosts. En: Simón, F., Genchi, C. (Eds.), Heartworm infection in humans and animals. Ediciones Universidad de Salamanca, España, pp: 83-101.

Simón, F., Gussoni, S., 2012. Dirofilariosis en el hombre. En: Montoya-Alonso, J.A., Carretón, E. (Eds.), Dirofilariosis: Pautas de manejo clínico. Multimédica Ediciones Veterinarias, Barcelona, España, pp: 173-1-186.

Simón, F., Kramer, L.H., Román, A. Blasini, W., Morchón, R., Marcos-Atxutegi, C., Grandi, G., Genchi, C., 2007. Immunopathology of *Dirofilaria immitis* infection. Vet. Res. Commun. 31, 161-171.

Simón, F., López-Belmonte, J., Marcos-Atxutegi, C., Morchón, R., Martín-Pacho, J.R., 2005. What is happening outside North America regarding human dirofilariasis? Vet. Parasitol. 132, 181-189.

Simón, F., Morchón, R., González, J., 2009b. Dirofilariosis canina en La Coruña. Argos 106, 10-12.

Simón, F., Morchón, R., González-Miguel, J., Marcos-Atxutegi, C., Siles-Lucas, M., 2009a. What is new about animal and human dirofilariosis? *Trends Parasitol.* 25, 404-409.

Simón, F., Muro, A., Cordero, M., Martin, J., 1991. A seroepidemiologic survey of human dirofilariosis in Western Spain. *Trop. Med. Parasitol.* 42, 106-8.

Simón, F., Prieto, G., Morchón, R., Bazzocchi, C., Bandi, C., Genchi, C., 2003. Immunoglobulin G antibodies against the endosymbiont of filarial nematodos (*Wolbachia*) in patients with pulmonary dirofilariasis. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 10, 180-181.

Simón, F., Prieto, G., Muro, A., Cancrini, G., Cordero, M., Genchi, C., 1997. Human humoral immune response to *Dirofilaria* species. *Parassitologia.* 39, 397-400.

Sironi, M., Bandi, C., Sacchi, L., Di Sacco, B., Damiani, G., Genchi, C., 1995. A close relative of the arthropods endosymbiont *Wolbachia* in a filarial worm. *Mol. Biochem. Parasitol.* 74, 223-227.

Siwila, J., Mwase, E.T., Nejsun, P., Simonsen, P.E., 2015. Filarial infections in domestic dogs in Lusaka, Zambia. *Vet. Parasitol.* 210, 250-4.

Slocombe JO., Villeneuve A., 1993. Heartworm in dogs in Canada in 1991. *Can. Vet. J.* 34, 630-633.

Slocombe, J.O.D., Surgeoner, G.A., Srivastava, B., 1989. Determination of the heartworm transmission period and its use in diagnosis and control. En: Otto, G.F. (Ed.) Proceedings of the Heartworm Symposium '89. American Heartworm Society, Washington DC, pp: 19-26.

Slonka, G.F., Castleman, W., Krum, S., 197. Adult heartworms in arteries and veins of a dog. J. Am. Vet. Med. Assoc. 170, 717-719.

Song K.H., Lee S.E., Hayasaky M., Shiramizu K., Kim D.H., Cho K.W., 2003. Seroprevalence of canine dirofilariosis in South Korea. Vet. Parasitol. 14, 231-236.

Stephen, H.G., 2001. Migrating worms. En: Stephen, H.G., Richard, D.P., (Eds.). Principle and Practice of Clinical Parasitology. John Wiley and Sons, Chichester, UK, pp: 535-551.

Strickland, K.N., 1998. Canine and feline caval síndrome. Clin. Tech. Small Anim. Pract. 13, 88-95.

Stringfellow, G.J., Francis, I.C., Coroneo, M.T., Walker, J., 2002. Orbital dirofilariosis. Clin. Exp. Ophthalmol. 30, 378-380.

Sun, S., Sugane, K., 1992. Immunodiagnosis of human dirofilariosis by enzyme-linked immunosorbent assay using recombinant DNA-derived fusion protein. J. Helminthol. 66, 220-6.

Szénási Z., Kovács AH., Pampiglione S., Fioravanti ML., Kucsera I., Tánczos B., Tizslavicz L., 2008. Human dirofilariosis in

Hungary: an emerging zoonosis in central Europe. *Wien. Klin. Wochenschr.* 120, 96-102.

