



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
NÚCLEO DE SUCRE
ESCUELA DE CIENCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOANÁLISIS

SEROPREVALENCIA DE DIROFILARIASIS EN CANINOS DEL SECTOR
LA SANDERS, BOCA DE SABANA, MUNICIPIO SUCRE, ESTADO SUCRE

FABIANA ODETT EL HEN ROMERO

TRABAJO DE GRADO PRESENTADO COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OPTAR AL TÍTULO DE LICENCIADO EN BIOANÁLISIS

CUMANÁ, 2008

SEROPREVALENCIA DE DIROFILARIASIS EN CANINOS DEL SECTOR
LA SANDERS, BOCA DE SABANA, MUNICIPIO SUCRE, ESTADO SUCRE

APROBADO POR:

Profa. Del Valle Guilarte
Asesora Académica

Profa. Erika Gómez
Coasesora Académica

ÍNDICE

DEDICATORIA	iv
AGRADECIMIENTO	v
LISTA DE TABLA.....	vi
LISTA DE FIGURAS	vii
RESUMEN.....	viii
INTRODUCCIÓN	1
METODOLOGÍA	8
Población Estudiada	8
Recolección De Las Muestras	8
Diagnóstico Parasicológico.....	9
Diagnóstico Sexológico	10
Análisis Estadístico	11
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	12
CONCLUSIONES	23
RECOMENDACIONES	25
BIBLIOGRAFÍA	26
ANEXO 1	32
ANEXO 2.....	32
ANEXO 3.....	35
ANEXO 4.....	40

DEDICATORIA

A:

Dios y a la virgen, por darme salud, entereza y fortaleza para seguir adelante en mi formación profesional.

Mi madre, el ser más maravilloso y mi mejor ejemplo, a quien le debo todo lo que soy “te quiero mucho mami”.

Mi hermana, para que le sirva de ejemplo y estímulo en su vida.

Mi familia, la más hermosa y a la que amo tanto.

Antonio, mi novio y amigo, por apoyarme y ayudarme en este proyecto, además, enseñarme que la paciencia es la mejor herramienta para lograr las metas.

Mis amigos, que me han apoyado y me han aguantado tantas cosas.

Mi padre.

La memoria de mi tío Toño, donde quiera que estés, se que estas feliz de ver mi triunfo.

A todos aquellos que hicieron posible la realización de este sueño.

AGRADECIMIENTO

A

Las profesoras Del Valle Guilarte y Erika Gómez, por brindarme la oportunidad de trabajar con ellas y por ser más que mis profesoras mis amigas.

El Dr. Jesús Rojas, de la clínica veterinaria Mascotiendas, por servir de apoyo en la realización de este proyecto.

El Laboratorio de Parasitología del IIBCA-UDO, coordinado por el Dr. Marco Tulio Díaz, por permitirnos el uso de los microscopios para realizar las fotografías de las microfilarias.

Los habitantes del sector La Sanders, por ser tan receptivos y permitirme trabajar con sus perros.

A todos los que creyeron en mi GRACIAS.

LISTA DE TABLA

Tabla 1. Prevalencia de <i>Dirofilaria immitis</i> determinada por el método parasitológico directo en caninos del sector La Sanders, Boca de Sabana, municipio Sucre, estado Sucre.....	12
Tabla 2. Prevalencia de <i>Dirofilaria immitis</i> determinada por el método de concentración Knott modificado, en caninos del sector La Sanders, Boca de Sabana, municipio Sucre, estado Sucre.	13
Tabla 3. Seroprevalencia de <i>Dirofilaria immitis</i> determinada por ELISA, en caninos del sector La Sanders, Boca de Sabana, municipio Sucre, estado Sucre.	13
Tabla 4. Distribución porcentual de perros positivos según el tiempo de permanencia en el domicilio. Sector la Sanders, Boca de Sabana, municipio Sucre, estado Sucre.	16
Tabla 5. Distribución porcentual de perros positivos según el sexo. Sector la Sanders, Boca de Sabana, municipio Sucre, estado Sucre.....	18
Tabla 6. Sensibilidad y especificidad de la técnica parasitológica directa en el diagnóstico de <i>Dirofilaria immitis</i> . Sector La Sanders, Boca de Sabana, municipio Sucre, estado Sucre.	20
Tabla 7. Sensibilidad y especificidad del ELISA en el diagnóstico de <i>Dirofilaria immitis</i> . Sector La Sanders, Boca de Sabana, municipio Sucre, estado Sucre.....	20

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Mapa del estado Sucre.	8
Figura 2. Fotomicrografía de las microfilarias de <i>Dirofilaria immitis</i> observadas con 100X de aumento, empleando: examen directo (A), coloreadas con Giemsa (B) y método de concentración Knott modificado (C).	12
Figura 3. Comparación de la sensibilidad y especificidad de la técnica parasitológica directa y el ELISA en el diagnóstico de <i>Dirofilaria immitis</i> . Sector La Sanders, Boca de Sabana, municipio Sucre, estado Sucre.	21

RESUMEN

Se determinó la seroprevalencia de dirofilariasis en caninos del sector La Sanders, Boca de Sabana, municipio Sucre, estado Sucre. El estudio se realizó con muestras de sangre periférica obtenidas de caninos domésticos del sector, mayores de seis meses, sin distinción de raza ni sexo. A cada muestra se le aplicó un examen directo, frotis sanguíneo y la prueba serológica mediante un estuche comercial tipo ELISA cualitativo. La prevalencia obtenida del total de los perros (38) analizados en el sector, mediante el método parasitológico directo fue de 13,0%, mientras que la seroprevalencia obtenida por el método serológico fue de 21,0%. La sensibilidad y especificidad de la técnica parasitológica fue de 62,5% y 100%, mientras que del método serológico fue de 100,0% y 93,0%, respectivamente. Al comparar ambas pruebas, queda claro que las técnicas serológicas son mucho más sensibles que las parasitológicas, mientras que las parasitológicas son mucho más específicas. Por lo tanto, es importante la combinación de ambas técnicas para un diagnóstico más acertado de la dirofilariasis.

INTRODUCCIÓN

La dirofilariasis canina, también conocida como la enfermedad del gusano del corazón, es una patología parasitaria caracterizada por presentarse en forma aguda y crónica. Esta enfermedad parasitaria es causada por un nemátodo filariforme llamado *Dirofilaria immitis*, que taxonómicamente pertenece al Reino Animal, Phylum Nematelminthes Scherneider, 1987, Clase Nemátoda Rodolphi, 1808, Subclase Secernestacida Doughrty, 1958, Orden Spirurida Chitwood, 1933, Superfamilia Filarioidea Weinland, 1958, Familia Filariidae Claus, 1885, Género *Dirofilaria* Railliet y Henry, 1911, Especie *Dirofilaria immitis* (Leidy, 1856) Railliet y Henry, 1911 (Pérez *et al.*, 1999; Soulsby, 1987; Chirinos, 1998).

La superfamilia Filarioidea comprende helmintos parásitos, que se localizan en las cavidades corporales, el aparato circulatorio o el tejido conectivo de vertebrados, fundamentalmente aves y mamíferos, siendo sus hospederos definitivos el perro, el gato, el zorro, el lobo y como hospedero accidental, el hombre, en éste no se completa el desarrollo del nemátodo (Soulsby, 1987).

Existen cuatro especies de filarias, *D. immitis*, *D. repens*, *Dipetalonema reconditum* y *D. dracunculoides*, todas ellas, en su ciclo vital, presentan estadios larvarios (microfilarias) en sangre periférica, siendo la más importante la primera, por ser responsable de los procesos patológicos más graves y por su gran incidencia en la población canina. El interés de las otras especies de filarias radica, principalmente, en las repercusiones que la presencia de las microfilarias en sangre pueda tener en el diagnóstico de la dirofilariasis (Gómez y Rojo, 1990; Simon *et al.*, 1991, Muro *et al.*, 1990).

Morfológicamente el cuerpo del nemátodo adulto es delgado, de color blanco, cilíndrico, sin extremo anterior adelgazado, posee una pequeña y circular abertura oral rodeada de seis prominencias musculares, y un esófago de 1,5 mm. Los machos se distinguen de las hembras por su menor tamaño, alcanzando un máximo de 21 cm. El extremo posterior es fuertemente adelgazado, enrollado en espiral, provisto de dos

pequeñas aletas laterales, con 4-5 papilas preanales, un par de papilas grandes y 4-5 papilas pequeñas postanales. Con respecto a las espículas, la izquierda es larga y afilada midiendo 300-375 μm de longitud y la derecha es corta, roma y mide 175-229 μm ; no posee gobernáculo (Pérez *et al.*, 1999). Las hembras miden de 25-30 cm por 1-1,16 mm, poseen un extremo posterior con dos papilas, una vulva con labios gruesos situada a 2,5 mm de la abertura oral, son larvíparas (Knight, 1987) y liberan al torrente sanguíneo microfilarias que miden aproximadamente 300 μm . Las microfilarias liberadas al torrente sanguíneo por la hembra adulta tienen un promedio de vida de dos años (Grubisich, 1999), son anchas, con el extremo anterior cónico y la parte caudal larga, delgada y recta, terminada en punta. Carecen de vaina (Schrey y Trautvetter, 1998). Los gusanos adultos pueden vivir de 5 a 7 años (Pérez *et al.*, 1999).

La dirofilariasis usualmente se presenta en perros adultos, ya que el período prepatente es largo (más de 6 meses), la microfilaremia alcanza su nivel más alto a los seis meses y medio después de la infección (Johnstone *et al.*, 1997). Clínicamente este proceso crónico puede ser asintomático o caracterizarse por fatiga, tos crónica o disnea; taquicardia, anorexia y ascitis con aumento de la presión venosa y del pulso yugular son frecuentes en situaciones de fallo cardíaco congestivo. El animal presenta aspecto cansado incluso en reposo (Olson *et al.*, 1982).

El nombre de enfermedad del gusano del corazón es debido a la localización final del parásito adulto en el ventrículo derecho y en la salida de la arteria pulmonar, produciendo una arteritis vellosa y obstrucción parcial del flujo sanguíneo hacia los pulmones (Johnstone, 1998), generando daño endotelial de las arterias pulmonares, hipertensión pulmonar (Muponamunda, 1997) y neumonitis alérgica (Lok *et al.*, 2001). El asentamiento de un número elevado de vermes en la vena cava caudal es causa de un proceso agudo mortal, el cual se denomina síndrome de la vena cava (Goggin *et al.*, 1997; Smith y Rajam, 2000); adicionalmente, la muerte de los vermes puede provocar complicaciones por tromboembolización. Su forma larval recorre el torrente sanguíneo, pudiendo alcanzar otros tejidos como cerebro, riñones, ojos y piel (Juárez *et al.*, 1998) y llegar a producir, alteraciones renales (Patiño *et al.*, 1989), dirofilariasis arterial sistémica (Genchi *et al.*,

2001; Knight, 1987), falla cardíaca e infestaciones ocultas (Pérez *et al.*, 1999); además, puede afectar al hombre, aportando formas inmaduras en su tercer estadio (larva 3 o L3) localizadas en el tejido subcutáneo o parénquima pulmonar, por lo que se considera una zoonosis. La extensa patología de esta enfermedad parasitaria es atribuible, principalmente, a los vermes adultos, teniendo la microfilaria una escasa participación, aunque éstas sean muy abundantes en la circulación sanguínea (Grubissich, 1999).

El ciclo de vida de *D. immitis* comienza cuando la hembra de un mosquito generalmente de las especies *Culex pipiens*, *Culex fatigans*, *Anopheles quadrimaculatus* y *Aedes aegyptis* pica a un perro infectado que tiene en su sangre microfilarias, éstas ingresan al mosquito y experimentan un proceso de maduración que implica diferentes estadios larvarios (de larva 1 a 3). Una vez que el parásito alcanza el estadio de L3 se transforma en infectante, a partir de entonces, si el mosquito pica a otro perro, le transmite las larvas, las cuales atraviesan la piel por la punción hecha por las maxilas a través de los folículos pilosos o directamente a través de tejidos intactos y el parásito continúa su evolución, durante varios meses, hasta alcanzar el estadio adulto (Hoskins, 1996).

La dirofilariasis es transmitida del hospedero infectado al susceptible por diferentes especies de mosquitos que actúan como hospederos intermediarios; también forman parte de los vectores transmisores las pulgas caninas y felinas (*Ctenocephalidis canis* y *C. felis*) (Chirinos, 1998) además, es necesario la presencia de factores ambientales propicios para el desarrollo de sus estadios inmaduros, tales como climas templados o tropicales, presencia de humedad o aguas estancadas (Soulsby, 1987). El alcance geográfico de esta verminosis probablemente guarde relación directa con la distribución de los insectos susceptibles (Rawlings y Calvert, 1997). Puede haber además, transmisión transplacentaria, encontrándose microfilarias en los cachorros recién nacidos, sin embargo, las microfilarias así transmitidas no alcanzan el estadio adulto (Soulsby, 1987).

Algunos autores señalan que los perros que viven en el exterior de las viviendas tienen de 4 a 5 veces más probabilidad de infectarse que los animales caseros, y que los perros grandes y medianos son más susceptibles que los pequeños, quizás por el incremento

de exposición a los exteriores; además, el pelaje no parece afectar la probabilidad de infección (Rawlings y Calvert, 1997). La prevalencia local de la infección por *Dirofilaria* depende de la abundancia de mosquitos, que a su vez depende del tipo y extensión de reserva de aguas relativamente estancadas. La prevalencia estacional está determinada por la temperatura y la humedad (Georgi y Georgi, 1994).

La dirofilariasis es un problema internacional, el cual ocurre en todos los continentes, excepto en la Antártida (Leguía, 1996). Se tiene conocimiento de su presencia en varios países de Asia, África, Europa, Australia y América (Kirk, 2001). En Japón, Zyton y Belbasi (1993) (citado por Acuña, 2002) reportaron tasas de seroprevalencia de 40,0-55,0% en la población canina; en 1998, Wang (citado por Acuña, 2002) realizó un estudio en Taiwán, en el cual reportó 55,0% de infecciones por microfilarias pertenecientes a *D. immitis*. En España se reportó una seroprevalencia de 30,0-35,0% (Muro *et al.*, 1990) y recientemente se encontró que en las Islas Canarias (Tenerife), la seroprevalencia oscila alrededor de 21,0% (Montoya *et al.*, 2006).

En algunas regiones de los Estados Unidos, la seroprevalencia de *D. immitis* alcanza el 40,0% (Kirk, 2001); mientras que en México, el estudio realizado en 1996 por Sumano *et al.* (citado por Acuña, 2002), demostró una tasa de infección de 6,2%. Sin embargo, en un nuevo estudio realizado en México en el estado de Cundiacán, Tabasco, reportaron una seroprevalencia de 73,3%, Bautista *et al.* (2001) (citado por Corimanya *et al.*, 2004). Bravo *et al.* (2002), utilizando la técnica de ELISA, señaló una seroprevalencia de 7,3%, pertenecientes a los distritos de Cieneguilla, Pachacamác y Lurín aledañas a la Ribera del río Turín, Perú. Finalmente, para ese mismo año Chipana (2001), reportó una seroprevalencia de 3,0% en los distritos Puente Piedra, Comas, Carabaillo, los olivos y Ventanillas, colindantes a las Riberas del río Chillón, en la ciudad de Lima, Perú.

En Argentina, el número de perros que están expuestos a *Dirofilaria* es cada vez mayor, en un estudio realizado entre 1987 y 1988 por Bullman *et al.* (citado por Acuña, 2002) en el litoral de Argentina, se encontró una seroprevalencia de 12,0% en Formosa, 3,1% en Corrientes y 3,4% en Resistencia y posteriormente, entre 1988 y 1989 encontraron una seroprevalencia de 36,0%, 10,9% y 11,8%, respectivamente. Diversos estudios

realizados en Brasil en 1997, demuestran que la dirofilariasis tiene una seroprevalencia relativamente alta; en Río de Janeiro se encontró una tasa de infección de 21,3% y en la ciudad de Niteroi fue de 37,5% (Labarthe *et al.*, 1998). Mientras que en el año 2003, en dichas regiones, se encontró una seroprevalencia más baja, 2,0% (Labarthe *et al.*, 2003). En Venezuela, para las dos décadas pasadas no había información alguna sobre la dirofilariasis (Vezzani *et al.*, 2004). Sin embargo, se reportaron 15 casos de *D. immitis* en diferentes regiones del estado Zulia, donde esta parasitosis ocurre con cierta frecuencia (Vale *et al.*, 2005).

Tradicionalmente la primera línea de diagnóstico para la infección es el examen clínico- parasitológico, el cual se basa en los signos clínicos y la observación directa de las microfilarias en sangre periférica (Johnstone *et al.*, 1997). No obstante, en algunas ocasiones, cuando la microfilaremia es baja, es necesario recurrir a las técnicas de concentración. Existen diferentes procedimientos de concentración, unos basados en la filtración a través de membrana, otros en la centrifugación, previa hemólisis de la muestra. Los métodos de concentración son mejores a los de montaje húmedo de sangre, siendo el estándar la técnica de Knott modificado con el cual es posible procesar con eficiencia gran número de muestras y es más precisa la identificación de las especies de filaria por su aspecto morfológico (Knight, 1997).

Las pruebas de concentración están indicadas para planificar programas de mantenimiento de salud anual o semi anuales, examinar perros con signos típicos de dirofilariasis y determinar la eficacia de los tratamientos microfilaricidas. El estudio de concentración Knott es más confiable, aunque puede también tener un error que fluctúa entre el 10,0 y el 67,0% (Ching Cheng y Cheng Chen, 1997); antes de poder hacer el diagnóstico de una infección oculta, las pruebas de concentración deben ser negativas al menos en 2 o 3 ocasiones (Rawlings y Calvert, 1997). Es por ello que, en ausencia de confirmación parasitológica, el diagnóstico descansa en la presencia de signos clínicos sugestivos, eosinofilia y detección de anticuerpos antifilaria, todo ello unido a procedencia o estancia, generalmente prolongada, en zonas endémicas (Olness *et al.*, 1987).

En consecuencia, a partir de 1992, la Sociedad Americana del Parásito del Corazón, estableció la implementación de exámenes serológicos rutinarios de diagnóstico como una vía para el manejo y control de la enfermedad de la población canina (Hong *et al.*, 1996). Los métodos serológicos se basan en la detección de antígenos de *D. immitis* o anticuerpos presentes en el organismo parasitado (Knight, 1997). Se han desarrollado varios métodos inmunológicos para la detección de anticuerpos en caninos expuestos, pero los ensayos utilizados presentan reactividad cruzada con otras helmintiasis y no diferencian entre infección activa o pasada. Se ha descrito predominio de anticuerpos idiotipo IgG₄ frente a antígenos específicos obtenidos de extractos de gusano adulto, microfilarias o mediante técnicas de recombinación. La sensibilidad y especificidad de estos ensayos oscila entre 56,0-98,0% y 78,0-98,0%, respectivamente, en función de los antígenos utilizados y de la presencia o no de microfilarias en sangre (Klion *et al.*, 2003).

Desde la década de los 90, se cuenta con pruebas inmunoenzimáticas (ELISA) comerciales para el diagnóstico de *D. immitis*, las cuales son más sencillas y tienen un elevado porcentaje de sensibilidad y especificidad. Estas pruebas se realizan mediante el empleo de estuches comerciales como por ejemplo el «Dirochek» (Laboratorio Symbiotics®), el cual es específico para la detección de antígenos de excreción y secreción de *D. immitis* (Gómez *et al.*, 1999). Al mismo tiempo, se cuenta con un test cualitativo rápido (Speed®Diro), de un solo paso, muy sencillo de utilizar basado en la técnica de la inmunocromatografía en sandwich para la detección de antígenos de *D. immitis*.