Tamashiro, W.K., Powers, K.G., Levy, D.A., Scott, A.L., 1985. Quantitative and qualitative changes in the humoral responses of dogs through the course of infection with *Dirofilaria immitis*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 34, 292-301.

Tanaka H., Watanabe M., Ogawa Y., 1985. Parasites of stray dogs and cats in the Kanto region, Honshu, Japan. *J. Vet. Med. Sci.* 771, 657-661.

Tanaka, K., Atwell, R.B., 1991. The humoral response in natural *Dirofilaria immitis* infections in dogs. *Aust. Vet. J.* 68, 396-399.

Taylor, A.E.R., 1960. The development of *Dirofilaria immitis* in the mosquitoes *Aedes aegypti*. *J. Helminthol.* 34, 27-38.

Taylor, M.J., Bandi, C., Hoerauf, A., 2005a. *Wolbachia* bacterial endosymbionts of filarial nematodes. *Adv. Parasitol.* 60, 248-286.

Taylor, M.J., Cross, H.F., Ford, L., Makunde, W.H., Prasad, G.B., Bilo, K., 2001. *Wolbachia* bacteria in filarial immunity and disease. *Parasite Immunol.* 23, 401-409.

Taylor, M.J., Makunde, W.H., McGarry, H.F., Tuner, J.D., Mand, S., Horeauf, A., 2005b. Macrofilaricidal activity after doxycycline treatment of *Wuchereria bancrofti*: a double-blind, randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 365, 2116-2121.

Theis J.H., 2005. Public health aspects of dirofilariasis in the United States. *Vet. Parasitol.* 133, 157-180.

Theis, J.H., Gilson, A., Simon, G.E., Bradshaw, B., Clark, D., 2001. Case report: Unusual location of *Dirofilaria immitis* in a 28-yearold man necessitates orchietomy. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 64, 317-322.

Todd, K.S.Jr., Howland, T.P., 1983. Transplacental transmission of *Dirofilaria immitis* microfilariae in the dog. *J. Parasitol.* 69, 371.

Valerio L., Marini F., Bongiorno G., Facchinelli L., Zombi M., Caputo B., Maroli M., della Torre A., 2010. Host-feeding patterns of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in urban and rural contexts within Rome province, Italy. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 10, 291-294.

Valladares, B., Gijón, H., López-Román, R., 1987. *Dirofilaria immitis* en la isla de Tenerife. Algunos aspectos de su fisiopatología. *Rev. Iber. Parasitol.* 47, 377-380.

Vélez ID., Montoya MN., Prieto G., Morchón R., Simón F., 2001. Epidemiology of human dirofilariosis. En: Simón F, Genchi C. (Eds.), *Heartworm Infection in Humans and Animals*. Ediciones Universidad de Salamanca, p: 218.

Venco, L., Genchi, C., Vigevani-Colson, P., Kramer, L., 2003. Relative utility of echocardiography, radiography, serologic

testing and microfilariae counts to predict adult worm burden in dogs naturally infected with heartworms. En: Seward, R-L., Knight, D.H., (Eds.), Recent Advances in Heartworm Disease, Symposium '01. American Heartworm Society, Batavia, IL, pp: 111-124.

Venco, L., Vezzoni, A., 2001. Heartworm (*Dirofilaria immitis*) disease in dogs and cats. En: Simón, F., Genchi, C. (Eds), Heartworm infection in humans and animals, Ediciones Universidad de Salamanca, España, pp: 161-177.

Vezzani, D., Eiras, F.D., Wisnivesky, C., 2006. Dirofilariasis in SArgentina: historical review and first report of *Dirofilaria immitis* in a natural mosquito population. Vet. Parasitol. 136, 259-273.

Vieira, A.L., Vieira, M.J., Oliveira, J.M., Simões, A.R., Diez-Baños, P., Gestal, J., 2014. Prevalence of canine heartworm (*Dirofilaria immitis*) disease in dogs of central Portugal. Parasite. 21:5.

Vieira, C., Montoya, M., Agudelo, S., Velez, I.D., Simón, F., 2000. Human antibody response to a 56-kDa purified excretory/secretory product of *Dirofilaria immitis*. Trop. Med. Int. Health. 5, 855-9.

Vieira, C., Vélez, I.D., Montoya, M.N., Agudelo S, Alvarez MI, Genchi C, Simón F., 1998. *Dirofilaria immitis* in Tikuna Indians and their dogs in the Colombian Amazon. Ann Trop Med Parasitol. 92, 123-5.