La especificidad y sensibilidad de las inmuno-valoraciones enzimáticas actuales para el antígeno circulante del gusano del corazón, comparadas con un examen directo para microfilarias, han hecho que estas pruebas sean el principal método de identificación prospectiva de la infección en perros asintomáticos y en perros que tienen signos ambiguos de la enfermedad (Knight, 1997).

En Venezuela, se utiliza el estuche comercial Snap® 3Dx® de IDEXX (laboratorios Inc.), para el diagnóstico de la enfermedad del gusano del corazón, utilizado para la determinación de antígenos de excreción-secreción de los vermes adultos hembras, pero

debido al alto costo del mismo, el diagnóstico se realiza fundamentalmente mediante la observación directa de microfilarias en sangre y por técnicas de concentración (técnica de Knott). Particularmente, en el estado Sucre, el diagnóstico de *D. immitis* no se hace de manera rutinaria, por lo que no existe reporte alguno de prevalencia de esta zoonosis en el estado.

Por lo anteriormente expuesto, se determinó la seroprevalencia de dirofilariasis en caninos del sector La Sanders, Boca de Sabana, municipio Sucre, estado Sucre, lo que significa un importante aporte epidemiológico para el municipio, que permitirá la aplicación de programas de prevención para una enfermedad que ha sido reconocida por la Organización Mundial de la Salud como una zoonosis (OMS, 1987), resultando beneficiosa no sólo para la población canina en estudio, sino para la comunidad en general, ya que *Dirofilaria immitis* pudiera alcanzar accidentalmente al hombre llegando a constituir a largo plazo un problema de salud pública.

METODOLOGÍA

Población Estudiada

En el desarrollo de este trabajo de investigación, participaron 38 perros domésticos, todos mayores de 6 meses, sin distinción de raza ni sexo, del sector La Sanders, Boca de Sabana, municipio Sucre, estado Sucre (Anexo 1A). Tomando en consideración el último censo de la zona, en marzo de 2006, se puede señalar que dicho sector cuenta con un total de 131 familias, 96 casas (en su mayoría con paredes de bloque y piso de cemento), y un total de 441 habitantes (El Sr. Márquez, vocero principal del consejo comunal La Sanders, comunicación personal).

El sector La Sanders, limita por el norte con el cerro Pan de Azúcar, por el sur con la avenida Andrés Eloy Blanco, por el oeste la canal La Sanders y por el este con la entrada de Boca de Sabana. Cuenta con una temperatura media anual de 24 a 26 °C, con un clima de cálido a húmedo tropical, el cual varía según el relieve, al igual que en el resto del municipio Sucre. Es importante destacar, que se encuentra aledaño a las riberas del Río Manzanares, uno de los ríos más caudalosos e importantes del estado Sucre (Instituto Nacional de Estadística, INE) (figura 1).



Figura 1. Mapa del estado Sucre.

Recolección De Las Muestras

A los propietarios de cada perro, se les aplicó una encuesta clínico-epidemiológica

(Anexo 2), con la finalidad de conocer en detalle la clínica, y condiciones generales de cada animal, y se les entregó un consentimiento informado (Anexo 3), dándole a conocer la naturaleza, propósitos, inconvenientes y riesgos de la investigación. Posteriormente, se escogieron dos días por semana para la recolección de las muestras, la cual tuvo una duración de 4 meses. Para la valoración clínica y la toma de las muestras sanguíneas se contó con la colaboración de un Médico Veterinario, quien procedió a la extracción de 10 ml de sangre por punción venosa, previa asepsia de la vena yugular de cada animal. Las mismas, fueron tomadas en horas de la tarde de 1:00 a 3:00 pm, debido a la disponibilidad del Médico Veterinario (Anexo 1B).

Las muestras fueron distribuidas equitativamente en 2 tubos (con y sin anticoagulante) para ser usadas en el diagnóstico parasitológico y serológico, y fueron trasladadas en cavas con hielo al Laboratorio de Especialidades Parasitológicas del Departamento de Bioanálisis, Escuela de Ciencias, Universidad de Oriente, Núcleo de Sucre. Los tubos sin anticoagulante, fueron centrifugados por 15 minutos a 549,5 g en una centrífuga Digisystem para la obtención de los sueros, los cuales fueron trasvasados a tubos Eppendorf de 1,5 ml para ser conservados a -20°C hasta su posterior uso, y los tubos heparinizados fueron usados inmediatamente después de la recolección para la realización del estudio parasitológico.

Diagnóstico Parasitológico

Una vez tomadas las muestras sanguíneas, y trasladadas al laboratorio, se llevó a cabo el examen directo de la sangre, que consistió en la colocación de una gota (20 µl aproximadamente) de la misma entre lámina y laminilla, para ser vistas al microscopio con objetivo de 10X, con la finalidad de observar la presencia o no de las microfilarias. Al mismo tiempo, se realizaron extendidos sanguíneos, fijados con metanol por 1 minuto y teñidos con Giemsa por 2 minutos, lo cual facilitó la observación microscópica de la morfología parasitaria.

Posteriormente, se empleó la técnica de concentración Knott, para la cual se mezcló 1

ml de sangre con 9 ml de formol al 2%, después se centrifugó a 137,4 g durante 5 minutos. Se descartó el sobrenadante y se colocó entre lámina y laminilla una muestra del sedimento, coloreado con azul de metileno al 1% para poder realizar el diagnóstico de acuerdo a las características morfológicas y biométricas de las larvas (Soulby, 1987).

Diagnóstico Sexológico

El diagnóstico serológico se llevó a cabo empleando un estuche comercial (Snap® 3Dx®) de IDEXX laboratorios, Inc., tipo ELISA cualitativo, para el diagnóstico *in Vitro* simultaneo de antígenos de *D. immitis*, enfermedad de Lyme y *Erlichia canis* en suero, plasma o sangre total canina.

Cada caja de estuches Snap® 3Dx®, cuenta con un conjugado anti-HW/LY/EC:HRPO (*D. immitis*, enfermedad de Lyme, *E. canis*), soporte de reactivos, pipetas cuentagotas, tubos de ensayos y dispositivos Snap. Cada dispositivo Snap contiene 0,4 ml de solución de lavado y 0,6 ml de solución de sustrato.

Para el procedimiento de análisis se utilizaron sueros preservados a -20 °C, previamente descongelados y equilibrados a temperatura ambiente durante 30 minutos, para luego ser centrifugados nuevamente a 549,5 g por 10 minutos.

Con la pipeta del estuche, se vertieron 3 gotas de muestra en un tubo de ensayo nuevo. Posteriormente, se agregaron 4 gotas del conjugado al tubo de ensayo, sosteniendo el mismo en posición vertical. Con la misma pipeta, se mezcló 5 veces el contenido del tubo.

Se colocó el dispositivo sobre una superficie horizontal y se prosiguió a agregar la totalidad del contenido con la pipeta, teniendo cuidado de no salpicar el contenido fuera del recipiente de muestra.

La muestra fluyó por la ventana de resultados, alcanzando el círculo de activación en

aproximadamente 30-60 segundos. Inmediatamente después que apareció color (azul) en el círculo de activación, se presionó el activador con firmeza hasta que quedó al ras con el cuerpo del dispositivo.

Los resultados fueron determinados transcurridos 8 minutos como lo indica la prueba, leyendo las colonias de reacción en la ventanilla de resultados. Un resultado positivo, se manifiesta con la aparición de color azul en la mancha de la muestra que contiene antígenos de *D. immitis* (Anexo 4).

Análisis Estadístico

Una vez determinado el número de perros positivos tanto por el método serológico, como por el método parasitológico directo, se calculó la seroprevalencia de la misma y se comparó con la prevalencia obtenida por el método parasitológico, calculando el índice de concordancia entre ambas. Al mismo tiempo, se calculó la sensibilidad y especificidad de cada una de las pruebas para ser comparadas con el método clásico de concentración Knott modificado, el cual fue utilizado como método de referencia.

También se utilizó la prueba de χ^2 con la corrección de Yates, para la comparación estadística de las variables sexo y permanencia o no de los perros dentro del domicilio. (Hanrahan y Madopu, 1994).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Con el fin de expresar claramente los resultados, se han elaborado tablas y figuras donde se exponen de manera detallada los datos obtenidos. En este sentido, la figura 2 muestra las microfilarias observadas con las distintas técnicas parasitológicas empleadas y las tablas 1, 2 y 3 muestran las prevalencias y seroprevalencias de *Dirofilaria immitis* en los caninos sometidos a estudio.

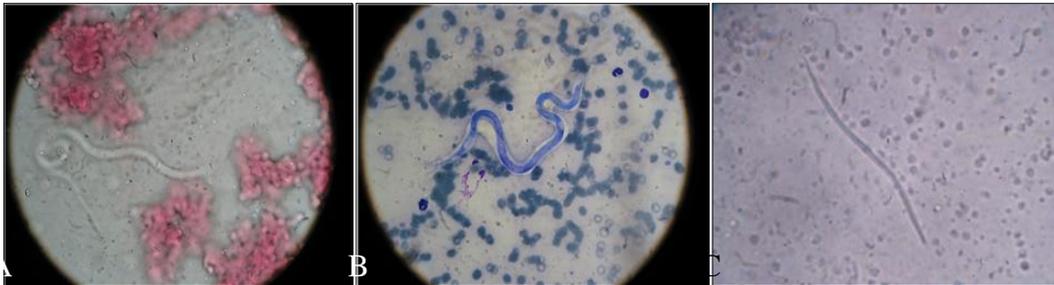


Figura 2. Fotomicrografía de las microfilarias de *Dirofilaria immitis* observadas con 100X de aumento, empleando: examen directo (A), coloreadas con Giemsa (B) y método de concentración Knott modificado (C).

Tabla 1. Prevalencia de *Dirofilaria immitis* determinada por el método parasitológico directo en caninos del sector La Sanders, Boca de Sabana, municipio Sucre, estado Sucre.

Caninos	Nº	%
Positivos	5	13,0
Negativos	33	87,0
Total	38	100,0

Tabla 2. Prevalencia de *Dirofilaria immitis* determinada por el método de concentración Knott modificado, en caninos del sector La Sanders, Boca de Sabana, municipio Sucre, estado Sucre.

Caninos	Nº	%
Positivos	6	16,0
Negativos	32	84,0
Total	38	100,0

Tabla 3. Seroprevalencia de *Dirofilaria immitis* determinada por ELISA, en caninos del sector La Sanders, Boca de Sabana, municipio Sucre, estado Sucre.

Caninos	Nº	%
Positivos	8	21,0
Negativos	30	79,0
Total	38	100,0

Utilizando el diagnóstico serológico, de un total de 38 muestras analizadas, se hallaron 8 perros positivos, lo que indica que la seroprevalencia obtenida por la técnica de ELISA fue mayor (21,0%) que las prevalencias determinadas por el estudio parasitológico directo (13,0%) y el método de concentración Knott (16,0%), los cuales permitieron detectar sólo 5 y 6 de los casos positivos, respectivamente.

Así mismo, se pudo observar que el 21,0% del total de los perros analizados por el método serológico ELISA, presentaron antígenos de *D. immitis*, mientras que por los métodos parasitológicos, directo y Knott modificado se observaron microfilarias en sangre periférica en un 13,0% y 16,0% correspondientemente, encontrándose un índice de concordancia entre el examen directo y el Knott de 98,0% y de 89,0% entre el Knott y la técnica de ELISA.

La prevalencia de dirofilariasis puede variar mucho de acuerdo al tipo de método que se use para su diagnóstico, pero ante una sospecha de dirofilariasis, es la detección del parásito, el único diagnóstico etiológico certero. Por lo común, las microfilarias de *D. immitis* son numerosas y su movimiento se detecta con facilidad mediante el examen

microscópico de una gota de sangre fresca. Sin embargo, el empleo de técnicas de concentración es importante, de lo contrario un número importante de casos no serán acertados (Stein y Lawton, 1973; Wylie, 1970). La técnica de Knott modificada es el método clásico de concentración sanguínea (Acevedo *et al.*, 1981), es por ello que la misma continúa siendo el método de referencia con el cual todos los demás métodos de detección de las microfilarias se comparan.

Podría decirse que las bajas prevalencias obtenidas por los métodos parasitológicos (directo y Knott) pudiera deberse a la amicrofilaremia, la cual puede ser causada por: las localizaciones ectópicas de los vermes adultos, éste tipo de infestaciones acontecen cuando los adultos de *D. immitis* no migran al corazón o a la arteria pulmonar, localizándose en otros órganos del animal, en estos casos, la infestación, puede o no ocasionar sintomatología, dependiendo de la localización de los vermes adultos; Infestaciones por vermes de un sólo sexo, en estos casos la fertilización no es posible y por tanto, no existen microfilarias en la sangre circulante. Infestaciones en período de prepatencia, en los que los adultos están en el corazón, pero al no haber alcanzado la madurez sexual no producen microfilarias; Infestaciones con otros hemoparásitos tratadas con fármacos microfilaricidas, como la ivermectina; Infestaciones estériles debido a la respuesta inmunitaria del perro que producen anticuerpos frente a la liberación de microfilarias por la hembra (Calvert, 1987; Courtney y Zeng, 1989).

Otra razón que pudiera reflejar las menores prevalencias por ambos métodos, es la hora de toma de muestra para este estudio (1:00 y 3:00 pm.), ya que la presencia de microfilarias en sangre periférica, está sometida a una determinada periodicidad. Por lo tanto, aunque las microfilarias puedan estar presentes en la circulación, siempre se ha encontrado un mayor número de éstas en sangre periférica en determinados momentos del día. Así, Catcott (1979) señala un máximo de microfilarias en las últimas horas de la tarde, mientras que Grieve y Lauria (1983) señalan que el máximo se produce entre las 12 y 4 de la tarde. En general, estas novedades han demostrado que las pruebas de diagnóstico basado en microfilarias (directo, knott) dan grandes fallos diagnósticos (filariosis ocultas).

En un estudio realizado en las costas del estado de Paraná, Brazil, por Reifur *et al.* (2004), se usaron tres métodos para la determinación de microfilaremia en caninos, el examen directo en sangre periférica y dos métodos de concentración (filtración y Knott modificado) donde se señala que ambas pruebas de concentración eran notablemente más eficaces que el examen directo para confirmar microfilaremia, pero que sin duda la técnica de concentración Knott modificada era aún mejor porque permitía la diferenciación de las microfilarias. Sin embargo, no descartan la posibilidad de infecciones ocultas, por lo que recomiendan la confirmación de los resultados con pruebas serológicas, ya que estas pruebas suelen ser más sensibles.

El empleo de técnicas inmunodiagnósticas o serológicas en la dirofilariasis está recomendado en aquellos casos en que los animales presenten signos clínicos que hagan sospechar de la presencia de la enfermedad, pero que no se pueda poner en evidencia la presencia de microfilarias utilizando métodos microscópicos. La identificación o la detección de antígenos o de anticuerpos en muestras séricas en casos de amicrofilaremia, son las pautas que se deben seguir en el diagnóstico de laboratorio. Un importante apoyo al diagnóstico etiológico son las imágenes radiográficas, los electrocardiogramas y la ecocardiografía. Esta última es de gran ayuda en casos de síndrome de vena cava y en el diagnóstico de tromboembolización severa postratamiento adulticida (Stein y Lawton, 1973; Wylie, 1970). Sin embargo, estas últimas son bastante costosas y en el estado Sucre no se realizan de rutina a caninos domésticos.

La seroprevalencia de infección por *D. immitis*, hallada en este estudio por primera vez en el estado Sucre (21,0%), fue bastante alta comparada con los reportes de otras partes del mundo, Francia 0,8% (Ducos de Lihatte, 1990), Sydney 11,4% (Bidgood y Collins, 1996), Colorado 0,3% (Macy *et al.*, 1991), Tennessee 13,8% (Patton y McCracken, 1991), sin embargo, es similar a la reportada por Corimanya *et al.* (2004), quienes detectaron 6 animales positivos por la técnica inmunológica, e igual a la obtenida por Montoya *et al.* (2006), quienes reportaron una seroprevalencia de 21,0% para la enfermedad del gusano del corazón, en la isla de Tenerife, España.

Es importante señalar, que la zona estudiada, cuenta con las condiciones climáticas favorables para el desarrollo de los vectores transmisores de la enfermedad lo que hace propicia la presencia y diseminación de la misma, además, de encontrarse cercana a la ribera del río Manzanares, al igual que el estudio realizado por Acuña, (2002), cuyos casos positivos fueron hallados en algunas provincias colindantes al río Chillón, Perú.

En la tabla 4 se muestra la distribución de los casos de *D. immitis* según la variable tiempo de permanencia en el domicilio; donde se puede apreciar que el grupo de perros que se encontraban dentro del domicilio la mayor parte del tiempo, estuvo más afectado que el grupo que se encontraba fuera del domicilio (en la calle) durante varias horas del día. Lo cual no mostró diferencias estadísticamente significativas ($\chi^2 = 0,27$; $p < 0,05$).

Se debe señalar, que en la mayoría de las casos, los animales permanecían dentro de las casas pero en la parte posterior o patios abiertos quedando igualmente desprotegidos y expuestos a la picadura de los mosquitos transmisores, que aquellos perros que frecuentaban la calle durante varias horas del día. Con respecto a esta variable Rawlings y Calvert (1997) indicaron que aquellos animales que viven o permanecen en el exterior de las viviendas tienen de 4 a 5 veces mayor probabilidad de infectarse que aquellas que se encuentran en el interior de las mismas.

Tabla 4. Distribución porcentual de perros positivos según el tiempo de permanencia en el domicilio. Sector la Sanders, Boca de Sabana, municipio Sucre, estado Sucre.

<i>Permanencia en domicilio</i>	<i>Positivos n (%)</i>	<i>Negativos n (%)</i>	<i>Total</i>	χ^2
Dentro	5 (62,5)	21(70,0)	26	0, 27 ns
Fuera	3 (37,5)	9 (30,0)	12	
Total	8 (100,0)	30 (100,0)	38	

ns: no significativo

En la tabla 5 se muestra la distribución de los casos de *D. immitis* según el sexo, observándose que el grupo de perros machos se vio más afectado por el nemátodo que el

grupo de hembras. El análisis estadístico, no mostró asociación significativa entre el sexo y la dirofilariasis ($\chi^2=0,79$; $p<0,05$).

Calvert (1994) pone de manifiesto que los perros machos suelen infectarse con mayor frecuencia que las hembras, quizás por el incremento de exposición a los exteriores. Aunque la influencia del sexo en esta infección ha sido investigada por diferentes autores, no se han determinado las causas concluyentes.

Tabla 5. Distribución porcentual de perros positivos según el sexo. Sector la Sanders, Boca de Sabana, municipio Sucre, estado Sucre.

<i>Sexo</i>	<i>Positivos (%)</i>	<i>Negativos (%)</i>	<i>Total</i>	χ^2
Machos	5 (62,5)	14 (46,6)	19	0,79 ns
Hembras	3 (37,5)	16 (53,3)	19	
Total	8 (100,0%)	30 (100,0)	38	

ns: no significativo

La proporción de machos y hembras hallada en este estudio (5:3) fue muy similar a la proporción obtenida por Corimanya *et al.* (2004) y por Rawlings y Calver (1992), quienes indicaron que el parásito es más frecuente en machos que en hembras en una relación (5:1) y (4:1), respectivamente. En la población canina estudiada en el sector La Sanders, los resultados demuestran que el sexo y el tiempo de permanencia del perro en el domicilio, no constituyen factores de riesgo para la presentación de la infestación.