Viera, C., Vélez, I.D., Montoya, M.N., Agudelo, S., Alvarez, M.I., Genchi, C., Simón, F., 1998. *Dirofilaria immitis* in Tikuna Indians and their dogs in the Colombian Amazon. Ann. Trop. Med. Parasitol. 92, 123-125.

Wakelin, D., 1984. Immunity to parasites: how parasitic infections are controlled, (2nd ed.) Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom.

Weil, G.H., Ottesen, E.A., Powers, K.C., 1981. *Dirofilaria immitis*: parasite-specific humoral and celular immune responses in experimentally infected dogs. Exp. Parasitol. 51, 80-86.

Weil, G.J., 1987. *Dirofilaria immitis*: Identification and partial characterization of parasite antigens in the serum of infected dogs. Exp. Parasitol. 64, 244-251.

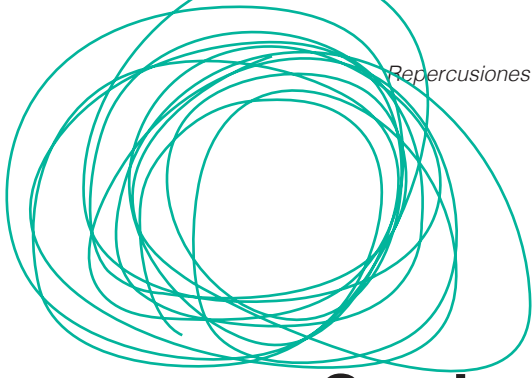
Weiner, D.J., Aguirre, G., Dubielzig, R., 1980. Etopic-site filariid infection with immunologic follow-up of the host. En: Otto, G.F., (Ed.), Proceedings of the Heartworm Symposium´80, American Heartworm Society, Bonner Springs, Kansas, pp. 51-54.

Wu CC, Fan P.C., 2003. Prevalence of canine dirofilariasis in Taiwan. J. Helminthol. 77, 83-88.

Wu, C.C., Fan, P.C., Chang, G.N., 1995 Experimental infection and microfilarial peridicity of *Dirofilaria immitis* in dogs. J. Chin. Soc. Vet. Sci. 23,117-127.

Wu, M., Sun, L.V., Vamathevan, J., 2004. Phylogenomics of the reproductive parasite *Wolbachia pipientis*: a streamlined genome overrun by mobile genetic elements. PLoS Biology. 2, E69.

Zimmerman GL., Knapp S.E., Foreyt W.J., Erekson N.T., Mackenzie G., 1992. Heartworm infections in dogs in Northwestern United States and British Columbia, Canada. En: Soll M. D. (Ed.), Proceedings Heartworm Symposium '92, American Heartworm Society, USA, pp: 15-20.



Curriculum vitae



Formación

Licenciada en Veterinaria. Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Promoción 94-99

Cursos de doctorado. Bienio 2000-2002. Programa de Patología Médica. Universidad de Las Palmas de Gran Canaria.

Diploma de estudios avanzados. Junio 2003

Varias asignaturas aprobadas de la Licenciatura de Ciencias Químicas. Universidad Nacional de Educación a Distancia. Curso 2009-2010.

Máster Universitario en Clínica Veterinaria e Investigación Terapéutica. Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Junio 2012.

Formación Complementaria

Curso de Tratamientos Homeopáticos para veterinarios (10 horas). Las Palmas. Octubre 1996.

II Curso de Avances de Sanidad Animal y Patología Medio Ambiental (20 horas). Las Palmas. Diciembre 1996.

I Seminario de Introducción a la Clínica Veterinaria de Animales de Compañía. (7 horas). Las Palmas. Marzo 1998.

Jornadas de Neurocirugía de Pequeños Animales. (10 horas). Las Palmas. Mayo 1999.

Jornadas de Hematología y Oncología Clínica en pequeños Animales. Las Palmas. Junio 1999.

I Curso Nacional de Patología de Reptiles. (15 horas). Las Palmas. Noviembre 1999.

Curso de Clínica de Aves Rapaces (15 horas). Las Palmas. Noviembre 1999.

IX Congreso Internacional de la Sociedad Española de Cirugía Veterinaria. Las Palmas. Marzo 2000.

Curso de Capacitación en Protección Radiológica para dirigir el funcionamiento de una instalación de Radiodiagnóstico Veterinario. Santa Cruz de Tenerife. Junio 2000.

Curso de Tratamiento Médico-Dietético de las Enfermedades de Pequeños Animales. Las Palmas. Noviembre 2000.

Curso de Cuidados Intensivos en Veterinaria (15 horas). Las Palmas. Marzo 2001.

Curso sobre Inspección Sanitaria y Control del Material Específico de Riesgo (MER) en la Industria Cárnica del Reino Unido (7 horas). Las Palmas. Marzo 2001.

Curso de Habilidades Docentes para Formadores (12 horas). Las Palmas. Mayo 2001.

Curso de Enfermedades Torácicas en Pequeños Animales. Las Palmas. Febrero 2002.

I Curso de Traumatología y Ortopedia de Pequeños Animales. Las Palmas. Abril 2002.

III Curso de Clínica Equina. Las Palmas. Octubre 2002.

Jornadas Técnicas CaprAA. Ganado caprino en zonas áridas: referencias específicas y condiciones para su mayor contribución al desarrollo rural. Fuerteventura. Abril 2003.

Certificado de Aptitud Pedagógica. C.A.P. (180 horas). Madrid 2003.

Curso de Extensión Universitaria: “Introducción a la Producción Animal y Vegetal en Climas Tropicales y Subtropicales en el Marco de la Cooperación Internacional” (15 horas). Las Palmas. Marzo 2003.

**Jornadas de Manejo Clínico de Aves, Reptiles y Hu-
rones** (15 horas). Las Palmas. Marzo 2003.

Curso de A.P.P.C.C. (20 horas). La Laguna. Mayo 2004.

**Curso de formación teórico-práctico sobre el anali-
zador hematológico SYSMEX XE-2100** (20 horas).
Barcelona. Mayo 2004.

**Jornada de actualización en clínica de animales exó-
ticos** (5 horas). Las Palmas. Junio 2004.

**Curso de Extensión Universitaria: Método Investiga-
dor y Diseño de Estudios en Ciencias Biomédicas
y Experimentales** (20 horas). Las Palmas. Noviem-
bre 2004.

Curso de Creación de Empresas (39 horas). Las Pal-
mas. Diciembre 2004.

Curso sobre Principios y Aplicaciones del APPCC
(28 horas). Reconocido por la Quality Society of Aus-
tralias. Las Palmas. Marzo 2005.

**Curso de Análisis Clínicos (módulo I). Consejo Gene-
ral de Colegios Oficiales de Farmacéuticos** (154
horas). Acreditado por la Comisión de Formación
Continuada del Sistema Nacional de Salud. Madrid.
Junio 2004-Diciembre 2004.

Curso de Análisis Clínicos (módulo II). Consejo General de Colegios Oficiales de Farmacéuticos (165 horas). Acreditado por la Comisión de Formación Continuada del Sistema Nacional de Salud. Madrid. Abril 2005- Diciembre 2005.

Seminario de Hematología en Pequeños Animales. Colegio Oficial de Veterinarios de Las Palmas (4 horas). Las Palmas. Junio 2007.

Programas de Formación Continuada a Distancia en el Laboratorio Clínico 2008-2015. AEFA. (77 horas). Madrid. Febrero 2008-.

Curso de Análisis Clínicos II (módulo I). Consejo General de Colegios Oficiales de Farmacéuticos (154 horas). Acreditado por la Comisión de Formación Continuada del Sistema Nacional de Salud. Madrid. Junio 2008-Diciembre 2008.

Curso de Análisis Clínicos (módulo II). Consejo General de Colegios Oficiales de Farmacéuticos (146 horas). Acreditado por la Comisión de Formación Continuada del Sistema Nacional de Salud. Madrid. Enero 2009- Julio 2009.

Curso a Distancia Actividad Transfusional y Estudios Especiales en Bancos de Sangre. Hemovigilancia (24 horas). Málaga. Enero 2010.

Curso presencial de Plan de Emergencias. Criterios de Actuación para el Personal Designado (5 Horas). Las Palmas. Febrero 2010.

Jornada presencial de Primeros Auxilios (5 horas). Las Palmas. Febrero 2010.

Curso NB Semipresencial en Capacitación para el Desempeño de Funciones de Nivel Básico (50 horas). Las Palmas. Octubre 2010.

Curso de Coaching (18 horas). Santa Cruz. Febrero 2011.

Curso de Inteligencia Emocional (12 horas). Las Palmas. Abril 2011.

Curso de Programación Neuro Lingüística – I. (8 horas) Las Palmas. Octubre 2011.