El grupo etario más afectado por este nemátodo fue el de perros entre 2 y 9 años, y aunque en el presente estudio no se evaluó la relación de la edad, con la presencia de *Dirofilaria* (por no tener la edad de algunos de los perros), ésta representa para diversos investigadores un factor muy importante. En animales menores de un año es raro que se detecte la infestación, ya que el parásito tiene una prepatencia de 6 a 7 meses; un perro menor de 1 año es muy infrecuente que pueda albergar vermes adultos, sin embargo, sí es posible que tenga microfilarias en su sangre si la madre estaba infestada en la gestación, pero las larvas así transmitidas no alcanzan el estadio adulto (Selby *et al.*, 1980). La transmisión transplacentaria de las microfilarias demostrada por Mantovani y Jackson, (1966) aunque parece producirse raramente, convierte al cachorro en un portador de estas microfilarias (Beugnet *et al.*, 1994).

Mantovani y Jackson (1966) encontraron correlación entre la edad de los perros y la prevalencia; perros con edades entre 6 meses-1 año, 1-2 años, 2-3 años, 3-5 años y perros con más de 5 años presentaron prevalencia de 7,7%, 33,3%, 53,0%, 77,4% y 80,0%, respectivamente. Sin embargo, los estudios de regresión realizados por ellos, mostraron que la relación no era lineal, y la edad no tenía un simple efecto acumulativo.

La mayoría de los animales que participaron en el estudio eran mestizos, por lo cual se decidió no tomar en cuenta la raza para el análisis estadístico; no obstante, para algunos autores, la raza o factores relativos a ella, como el tipo de pelaje o el tamaño del animal, no tienen ninguna influencia en el riesgo de infestación (Grieve *et al.*, 1983; Walters y Lavoipierre, 1984). Sin embargo, en el estudio realizado por Gamarro (1985) se reflejó la dependencia de la raza con la incidencia de la parasitosis, tanto a nivel de visualización directa como en la respuesta inmunológica por parte del perro. Así, las altas prevalencias que pueden encontrarse en determinadas razas de perros (por ejemplo: pastor alemán, galgo, podenco) están relacionadas con un mayor riesgo de exposición al mosquito vector debido al tipo de actividad que realizan (caza, competición, guardia, pastoreo) y a los frecuentes desplazamientos a que son sometidos.

Las tablas 6 y 7 muestran la sensibilidad y especificidad de las técnicas utilizadas para el diagnóstico de *D. immitis* en los caninos en estudio, con respecto al método de concentración Knott modificado, tomado como prueba de referencia para el análisis.

Tabla 6. Sensibilidad y especificidad de la técnica parasitológica directa en el diagnóstico de *Dirofilaria immitis*. Sector La Sanders, Boca de Sabana, municipio Sucre, estado Sucre.

<i>Sensibilidad %</i>	<i>Especificidad %</i>
83,0	100,0

Tabla 7. Sensibilidad y especificidad del ELISA en el diagnóstico de *Dirofilaria immitis*. Sector La Sanders, Boca de Sabana, municipio Sucre, estado Sucre.

<i>Sensibilidad %</i>	<i>Especificidad %</i>
100,0	93,0

Por ultimo, en la figura 3 se comparan la sensibilidad y especificidad de los dos métodos utilizados en el diagnóstico de *D. immitis*.

Se pudo observar que la sensibilidad de la técnica ELISA fue mayor que la obtenida por la técnica parasitológica directa. Es importante agregar que los métodos parasitológicos (examen directo, Knott) son relativamente sencillos pero de baja sensibilidad (Martín *et al.*, 1991). La parasitosis por vermes de un solo sexo, los períodos de incubación, en general la dirofilariasis oculta y las bajas parasitemias son causas frecuentes de falsos negativos, parasitológicamente hablando. Además, el método parasitológico directo está basado en la determinación de microfilarias en sangre, y tiene un mayor margen de error en el diagnóstico, ya que la identificación y diferenciación de las larvas de *D. immitis* pudieran confundirse con las de *Dipetalonema reconditum* (Hernández, 1958).

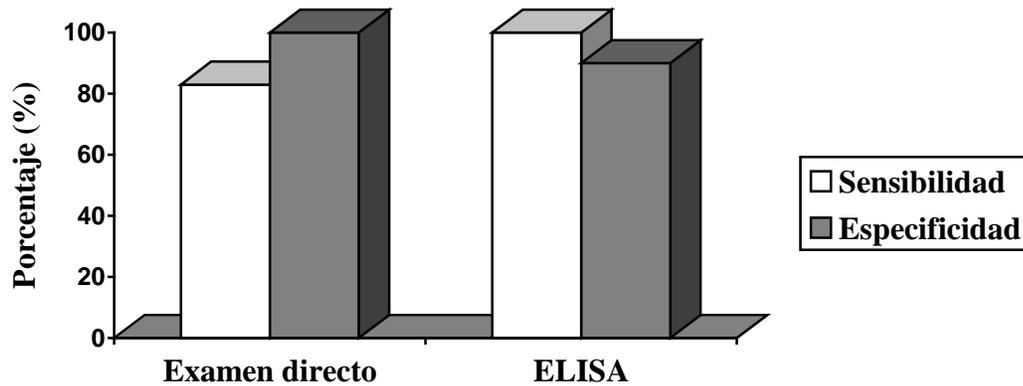


Figura 3. Comparación de la sensibilidad y especificidad de la técnica parasitológica directa y el ELISA en el diagnóstico de *Dirofilaria immitis*. Sector La Sanders, Boca de Sabana, municipio Sucre, estado Sucre.

El diagnóstico inmunológico dirigido a la búsqueda de anticuerpos anti *D. immitis*, posee una menor especificidad (Calvert, 1987; Courtney *et al.*, 1989), ya que tiene una gran cantidad de falsos positivos; en primer lugar por las posibles reacciones cruzadas con parásitos intestinales del perro (*Toxocara canis*, *Toxascaris leonina*, *Ancylostoma caninum* y *Uncinaria stenocephala*) y con otras filarias (*Dipetalonema recondituns*), en segundo lugar, porque la respuesta inmune de los hospederos muy parasitados puede verse suprimida debido a la alteración que estos animales sufren a lo largo del tiempo. También pueden dar falsos positivos, en casos en que el animal haya estado en contacto con el parásito, sin que haya adquirido la parasitosis (Konno *et al.*, 1995; Grieve, 1990). Igualmente, la presencia de un importante número de antígenos permanentes, en contacto con el sistema inmune, hace que disminuyan los anticuerpos circulantes, llegando a negativizarse la reacción (Wong, 1964; Weiner y Bradley, 1972; Weil *et al.*, 1981; Pacheco, 1996). Por otra parte, los perros tratados con ivermectina también resultan positivos (Calvert, 1987).

Todo ello ha hecho posible que este tipo de pruebas hayan sido sustituidas por pruebas basadas en la detección de antígenos parasitarios en el suero. En contraste con las pruebas basadas en detectar anticuerpos, la detección de antígenos es mucho más específica y no se encuentran falsos positivos debidos al reconocimiento de antígenos de las otras tres especies de filarias.

Diferentes autores concuerdan con lo anteriormente expuesto, Gorgulho *et al.* (1999) y Kwung Fan *et al.* (2001), consideran a la técnica de ELISA como importante y esencial, por ser más sensible en el diagnóstico de la enfermedad, cuando se detecta antígenos de excreción-secreción del parásito.

En este estudio, la prueba serológica ELISA que se utilizó, fue mucho más confiable para diagnosticar la enfermedad, debido a que detecta antígenos de excreción-secreción de vermes adultos hembras, permite diagnosticar dirofilariasis ocultas e infecciones unisexuales por hembras, entidades que con los otros métodos (examen directo, métodos de concentración, etc.) no se pueden identificar. Sin embargo, esta prueba puede presentar un margen de error de 2% en casos poco comunes de infección unisexual por parásitos machos. La sensibilidad obtenida en este estudio mediante el uso del estuche comercial fue comparada con la indicada por la casa comercial, en la cual presenta una sensibilidad de 92,9% (n=28) y 79,2% (n=24) en perros con una carga muy baja de filarias. Mientras que la sensibilidad calculada en muestras de perros con ≥ 2 filarias hembras fue de 99,2% (estudio 1) y 97,4% (estudio2) (IDEXX Laboratorios, 2006).

Si bien es cierto que la técnica parasitológica es menos sensible que la técnica de ELISA, se observa también, que esta presentó una mayor especificidad, lo cual indica que permite clasificar correctamente a un perro enfermo en un 100,0%. La demostración de las microfilarias de *D. immitis* en la sangre es el método más simple pero más preciso para diagnosticar la infestación por gusanos cardíacos, ya que si está viendo las microfilarias en sangre periférica, se tiene la certeza absoluta de lo que se está observando. Por tal motivo y en consideración con lo anteriormente expuesto, se puede decir, que a pesar de que las técnicas serológicas son más avanzadas que las parasitológicas, estas últimas no deben dejarse a un lado, porque podrían orientarnos sobre la presencia o no de la parasitosis.

Al comparar las frecuencias halladas en el presente estudio, con los diferentes resultados de prevalencia y seroprevalencia de *D. immitis* obtenidos por otros autores y tomando en cuenta que el sector La Sander, municipio Sucre, estado Sucre, cumple con

todas las condiciones necesarias para la existencia de los vectores, en cuanto a clima, humedad, presencia de aguas estancadas, se puede decir que la dirofilariasis canina puede permanecer o mantenerse en el tiempo en dicho sector y posiblemente en sectores aledaños.

El municipio Sucre cuenta con numerosos sectores populares, con las condiciones ya mencionadas, como las del sector La Sanders, para que los mosquitos transmisores de la infección se alberguen en ellos, poniendo en riesgo la salud de todos esos animales que se encuentran tanto dentro de las viviendas como fuera de ellas, por lo cual la dirofilariasis pudiera llegar a constituir un problema de salud pública para la población en general. Por esta razón, fue muy importante el estudio realizado, ya que permitió establecer por primera vez la prevalencia de la enfermedad en una población del municipio Sucre, estado Sucre, así, como sus causas y las consecuencias que esta puede ocasionar a muy corto o largo plazo, tanto en animales, como en humanos.

Por tal motivo, es importante la información y propagación de los siguientes resultados, ya que futuros estudios sobre la enfermedad pudieran permitir un enfoque más amplio del establecimiento de la misma y de los vectores transmisores, la posible infestación en todo el municipio y en el resto del estado, así, como también el riesgo de infección en seres humanos.

CONCLUSIONES

Se estableció por primera vez la presencia de *D. immitis* en una población del municipio Sucre, estado Sucre.

La dirofilariasis canina debe ser diagnosticada de forma integral considerando los aspectos clínicos, epidemiológicos y de laboratorio, ya que generalmente los perros no presentan signos patognomónicos. Además, es importante la utilización de más de una técnica para el diagnóstico de la enfermedad, tomando en cuenta la sensibilidad y especificidad de las mismas.

Los caninos positivos para *D. immitis*, en la comunidad estudiada, representan un

foco importante de infección activa, tanto para otros animales como para todos los habitantes de esa localidad, pudiendo alcanzar otros sectores aledaños al mismo.

RECOMENDACIONES

Se recomienda continuar el estudio en otras zonas vecinas al sector La Sanders y que forman parte conjuntamente de Boca de Sabana, municipio Sucre. Así mismo, en otros municipios aledaños a distintos ríos del estado Sucre y con condiciones favorables para el establecimiento de la enfermedad.

Es importante, tomar en cuenta para próximos estudio las horas que estén mas asociadas a la periodicidad de las microfilarias, además de incluir otros animales como los gatos, que también puedan verse afectados por este nemátodo.

Al mismo tiempo se recomienda realizar charlas, jornadas, que hagan referencia a la existencia de la enfermedad en la región, a fin de concientizar a la colectividad, sobre el problema de salud pública que la misma implica, no solo a la población canina, sino para la comunidad en general.

La dirofilariasis pudiera comportarse como una enfermedad ocupacional, afectando al personal Médico Veterinario, por lo que se le recomienda tomar las medidas preventivas pertinentes al examinar y tratar a los caninos infectados.

BIBLIOGRAFÍA

Acuña, P. 2002. Determinación de la prevalencia de *Dirofilaria immitis* en los distritos de San Martín de Porres Lima y Rimac. Tesis para optar el título de Medicina Veterinaria. Facultad de Medicina Veterinaria. Universidad de Perú, Decana de América. Lima.

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

Beugnet, F.; Rous, V.; Leurs, M. y Chardonnet, L. 1994. Effect of age in cardiopulmonary canine dirofilariasis. Choice of date for commencement of chemoprophylaxis. *Rev Med Vet.* 145(1): 59-64.

Bidgood, A. y Collins, G. 1996. The prevalence of *dirofilaria immitis* in dogs in Sydney. *Australian Vet J.* 73(3): 103-104.

Bravo, R.; Chavez, E. y Casas, F. 2002. Estudio de la dirofilariasis canina en las riberas de río Lurín Perú. *Rev Inv Vet.* 13: 80-83.

Calvert, C. 1987. Confirming a diagnosis of heartworm infection in dog. *Vet Med.* 1: 232-237.

Calvert, C. 1994. Manual clínico de pequeñas especies Birchard/Sherding. McGraw-Hill Interamericana. México.

Catcott, E. 1979. Dirofilariasis. Canine medicine. En: Catcott, E. (ed). *Am Vet Pub, Inc.*

Ching Cheng, W. y Cheng Chen, C. 1997. Natural infection of mosquitoes with *Dirofilaria immitis* in Northern Taiwan. *J Chin Soc Vet Sci.* 1:23.

Chipana, C. 2001. Estudio de la dirofilariasis canina en los distritos de lima de la ribera del río Chillón (Puente Piedra, Comas, Carabayllo, Los Olivos, Ventanilla, y San Martín de Porres) Perú. Tesis Bach. Fac. Med. Vet., Univ. Nac. Mayor de San Marcos. Lima.

Chirinos, A. 1998. *Parasitología y Zoología Médica.* Tomo I. Editorial de la Universidad del Zulia. Maracaibo. Pág. 477.

Corimanya, J.; Chávez, A.; Casas, E. y Díaz, D. 2004. Frecuencia de *Dirofilaria immitis* en caninos del distrito de San Juan de Lurigancho. *Rev Inv Vet Perú* 15(2): 141-144.

Courtney, Ch. y Zeng, Q. 1989. Applications of heartworm immunodiagnostic tests. *Proceedings of the heartworm symposium.* Charleston S C. 89: 167-172.

Ducos de Lahitte, J. 1990. Epidemiology of filariases in France. *Pratique médicale et*

chirurgicale de l'animal de compagnie. 25(3): 305-310.

Gamarro, N. 1985. Epidemiología de *Dirofilaria immitis* en la isla de Tenerife. Tesis Doctoral. Departamento de Parasitología, Ecología y Genética. Universidad de la Laguna. España.

Genchi, C.; Poglayen, G.; Kramer, L.; Venco, L.; y Agostini, A. 2001. Efficacy of moxidectin for the prevention of adult heartworm (*Dirofilaria immitis*) infection in dogs. *Parasitol.* 43:139-141.

Georgi, J. y Georgi, M. 1994. *Parasitología en clínica canina*. McGraw-Hill Interamericana. México.

Goggin, J.; Biller, D.; Rost, C.; DeBay, B. y Ludlow C. 1997. Ultrasonographic identification of *Dirofilaria immitis* in the aorta and liver of a dog. *J Am Vet Med Assoc.* 210:1635-1637.

Gómez, B. y Rojo, V. 1990. Dirofilariasis canina y humana en España. *Med vet.* 7(2): 71-74.

Gómez, M.; Rojo, I. y Guerrero, J. 1999. Filaritosis. *Parasitología veterinaria*. McGraw-Hill. Interamericana. Madrid, España.

Gorgulho, C.; Teixeira, S.; Ribeiro, A. y De Souza, W. Occurrence of canine dirofilariosis in Cuiabá and environs, state of Mato Grosso – Brazil. *J Vet Res Anim Sci.* 36(5):87-91.

Grieve, R. y Lauria, S. 1983. Periodicity of *Dirofilaria immitis* microfilariae in canine and murine hosts. *Acta Trop.* 40: 121-127.

Grieve, R. 1990. Immunologic relevance of the cuticle and epicuticle of larval *Dirofilaria immitis* and *Toxocara canis*. *Acta Trop.* 47(56): 399-402.

Grubissich, J. 1999. Dirofilariasis canina. *Rev Holliday News.* 2:8-12.

Hanrahan, E. y Madopu, G. 1994. *Review of epidemiology and biostatistics for the usmle*. Appleton and lange. Connecticut, Estados Unidos.

Hernández, A. 1958. Contribución al estudio de la filariasis canina en la Ciudad de Lima. Tesis Bach. Fac. Med. Vet., Univ. Nac. Mayor de San Marcos. Lima.

Hong, X.; Mejia, S.; Kumar, S.; Perler, F. y Carlos, C. 1996. Cloning and expression of DiT33 from *Dirofilaria immitis*: a specific and early marker of heartworm infection. *Parasitology.* 112: 331-338.

Hoskins, J. 1996. Canine heartworm disease. Small animal parasitology. *Compendium on continuing education for the practicing veterinarian.* 18 (4): 348-379.

IDEXX Laboratorios, Inc. 2006. Kit canino para la prueba de antígenos de *Dirofilaria immitis*.

Johnstone, C.; Knight, D. y Lok, F. 1997. "Parasitology-*Dirofilaria immitis*." <<http://cal.vet.upenn.edu/parasi/heartwormm>> (01/11/06).

Johnstone, C. 1998. *Introduction to parasitology. The spectrum of parasitism*. In: *parasites and parasitic disease of domestic animals*. Meril. University of Pennsylvania. USA.

Juárez, B.; Silva, H.; López, V.; Gaxida, C.; Carcano, A. y Quintero, M. 1998. Larvas de *Dirofilaria immitis* como hallazgo incidental en punciones con aguja delgada en canideos. <<http://Uas.uasnet.mx/emvz/111-120>> (01/11/06).

Kirk, R. 2001. *Medicina interna de pequeñas especies*. Décima tercera edición. Interamericana España.

Knight, D. 1987. Heartworm infection. *Vet Clin North Am Small Animal Practice*. 17:1463-1519.

Knight, D. 1997. *Guías para el diagnóstico y tratamiento de la infección por Gusano del Corazón (Dirofilaria immitis)*. En: Kira, R.; y J. Bonagura. *Terapeutica veterinaria de pequeños animales*. XII Edición. Interamericana. España. Pág. 948.

Klion, A.; Vijaykumar, A.; Oei, T.; Martín, B. y Nutman, T. 2003. Serum immunoglobulin G4 antibodies to the recombinant antigen, LI-SXP-1, are highly specific for *Loa loa* infection. *J Infect Dis*. 187:128-133.

Konno, K. y Hayasaki, M. 1995. Antigenic cross reactivity among *Dirofilaria immitis* and four intestinal parasite-species in the dog. *Jap J Parasitol*. 44(2): 161-164.

Kwung Fan, C.; Eyre Sub, K.; Ho Lin, Y.; Wei Liao, C.; Yuan Dub, W. y Yi Chiou, H. 2001. Seroepidemiologic survey of *Dirofilaria immitis* infection among domestic dogs in Taipei City and mountain aboriginal districts in Taiwan (1998–1999). *Vet Parasitol*. 102:113–120.