International Workshop of Dirofilaria. Las Palmas. Noviembre 2011.

Curso de Programación Neuro Lingüística – II. (8 horas) Las Palmas. Marzo 2012.

Curso de Pruebas Diagnósticas en el Laboratorio de Urgencias. Aplicación diagnóstica. (5 horas) Las Palmas, Marzo 2012.

Acción Formativa: Visión, Misión y Valores Compartidos. (8 horas) Santa Cruz. Abril 2012.

Experiencia profesional

Parque de Cocodrilos (estudiante). Las Palmas. Agosto 1998.

Facultad de Veterinaria de la Universidad de Milán en el ámbito del programa “Socrates/Erasmus” (estudiante). Milán. Curso 98/99.

Explotación caprina “Azienda Agricola Didattico-sperimentale” (estudiante). Milán. Febrero 1999.

L´ambulatorio dell´Istituto di Clinica Ostetrica e Ginecologica Veterinaria. Milán. Abril 1999.

Zoo-Acuarium de La Casa de Campo de Madrid (estudiante de postgrado). Madrid. Septiembre 1999.

Clínica Veterinaria “Vesal” (veterinaria). Santa Cruz de Tenerife. Abril 2000 - Febrero 2001.

Clínica Veterinaria “Maspalomas” (veterinaria). Las Palmas. Junio 2001 - Septiembre 2001.

Facultad de Veterinaria de la Universidad de Buenos Aires en el ámbito del programa de Cooperación Interuniversitaria (estudiante de postgrado). Buenos Aires. Septiembre 2001 - Noviembre 2001.

Peritaje judicial, relacionado con producción de vacuno (veterinaria). Las Palmas. Enero 2002.

Fundación Canaria Universitaria. Beca Innova (estudiante de postgrado). Patrocinada por **ELMASA**. Tema: “ **Uso agropecuario del agua depurada y desinfectada con luz ultravioleta: efecto en cabras**”. Las Palmas. Año 2002.

Colaboradora de Grupo de Investigación. Medicina Veterinaria y Patología Medioambiental. Las Palmas. Junio 2003.

Monitora de Formación de Manipuladores de Alimentos Básicos y de Mayor Riesgo. Las Palmas. Octubre 2004.

Laboratorio González Santiago. Análisis clínicos, de alimentos y aguas (analista). Las Palmas. Mayo 2003 - Noviembre 2004.

Tetería de las Especies (encargada). Las Palmas. Julio 2005.

Zebra Mascotas (propietaria y veterinaria). Las Palmas. Octubre 2005 – Julio 2007.

Instructora en curso del INEM de Auxiliar de Veterinaria. Las Palmas. Junio – Julio 2007.

Mediterráneo ONG Proyecto Abugida en Etiopía (voluntaria). Agosto 2011.

Laboratorio González Santiago. Análisis clínicos, de alimentos y aguas (analista). Las Palmas. Mayo 2006 -

Animal lab. Análisis clínicos veterinarios (analista y copropietaria). Las Palmas. Abril 2013-

Idiomas de interés científico

Nivel Intermedio de **Inglés.**

“Welcome to America course” at Western Maryland College. Maryland. Julio 1992.

Certificado Académico de haber superado el Ciclo Elemental del Primer Nivel de las Enseñanzas Especializadas en el idioma de Inglés. Las Palmas. Diciembre 2004.

Cursado 4º de Inglés en la Escuela Oficial de Idiomas de Las Palmas de Gran Canaria. Las Palmas.

Mayo 2004.

Nivel Intermedio de **Italiano**.

Curso de Lengua Italiana para estudiantes extranjeros
“**Socrates**”. Milán. Diciembre 1998

Congresos

EFFECTS OF RECLAIMED IN SITU FILTERED AND DISINFECTED WATER IN ANIMAL PRODUCTION (Ponencia)

Autores: JA Corbera, E Cabrera-Pedrero, C Gutiérrez, C Juste, JA Montoya, V Mendoza-Grimon, JR Fernandez-Vera, F Rodríguez, MP Palacios

Congreso: Animal Production and Natural Resources Utilization in the Mediterranean Mountain Areas

Lugar y fecha: Ioannina. Grecia, junio 2003

Publicación: Option Mediterranees

USO AGROPECUARIO DEL AGUA DEPURADA Y DESINFECTADA CON LUZ ULTRAVIOLETA: EFECTO EN CABRAS (Poster)

Autores: EC Pedrero, JA Corbera, C Gutierrez, C Juste, JA Montoya, V Mendoza-Grimón, JR Fernandez, F Rodriguez, MP Palacios

Congreso: Jornadas Técnicas CaprAA.

Lugar y fecha: Fuerteventura, junio 200

EL EFECTO DE LAS AGUAS DEPURADAS Y DESINFECTADAS COMO AGUA DE BEBIDA EN ANIMALES DE PRODUCCION: PRIMER AÑO PRODUCTIVO (Comunicación)

Autores: Corbera JA, Mendoza-Grimón V, Cabrera E, Palacios MP, Juste MC Gutiérrez C y Montoya JA

Congreso: Congreso de la Sociedad Española de Medicina Interna Veterinaria

Lugar y fecha: Zaragoza, 6-8 de noviembre de 2003.

Organizado por: SEMIV, Nacional.

SEROEPIMIOLOGIC STUDY OF D. IMMITIS IN HUMANS LIVING IN GRAN CANARIA, CANARY ISLANDS, SPAIN. (Comunicación)

Autores: Cabrera-Pedrero, ED; Mellado, I, Carretón, E ; Montoya, JA y Simón, F

Congreso: Second European dirofilaria days

Lugar y fecha: Salamanca (España), 16-18 de septiembre de 2009.

Organizado por: Departamento de Parasitología. Facultad de Farmacia Universidad de Salamanca. Internacional

SEROPREVALENCE OF HUMAN DIROFILARIASIS ON THE ISLAND OF GRAN CANARIA, CANARY ISLANDS, SPAIN (Short communication)

Autores: JA Montoya-Alonso, ED Cabrera-Pedrero, E Carre-

tón, JC Méndez, I Mellado, R Morchón & F Simón

Congreso: 7th European Congress on Tropical Medicine & International Health

Lugar y fecha: Barcelona (ESPAÑA), 3-6 october 2011.

Organizado por: Federation of European Societies for Tropical Medicine and International Health (FESTMIH). Internacional

DIROFILARIA IMMITIS EN LOS CARNÍVOROS, UN FACTOR DE RIESGO ZONÓSIDCO EN LA ISLA DE GRAN CANARIA.

(Comunicación poster)

#Autores: Montoya-Alonso JA., Cabrera-Pedrero ED., Carretón E., Méndez JC., Mellado I., Morchón R., Simón F.

Congreso: International Workshop of Dirofilaria

Lugar y fecha: Las Palmas de Gran Canaria (España). 18-19 Noviembre 2011

Organizado por: European Heartworm Society & Ilustre Colegio Oficial de Veterinarios de Las Palmas. Internacional

Publicaciones artículos

Montoya, JA; Morales, M.; Cabrera, E.D. & Sousa, A.P.

Ritmología cardiaca canina O Médico Veterinário, 12 (64): 16-26 (2000).

Ferreira, A.C.; Cabrera, E.D.; Juste, M.C. (2001): “**Transfusiones sanguíneas en gatos**”, Ciencias Veterinarias, vol. XXXII

Montoya, JA; Cabrera, E; Ruiz, P.; Ferreira, A.C; Queiroga FL y Pires MJ: **Auscultação cardiaca em pequenos animais: interpretação clinica (parte i)**. Veterinary Medicine (Port), 4 (24): 35-40, 2002

Montoya, JA; Cabrera, E; Ruiz, P; Ferreira, A.C; Queiroga FL y Pires MJ: **Auscultação cardiaca em pequenos animais: interpretação clinica (parte ii)**. Veterinary Medicine (Port), 5 (25): 35-42, 2003

Corbera JA, Macías Y, Cabrera-Pedrero E, Gutierrez C (2004). **“Análisis del Líquido Ruminal. ¿Tiene Importancia Clínica?”**. Albéitar.

Montoya-Alonso J.A, Mellado I, Carretón E, Cabrera-Pedrero ED, Morchón R y Simón F.: **Canine dirofilariasis caused by Dirofilaria immitis is a risk factor for the human population on the island of Gran Canaria, Canary Islands, Spain**. Parasitology Research, 107: 1265-1269, 2010

Montoya-Alonso J. A.; Cabrera-Pedrero E. D.; Carreton E.; Mendez JC, Mellado I, Morchón R, Simón F.; **Seroprevalence of human dirofilariasis on the island of Gran Canaria, Canary Islands-Spain**. Tropical Medicine & International Health, 16: 229, 2011