Labarthe, N.; Serrao, M.; Melo, Y.; De Olivera, S.; De Olivera, R. y Larenco, R. 1998. Mosquito frequency and feeding habits in an enzootic canine dirofilariasis área Nitori, State of Rio de Janeiro Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 93(3): 425-432.

Labarthe, N.; De Campos, M.; Barbarini, O.; Mckee, W.; Coimbra, C. y Hoskins, J. 2003. Serologic prevalence of *Dirofilaria immitis*, Ehrlichia canes, and Borrelia burgdorferi infections in Brazil. *Vet Ther*. 4(1): 67-75.

Leguía, G. 1996. *Enfermedades parasitarias de perros y gatos*. *Epidemiología y control*. Editora del Mar. Perú.

Lok, J.; Knight, D.; Wang, G.; Doscher, M.; Nolan, T.; Hendrick, M.; Steber, W. y Heaney,

K. 2001. Activity of an injectable, sustained-release formulation of moxidectin administered prophylactically to mixed-breed dogs to prevent infection with *Dirofilaria immitis*. *Am J Vet Res.* 62:1721-1726.

Macy, D.; Cheney, J. y Taton-Allen, G. 1991. Prevalence of circulating heartworm antigen in dogs in northeastern Colorado. *Cornell Veterinarian* 81(4): 379-387.

Martini, M.; Poglayen, G.; Capelli, G. y Roda, R. 1991. Diagnosis of canine filariasis: relative sensitivity and specificity of some haematological techniques. *Angewandte Parasitol.* 32(3):133-136.

Merck KGaA. 2004. *Manual Merck*. Darmstadt, Alemania.

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

Montoya, J.; Morales, M.; Juste, M.; Banares, A.; Simon, F. y Genchi, C. 2006. Seroprevalence of canine heartworm disease (*Dirofilaria immitis*) on Tenerife island: an epidemiological update. *Parasitol Res.* 100(1): 103-5.

Muponamunda, M.; Williams, J.; Mackenzie, C. y Kaiser, L. 1997. *Dirofilaria immitis*: heartworm infection alters pulmonary artery endothelial cell behavior. *Am Physiol Soc.* 42: 389-398.

Muro, A.; Genchi, C.; Cordero, M. y Simón, F. 1990. Human dirofilariasis in the European Union. *Parasitol Today* 15: 386-389.

Olness, K.; Franciosi, R.; Johnson, M. y Freedman, D. 1987. Loiasis in an expatriate american child: diagnostic and treatment difficulties. *Pediatrics.* 80: 943-946.

Olson, N.; Scout, J. y Robinson, N. 1982. Central blood volume and the lungn extravascular thermal volume in dogs with dirofilariasis. *Am J Vet Res.* 43: 1019-1022.

Organización Mundial de la Salud. 1987. Salud para la población. Revista Ginebra. Suiza.

Patiño, F.; Uribe, L.; Mendoza, J.; Guerrero, J. y Newcomb, K. 1989. Levantamiento de la frecuencia del parásito del corazón (*Dirofilaria immitis*) en la población canina colombiana. MSD AGVET Merial. 1-5.

Patton, S. y McCracken, M. 1991. Prevalence of *Dirofilaria immitis* in cats and dogs in eastern Tennessee. *J Vet Diagnostic Invest.* 3(1): 79-80.

Pacheco, G. 1996. Progressive changes in certain serological responses to *Dirofilaria immitis* infection in the dog. *J Parasitol.* 52: 311-317.

Pérez, G.; Rosa, A.; Ribicich, M.; Meyer, P.; Welch, E.; Casalonga, O. y Reino, P. 1999. Dirofilariasis canina (Resumen). Parte I. *Rev de Med Vet.* 70: 228-240.

Rawlings, C. y Calvert, C. 1992. Dirofilariasis. En: *Tratado de medicina interna veterinaria*. Interamericana. Buenos Aires, Argentina. Pág. 1226.

Rawlings, C. y Calvert, C. 1997. *Verminosis Cardiaca*. En: Ehinger, S. *Tratado de Medicina Interna Veterinaria*. Interamericana. Argentina. Pág. 1263.

Reifur, L.; Thomaz, V. y Montiani, F. 2004. Epidemiological aspects of filariosis in dogs on the coast of Paraná state, Brazil: with emphasis on *Dirofilaria immitis*. *Vet Parasitol.* 122: 273–286.

Schrey, C. y Trautvetter, E. 1998. Dirofilariasis canina y felina. Diagnóstico y tratamiento. *Waltham Focus.* 8: 23-30.

Selby, L.; Carwin, R. y Hayes, H. 1980. Factors associated with canine heartworm infection. *J Am Vet Med Assoc.* 176: 33-35.

Simon, M.; Muro, A.; Cordero, M. y Martin, J. 1991. Seroepidemiology survey of human dirofilariasis in western Spain. *Trop Med Parasitol.* 42(2): 106-108.

Smith, H. y Rajan, T. 2000. Tetracycline inhibits development of the infective stage larvae of filarial nematodes *in vitro*. *Exp Parasitol.* 95: 265-270.

Soulsby, E. 1987. *Parasitología y enfermedades parasitarias en los animales Domésticos*. Séptima Edición. McGraw-Hill Interamericana. México.

Stein, F. y Lawton, G. 1973. Comparison of methods for diagnosis and differentiation of canine filariasis. *J Am Vet Med As.* 163: 140-141.

Vale Echeto, O.; Simoes, D.; Camacho, J.; Vale Oviedo, O. y Oviedo de Vale, M. 2005. Dirofilariasis en caninos: estudio anatomopatológico de 15 casos. *Rev Cient.* 15(5): 0798-2259.

Vezzani, L.; Velasquez, S. y Schweigmann, N. 2004. Seasonal pattern of abundance of *Aedes aegypti* (Diptera: colicidae). *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 99: 351- 356.

Walters, L. y Lavaipierre, M. 1984. Landscape epidemiology of mosquito-borne canine heartworm (*Dirofilaria immitis*) in Northern California, USA. I. *J Med Entomology.* 21: 1-16.

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

Weiner, D. y Bradley, R. 1972. Serologic changes in primary and secondary infections of beagle dogs with *Dirofilaria immitis*. In Bradley, R. E. *Canine Heartworm Disease*. The Current Knowledge. University of Florida Press. Gainesville. Págs. 77-86.

Wong, M. 1964. Studies on microfilaremia in dogs. II. Levels of microfilaremia in relation to immunologic responses of the host. *Am Trop Med Hig.* 13: 66-77.

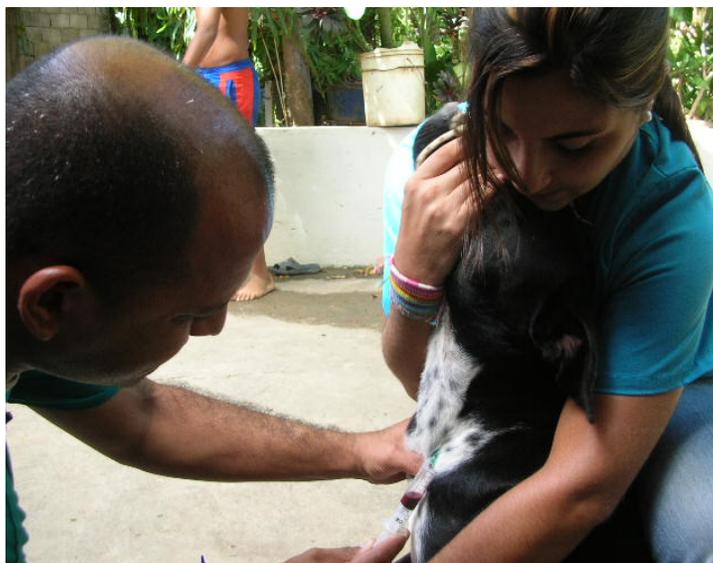
Wylie, J. 1970. Detection of microfilariae by a filter technique. *J Am Vet Med As.* 156: 1403-1405.

ANEXO

ANEXO 1



A. Sector La Sanders, Boca de Sabana, municipio Sucre, estado Sucre.



B. Toma de muestra por el médico veterinario a los caninos del sector La Sanders, Boca de Sabana, municipio Sucre, estado Sucre.

ANEXO 2

Universidad De Oriente
Núcleo De Sucre
Escuela De Ciencias
Departamento De Bioanálisis

Encuesta Clínica-Epidemiológica

Nº _____
Fecha: _____

Nombres y Apellidos Del Propietario: _____

Dirección: _____

Datos del Animal:

Nombre: _____

Edad: _____ Raza: _____ Sexo: _____

Aseo del canino: Semanal: _____ Mensual: _____ Semestral: _____ Anual: _____

Presencia de garrapatas en el canino: Si: _____ No: _____

Control de vacunas en el canino: Si: _____ No: _____ ¿Cuáles? _____

Ambiente que rodea al canino

¿Convive con otros animales? Si: _____ No: _____ ¿Cuáles?

¿Permanece dentro de la casa? Si: _____ No: _____

¿El canino frecuenta la calle? Nunca: _____ Pocas veces: _____ Muchas veces: _____

¿Hay presencia de ríos, lagunas, aguas estancadas o pantanos alrededor de la vivienda donde habita el canino? Si: _____ No: _____

¿Hay proliferación de mosquitos alrededor de la vivienda? Si: _____ No: _____

¿En que momento del día pican los mosquitos? Mañana: _____ Tarde: _____ Noche: _____

Condición clínica del animal

¿El canino ha sufrido alguna enfermedad anteriormente?

Si: _____ No: _____ ¿Cuáles? _____

¿Recibió tratamiento? Si: _____ No: _____ ¿Cuál? _____

¿En este momento el canino presenta algunos de los siguientes signos?

Desnutrición: _____ Debilidad: _____ Dificultad para respirar: _____

Cansancio: _____ Perdida del apetito: _____

De ser hembra

¿Ha tenido cría? Si: _____ No: _____ ¿Cuántos? _____

¿Conoce el destino de las crías? Si: _____ No: _____

Ubicación de las crías: _____

ANEXO 3



UNIVERSIDAD DE ORIENTE NÚCLEO DE SUCRE ESCUELA DE CIENCIAS

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Título: Seroprevalencia de Dirofilariasis en Caninos del sector La Sanders, Boca de Sabana, municipio Sucre, estado Sucre.

Investigación: Coordinada por las profesoras Del Valle Guilarte y Erika Gómez.

Teléfonos: 0414-7777208 y 0414-8409476

Institución: Universidad de Oriente, Núcleo de Sucre.

Antes de que usted decida tomar parte en este estudio de investigación, es importante que lea, cuidadosamente, este documento. Bajo la supervisión de las profesoras Del Valle Guilarte y Erika Gómez, de los departamentos de Bioanálisis y Enfermería de Núcleo de Sucre, Universidad de Oriente, se discutirá con usted el contenido de este informe y se le explicarán todos aquellos puntos en los que tenga dudas. Si después de haber leído toda la información usted decide participar en este estudio, deberá firmar este consentimiento en el lugar indicado y devolverlo. Usted recibirá una copia de este consentimiento informado.

A usted se le ha pedido que colabore en un estudio de investigación cuyo objetivo general es: Determinar la Seroprevalencia de Dirofilariasis en caninos del sector La Sanders, Boca de Sabana, municipio Sucre, estado Sucre.

Su colaboración en el trabajo consistirá en donar de forma voluntaria una muestra de sangre (15 ml) de su perro, de nombre: _____, la cual se extraerá por punción venosa, con previa asepsia de las patas delanteras por un médico veterinario, lo que no implica ningún riesgo para su salud.

Además, es necesario que sepa que la muestra de sangre del perro será utilizada única y exclusivamente para la detección de *Dirofilaria immitis*, así como para la determinación de los parámetros hematológicos antes mencionados. En caso de que su perro resulte positivo, usted debe comprometerse a donar una cantidad de sangre mayor (20 ml) que se utilizará para producir antígenos del parásito, a emplearse en la estandarización de técnicas inmunológicas, tales como ELISA e “Inmunoblot” para ser usadas en el Diagnóstico de la Dirofilariasis en caninos y en humanos en un estudio posterior.

Yo: _____, C.I: _____, de nacionalidad _____, de estado civil: _____, y domiciliado en: _____.

Siendo mayor de edad y en pleno uso de mis facultades mentales y sin que nadie me coaccione, en completo conocimiento de la naturaleza, propósito, inconvenientes y riesgos relacionados con este estudio, declaro:

1. Haber sido informado(a) de forma clara y sencilla, por parte de las profesoras coordinadoras de la investigación, de todos los aspectos relacionados con el proyecto titulado: Seroprevalencia de Dirofilariasis en caninos domésticos del sector La Sanders, Boca de Sabana, municipio Sucre, estado Sucre.
2. Tener conocimiento claro de que el objetivo general del trabajo antes mencionado, es evaluar las características parasitológicas, hematológicas y clínicas en caninos del sector La Sanders, Boca de Sabana, municipio Sucre, estado Sucre, así como determinar la seroprevalencia de Dirofilariasis en caninos del sector.
3. Que el equipo que realiza la investigación, coordinado por las profesoras Del Valle Guilarte y Erika Gómez, me han garantizado confidencialidad relacionada, tanto con mi identidad como con otra información relativa a mi persona, a la que tenga acceso por concepto de mi participación en este proyecto.

4. Que bajo ningún concepto se podrá restringir el uso con fines académicos de los resultados obtenidos en el presente estudio.
5. Que cualquier pregunta que tenga en relación con este estudio, me será respondida oportunamente por parte del equipo, de las personas mencionadas anteriormente y con quienes me podré comunicar por los teléfonos: 0414-7777208 y 0414-8409476.
6. Que bajo ningún concepto se me ha ofrecido, ni pretendo recibir ningún beneficio de tipo económico, producto de los hallazgos que puedan producirse en la referida investigación.
7. Que el beneficio principal que obtendré, será recibir el reporte de los exámenes de laboratorio, en caso de que el perro resulte positivo para *Dirofilaria immitis*, de tal forma que me ponga en contacto con el médico veterinario que atiende a mi perro para tomar las medidas del caso.

Su participación en este estudio es voluntaria. Usted puede negarse a participar, puede interrumpir su participación en cualquier momento durante el estudio, sin perjuicio alguno ni pérdida de sus derechos.

DECLARACIÓN DEL VOLUNTARIO

Después de haber leído, comprendido y aclarado mis interrogantes con respecto al formato de consentimiento, autorizo de forma voluntaria al equipo de investigación a realizar el referido estudio en la muestra de sangre de mi perro: _____, que acepto donar para los fines indicados anteriormente. Además, deseo reservarme el derecho de revocar esta autorización y donación en cualquier momento sin que ello conlleve a alguna consecuencia negativa para mi perro.

VOLUNTARIO

Nombres y Apellidos: _____

C.I: _____

Firma: _____

TESTIGOS

Nombres y Apellidos: _____

C.I: _____

Firma: _____

Nombres y Apellidos: _____

C.I: _____

Firma: _____

En _____ a los _____ días del mes de _____ de 2007

DECLARACIÓN DEL INVESTIGADOR

Después de haber explicado detalladamente al propietario del perro la naturaleza del protocolo mencionado, certifico mediante la presente que la persona que firma este formato de consentimiento comprende la naturaleza, requerimientos y beneficios de la participación de su perro en este estudio. Ningún problema de índole médico, de idioma o de instrucción ha impedido al sujeto tener una clara comprensión de su compromiso con este estudio.

Por el grupo de investigación,

Nombres y Apellidos: _____

C.I: _____

Firma: _____

En _____ a los _____ días del mes de _____ de 2007.

ANEXO 4



(Snap®
IDEXX
Inc.,
de



Estuche
comercial
3Dx®) de
laboratorios,
para
diagnóstico
dirofilariasis
mediante la
detección de
antígenos de
excreción-

secreción del gusano del corazón

Hoja de Metadatos

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 1/5

Título	Ser prevalencia De Dirofilariasis En Caninos Del Sector La Sanders, Boca De Sabana, Municipio Sucre, Estado Sucre.
Subtítulo	

Autor(es)

Apellidos y Nombres	Código CVLAC / e-mail	
	CVLAC	e-mail
Fabiana Odett El Hen Romero	16.852.905	
		Fabielhen@hotmail.com
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	

Palabras o frases claves:

Dirofilariosis caninaa <i>immitis</i>
Seroprevalencia de <i>Dirofilari</i>
Diagnóstico parasitológico

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 2/5

Líneas y sublíneas de investigación:

Área	Subárea
Ciencias	Bioanálisis

Resumen (abstract):

Se determinó la seroprevalencia de dirofilariasis en caninos del sector La Sanders, Boca de Sabana, municipio Sucre, estado Sucre. El estudio se realizó con muestras de sangre periférica obtenidas de caninos domésticos del sector, mayores de seis meses, sin distinción de raza ni sexo. A cada muestra se le aplicó un examen directo, frotis sanguíneo y la prueba serológica mediante un estuche comercial tipo ELISA cualitativo. La prevalencia obtenida del total de los perros (38) analizados en el sector, mediante el método parasitológico directo fue de 13,0%, mientras que la seroprevalencia obtenida por el método serológico fue de 21,0%. La sensibilidad y especificidad de la técnica parasitológica fue de 62,5% y 100%, mientras que del método serológico fue de 100,0% y 93,0%, respectivamente. Al comparar ambas pruebas, queda claro que las técnicas serológicas son mucho más sensibles que las parasitológicas, mientras que las parasitológicas son mucho más específicas. Por lo tanto, es importante la combinación de ambas técnicas para un diagnóstico más acertado de la dirofilariasis.

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 3/5

Contribuidores:

Apellidos y Nombres	ROL / Código CVLAC / e-mail
Del Valle Guilarte	ROL CA <input type="checkbox"/> AS <input checked="" type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/>
	CVLAC 9.306.352
	e-mail Delguifa69@gmail.com
	e-mail
Erika Gómez	ROL CA <input type="checkbox"/> AS <input checked="" type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/>
	CVLAC 13.539.455
	e-mail Eri1578@hotmail.com
	e-mail
Oscar Chinchilla	ROL CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC 3.663.763
	e-mail olchinchilla@cantv.net
	e-mail
Yulennys Mejias	ROL CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC 12.747.373
	e-mail yulenmejias@hotmail.com
	e-mail

Fecha de discusión y aprobación:

Año	Mes	Día
2008	03	10

Lenguaje: Spa

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 4/5

Archivo(s):

Nombre de archivo	Tipo MIME
Tesis_favianaromero	Application/word

Alcance:

Espacial : _____ (Opcional)

Temporal: _____ (Opcional)

Título o Grado asociado con el trabajo:

Licenciado en Bioanálisis

Nivel Asociado con el Trabajo: Licenciatura

Área de Estudio:

Bioanálisis

Institución(es) que garantiza(n) el Título o grado:

Universidad de Oriente

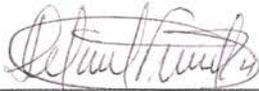
Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 5/5

Derechos:

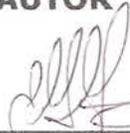
Los autores garantizamos en forma permanente a la Universidad de Oriente el derecho de archivar y difundir solo el resumen de esta tesis. Esta difusión será con fines estrictamente Científicos y Educativos.



**Fabiana El Hen
AUTOR**



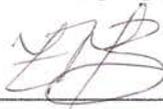
**Del Valle Guilarte
TUTOR 1**



**Erika Gómez
TUTOR 2**



**Oscar Chinchilla
JURADO 1**



**Yulennys Mejias
JURADO 2**

POR LA SUBCOMISIÓN DE TESIS:

