

AVANCES EN EL CONOCIMIENTO DE LA DIROFILARIOSIS HUMANA PRODUCIDA POR *DIROFILARIA IMMITIS* EN LA PROVINCIA DE SALAMANCA

ANTONIO MURO ALVAREZ
MIGUEL CORDERO SÁNCHEZ
FERNANDO SIMÓN MARTÍN

RESUMEN.—Estudios realizados por nuestro grupo en la provincia de Salamanca han permitido definir tanto las características epidemiológicas como las características clínicas de la dirofilariosis humana. Desde el punto de vista epidemiológico hemos demostrado que la dirofilariosis humana tiene una elevada prevalencia en zonas de endemia canina, que el contacto con el parásito es repetitivo predominando el isotipo IgM en individuos seropositivos jóvenes y el IgG en viejos, y que en zonas endémicas se producen variaciones estacionales en el nivel de anticuerpos anti-*Dirofilaria immitis*. Desde el punto de vista clínico, hemos demostrado que la seropositividad no es únicamente indicativa de contacto con el parásito sino que, al menos en algunos casos, sirve para detectar dirofilariosis pulmonar no diagnosticada clínicamente. Ello nos ha permitido definir un nuevo espectro de la dirofilariosis pulmonar humana en el que se destaca la frecuencia de aparición de nódulos pulmonares transitorios y, por primera vez, se describe la aparición de granulomas calcificados de esta etiología.

ABSTRACT.—Previous work from our laboratory has allowed us to define the epidemiological and clinical characteristics of human dirofilariosis in Salamanca. From an epidemiological point of view, we have shown that human dirofilariosis has a high prevalence in areas of canine endemia, that contact with the parasite is repetitive with predominance of Ig M isotype in young seropositives and Ig G in older ones, as well as that seasonal variations in the anti-*D.immitis* antibodies occur. On the other hand, and from a clinical perspective, we have shown that seropositivity not only indicates contact with the parasite, but that, at least in some cases, detects undiagnosed pulmonary dirofilariosis. This has allowed us to define a new spectrum of human pulmonary dirofilariosis, stressing the frequent appearance of transitory pulmonary nodules and describing, for the first time, the development of calcified granulomas from this etiology.

PALABRAS CLAVE: *Dirofilaria immitis*. Dirofilariosis humana. Epidemiología. Diagnóstico inmunológico. Características clínicas

1. INTRODUCCIÓN

Dirofilaria immitis es un nematodo que parasita el sistema cardiovascular de los cánidos y con mucha menor frecuencia el de otros animales. La parasitosis, que inicialmente se consideró un problema de interés exclusivamente veterinario, ha tomado un carácter zoonótico, desde que se demostró la presencia de este parásito en humanos.

En el hombre, *D. immitis* generalmente no se desarrolla hasta el estado adulto, y cuando esto ocurre, no hay producción de microfilarias al no existir posibilidad de fecundación. En algunos casos, los vermes se localizan en una rama de la arteria pulmonar, produciendo una reacción hística que deriva en la aparición de un nódulo pulmonar.

Dado que el diagnóstico diferencial de estas lesiones incluye entre otras enfermedades el carcinoma broncopulmonar, es de suma importancia disponer de un método de diagnóstico no invasivo que evite la utilización de pruebas potencialmente agresivas para el paciente. En este sentido, a pesar de que se dudó del valor de la serología para el diagnóstico de la dirofilariosis humana, investigaciones recientes han demostrado la validez de técnicas inmunológicas que permiten realizar el diagnóstico diferencial con otras causas de nódulos pulmonares.

Como consecuencia del creciente interés por esta zoonosis, se han incrementado considerablemente en los últimos años los trabajos tendentes a determinar su extensión epidemiológica e importancia clínica, sobre todo en Estados Unidos, Japón, Australia y países europeos ribereños del Mediterráneo. La información obtenida se debe en gran parte al diagnóstico de casos pulmonares hallados fortuitamente, por lo que aproximaciones epidemiológicas basadas en estos datos, ofrecen posiblemente una visión parcial del problema de la dirofilariosis humana.

1.1. Sistemática

Siguiendo la clasificación aceptada por el Commonwealth Institute of Helminthology (CIH) (Beaver et al., 1986) consideramos la siguiente sistemática para la especie estudiada:

Phylum *Nematoda*

Clase *Secernentea*

Familia *Filariidae*.

Género *Dirofilaria*.

Especie *Dirofilaria immitis*

1.2. Hospedadores

Se han descrito infestaciones naturales por *D.immitis* en diferentes hospedadores como perros, lobos, gatos, etc (Barriga, 1982). No obstante, la prevalencia es mayor en los cánidos que en el resto de las especies, y de ellos, los que mayor importancia tienen dadas sus connotaciones zoonóticas, son los perros.

Al igual que ocurre con los hospedadores definitivos, *D.immitis* presenta muy poca especificidad de hospedador intermediario (vector). Existe una extensa bibliografía que demuestra la capacidad vectorial potencial de numerosas especies de mosquitos. Sin embargo, como destaca Konishi (1989 a), existen pocos trabajos sobre la capacidad de transmisión de *D.immitis* en el medio natural.

1.3. Morfología y ciclo biológico

D.immitis completa el ciclo en dos hospedadores: los cánidos, hospedadores definitivos, y diversas especies de mosquitos culícidos que actúan como vectores (figura 1).

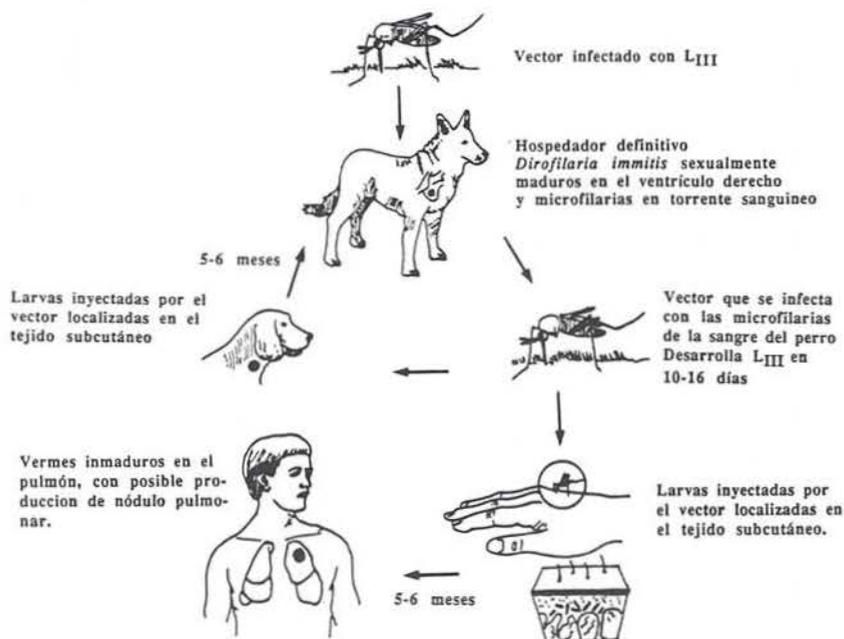


FIGURA 1. Ciclo biológico de *Dirofilaria immitis* (Modificado a partir de Risber y cols.).

Los vermes adultos se localizan en el ventrículo derecho y vasos adyacentes como la arteria pulmonar (figura 2), pero también se han encontrado, aunque raras veces, en otras partes del organismo de los perros. Son largos, extremadamente delgados y con color nacarado. Los machos miden de 120 a 200 mm. de largo por 0,7 a 0,9 mm. de diámetro. En su extremo anterior presentan una cavidad bucal rudimentaria, sin labios, y a continuación un pequeño esófago dividido en dos partes no muy bien delimitadas, la anterior muscular y la posterior glandular. El extremo posterior es romo, enrollado en espiral y con un par de pequeñas alas caudales. Presenta 5 pares de papilas precloacales largas y pedunculadas y 6 pares postcloacales menores y sin pedúnculos. Las espículas copulatorias son diferentes, la izquierda larga (300-375 μm) y afilada, y la derecha corta (175-229 μm) robusta y roma. Carecen de gubernáculo. Las hembras miden 250-310 mm. de largo por 1-1,3 mm. de diámetro. El tubo digestivo es semejante al del macho. El extremo posterior es redondeado y no aparece enrollado en espiral. La abertura genital se sitúa aproximadamente a 2,7 mm. del extremo anterior del cuerpo. Son ovovivíparas y liberan larvas 1 (microfilarias) que generalmente se encuentran en sangre periférica.

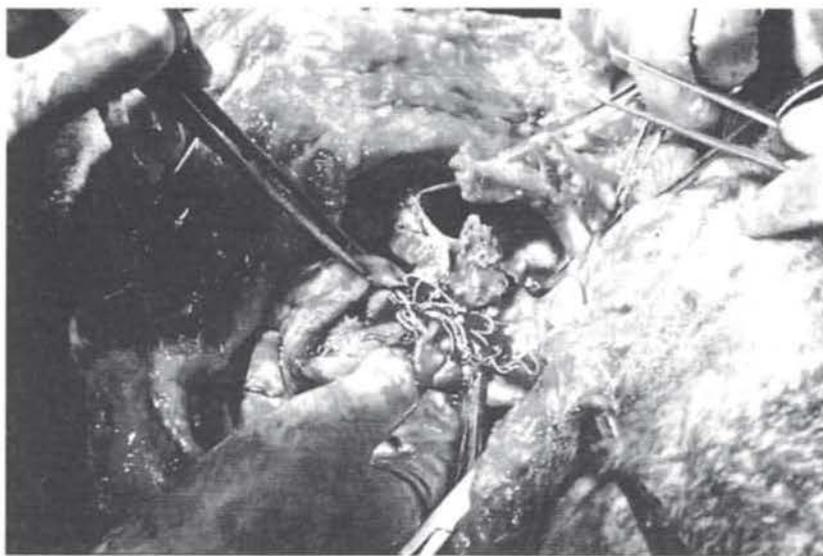


FIGURA 2. *Vermes adultos de Dirofilaria immitis localizados en el corazón durante la autopsia de un perro parasitado.*

Las microfilarias de *D. immitis* son desnudas, de cabeza estrecha y fusiforme, con una cola larga y delgada (figura 3). Sus dimensiones varían se-

gún el fijador empleado, pues estos producen distinto grado de contracción corporal. Barriga (1982) señala una longitud de 270-325 μm . y un diámetro de 6,7-7,3 μm , cuando se fijan en formalina al 2 %.

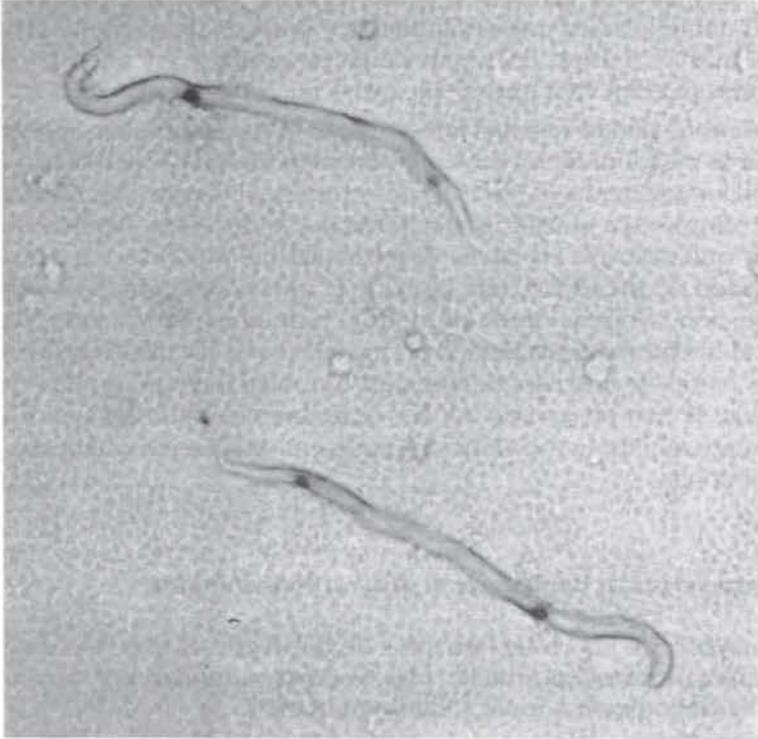


FIGURA 3. *Microfilaria* (Larva 1) de *Dirofilaria immitis*.

Cuando un vector se alimenta sobre un perro parasitado, ingiere microfilarias junto con la sangre. Estas permanecen aproximadamente 24 horas en el estómago del mosquito, y en las 24 horas siguientes emigran hacia los túbulos de Malpigio a través del hemocele. Allí se desarrollan a larvas 3 (L 3) en el término de 15-16 días. Miden 774-998 μm . de largo por 13-18 μm . de diámetro en su parte más ancha. El extremo anterior es redondeado y el posterior romo.

Las L 3 emigran a través del hemocele hasta las piezas bucales, donde permanecen hasta la siguiente toma de sangre. Cuando ésta tiene lugar, el

mosquito inocular las L 3 en el tejido subcutáneo del nuevo hospedador. Entre el noveno y decimosegundo día postinfestación, las L 3 mudan a larva 4 (L 4) y a larva 5 (preadulto) entre los 60 y 70 días postinfestación. En este momento abandonan el tejido subcutáneo y comienzan a emigrar hacia el corazón, al que llegan a partir de los 90 días postinfestación. Una vez allí alcanzan la madurez sexual entre los días 174-191.

La microfilaremia (presencia de microfilarias en sangre periférica) aumenta durante los diez meses siguientes y después se mantiene constante durante más de 5 años, desapareciendo entre los 7 y 9 años siguientes. Los vermes pueden vivir unos 5 años y las microfilarias más de dos.

El hombre puede resultar infestado de la misma manera que los perros, por la picadura de un mosquito parasitado con L3, pero al no ser un hospedador adecuado, el parásito no completa su desarrollo. El ciclo puede interrumpirse en el tejido subcutáneo por la respuesta inmune del hospedador que destruye las larvas despositadas allí por el vector o alcanzar, en el estado de preadulto, una rama de la arteria pulmonar con posterior embolización y formación de un nódulo pulmonar. No obstante, aunque éste es el hecho más corriente, hay que señalar la localización de vermes en otras partes de la anatomía humana. También hay que resaltar que, en ocasiones, se han observado adultos sexualmente maduros pero aislados (lo que imposibilita su reproducción) tanto en localización pulmonar como extrapulmonar.

1.4. *Características clínicas de la dirofilariosis humana*

La mayoría de los casos humanos de dirofilariosis han sido diagnosticados anatomopatológicamente tras biopsia pulmonar por toracotomía ante el hallazgo de un nódulo solitario pulmonar.

El primer caso diagnosticado como tal fue publicado en 1961 (Dashiell, 1961), aunque en 1965 se reclasificó un caso descrito en 1954 como ascaridiasis (Moore, 1954) al identificar morfológicamente al parásito como *D. immitis* (Beaver y Orihel, 1965). En 1961 se revisaron 61 casos publicados en Estados Unidos (Ciferri, 1982). Desde entonces el número de casos de infestación humana no ha hecho más que crecer, pero siempre como descripciones de casos únicos o, todo lo más, series con escaso número de casos, lo que recalca la rareza de esta enfermedad en el hombre. El incremento en el número de casos descritos en la última década probablemente refleja la extensión creciente de la epidemia canina, y no una mayor alerta diagnóstica respecto a su posibilidad.

Aunque, como ya se ha dicho, la mayoría de los casos corresponden a nódulos solitarios pulmonares, se han descrito también localizaciones ex-

trapulmonares de forma aislada en mesenterio, vena cava inferior, vejiga, humor acuoso, región palpebral, etc. Sin embargo, la forma de presentación extrapulmonar más frecuente es la cutánea, en la que se detectan nódulos subcutáneos asintomáticos (Faust et al., 1952).

Los casos de dirofilariosis humana descritos han sido preferentemente detectados en tres áreas geográficas bien delimitadas, Este y Sureste de Estados Unidos, Japón y Australia. Fuera de estas zonas sólo se han descrito casos sólo excepcionalmente (Miroshnikov et al., 1991).

En cuanto a la clínica, la dirofilariosis pulmonar se presenta claramente diferenciada en dos grandes grupos. El primero, predominante en la bibliografía, es el de los enfermos asintomáticos, en los cuales se detecta casualmente un nódulo solitario pulmonar al realizar una radiología torácica por enfermedad base de muy distinta naturaleza. El segundo, corresponde a los enfermos con síntomas. Dentro de este grupo predominan enfermos con sintomatología inespecífica conformada por distintas combinaciones de tos, dolor pleurítico, no pleurítico, expectoración purulenta, esputos hemoptoicos, fiebre y otros síntomas. De todos estos casos, sólo uno (Schiavon et al., 1991) fue diagnosticado inicialmente de embolismo pulmonar. Sin embargo, este diagnóstico fue considerado en la mayoría de los casos sintomáticos, en que se apreció alteración radiológica no nodular al inicio del cuadro.

Desde el punto de vista radiológico la lesión característica es un nódulo solitario pulmonar. En algunos de los casos descritos los nódulos son múltiples (Awe et al., 1975; Mizrachi et al., 1989). Las características radiológicas de los nódulos son, en la mayoría de los casos, sugerentes de benignidad: sus bordes son bien definidos y lisos, su forma esférica u ovoide y su densidad homogénea. La cavitación, que es excéntrica, es excepcional así como la calcificación.

Por lo que se refiere a su localización predomina la afectación de pulmón derecho. Independientemente de la localización en los distintos lóbulos pulmonares, sí es destacable que en la inmensa mayoría de los casos los nódulos se encuentran en localización subpleural; ello no es de extrañar dado el calibre del parásito, que se corresponde con el de arteriolas pulmonares periféricas.

Hasta la fecha no se ha llevado a cabo ningún estudio de hallazgo de casos en esta enfermedad. Teniendo en cuenta la alta probabilidad de contacto con mosquitos infestados que tienen los individuos que habitan áreas endémicas, hay que pensar que la mayoría de los casos permanecen sin diagnosticar, bien al no producirse un nódulo solitario pulmonar, bien al ser éste transitorio, o bien al producir alteraciones pulmonares no nodulares.

1.5. Diagnóstico

Dos hechos dificultan la detección de *D. immitis* en el hombre: por una parte el parásito no alcanza, por lo general, la madurez sexual, y en las escasas ocasiones en que esto ocurre, sólo se han encontrado vermes aislados, por lo que nunca se produce microfilaremia. Por otra parte, esta parasitosis se caracteriza por ser inespecífica tanto sintomatológica como radiológicamente. Los datos de análisis de laboratorio son también inespecíficos ya que a pesar de tratarse de una helmintosis, la eosinofilia o no existe o es muy leve (Barriga, 1982).

Existen dos tipos de diagnóstico bien diferenciados: los métodos directos (técnicas de visualización de las lesiones) y los métodos indirectos (serología).

1.5.1. Diagnóstico directo

Radiología, biopsia previa toracotomía, punción-aspiración con aguja fina o gruesa (Hawkins et al., 1985), son técnicas que se han empleado y se emplean profusamente en el diagnóstico de la dirofilariosis pulmonar humana. No obstante, la toracotomía produce una situación traumática innecesaria en muchas ocasiones y la punción-aspiración con aguja fina no ha proporcionado suficiente material para realizar el diagnóstico etiológico en muchos casos.

1.5.2. Diagnóstico serológico. Estudios inmunológicos.

Inicialmente se aplicaron diferentes métodos inmunológicos como fijación del complemento, hemaglutinación indirecta, difusión en agar, inmunoelectroforesis e inmunofluorescencia indirecta, con distintos resultados (Adkins y Dao, 1984; Kochar, 1985).

A partir de 1985 se comenzó a aplicar el enzimoimmunoensayo (ELISA). Con este método se logró detectar anticuerpos específicos en individuos a los que previamente se les había extirpado un nódulo pulmonar con histología compatible con *D. immitis* (Sato et al., 1985), y realizar seguimiento de casos de dirofilariosis pulmonar (Farber y Laguarda, 1987).

Como consecuencia de las reacciones cruzadas, no sólo con otras parasitosis, sino también con enfermedades de etiología no parasitaria, que se producen a causa del empleo de antígenos crudos, la tendencia actual se orienta al análisis de distintos complejos antigénicos del parásito para localizar y caracterizar polipéptidos de interés diagnóstico y/o protector (Philipp y Davis, 1986; Kaneko et al., 1990).

Las técnicas del DNA recombinante han comenzado a aplicarse recientemente al campo de la dirofilariosis. Un clono recombinante que codifica para un polipéptido inmunodominante de 35 kDa fue aislado y purificado en una genoteca de cDNA de hembras adultas de *D. immitis*. Posteriormente se demostró que dicho gen está presente en microfilarias y adultos, sufriendo realineamiento cuando los vermes maduran, pero sólo se expresa en el estado de microfilaria. La regulación de la expresión se realiza a nivel del mRNA (RNA mensajero). Se obtuvo una proteína recombinante empleada en ELISA para diagnosticar casos de dirofilariosis humana, observándose que dicho antígeno es específico de *D. immitis*, y no reacciona con sueros positivos a otras parasitosis, incluso de individuos con filarias tropicales (Sun y Sugane, 1992).

1.6. Epidemiología

En este campo son muy abundantes los estudios sobre poblaciones caninas; los trabajos concernientes a vectores proceden casi exclusivamente de Estados Unidos y Japón. Sin embargo, llama la atención los escasos estudios epidemiológicos realizados en humanos para delimitar el conocimiento de esta enfermedad.

La infestación canina por *D. immitis* es cosmopolita. Se acepta que la prevalencia aumenta con la edad, aunque algunos autores piensen lo contrario (Genchi et al., 1988). Estas mismas discrepancias surgen cuando se estudian prevalencias basadas en el sexo. Algunos observan iguales prevalencias en machos y hembras (Konishi, 1989 b), mientras otros afirman que la prevalencia es más elevada en los machos (Selby et al., 1980). Otro factor a tener en cuenta es la raza. Se ha observado que las dedicadas a la caza, como los galgos, presentan una prevalencia muy superior al resto (Martín y Collins, 1985). Lo mismo ocurre con perros de razas dedicadas a tareas de guarda.

Los estudios de los mosquitos vectores fueron realizados de dos maneras diferentes. Por un lado, se realizó una disección de los mosquitos capturados y se hizo una determinación específica de las larvas encontradas (Magnarelli, 1978), y por otro, se empleó una técnica inmunológica para detectar antígenos específicos de *D. immitis* en mosquitos triturados (Konishi, 1989 c).

Existen muy pocos estudios sobre la epidemiología de la infestación humana por *D. immitis*. Dichos trabajos tienen dos enfoques claramente diferenciados. Por una parte se han realizado revisiones de casos de nódulos pulmonares solitarios debidos a éste parásito descritos previamente en la bibliografía, estudiando su distribución por sexos, edades, etc. Por otra, en los últimos años se han analizado mediante técnicas serológicas

muestras de sueros más o menos numerosas y tomadas al azar para intentar establecer el alcance de este parasitismo.

Respecto al primer enfoque, la única revisión extensa en EE.UU fue realizada por Ciferri (1982) revisando 60 casos de nódulos pulmonares solitarios causados, o presumiblemente causados, por *D. immitis* en años precedentes. Este autor considera que los factores más importantes en la distribución de la dirofilariosis pulmonar humana en un área geográfica específica son el tamaño de la población canina, la prevalencia de *D. immitis* en perros de esa población, la densidad de la población de vectores y el grado de exposición humana a la picadura de los mosquitos. Así mismo, considera que ser propietario de perros no es un factor epidemiológico importante. En este mismo trabajo, Ciferri concluyó que la edad media de los varones afectados era de 52 años y de 49 en las mujeres, mientras que por el contrario, Yoshimura y Akao (1985) revisando 24 casos de infección pulmonar por *D. immitis* en Japón concluyeron que la prevalencia fue mayor entre los individuos con edades comprendidas entre 50 y 69 años y que 6 de los 24 pacientes eran propietarios de perros.

En cuanto al enfoque serológico, los primeros datos seroepidemiológicos de los que tenemos noticia corresponden a Welch et al (1979), quienes aplicando la técnica de inmunofluorescencia indirecta (IFI), encontraron que la seroprevalencia en caucasianos del área de Brisbane creció del 3 al 7% entre 1969 y 1975. En este mismo período la prevalencia en perros aumentó del 15 al 36%. En otra área donde la tasa de infestación en perros fue del 88%, el porcentaje de seropositivos humanos alcanzó el 30%.

Desowitz et al (1981) estudiaron la prevalencia de IgE y IgG frente a antígenos de *Toxocara canis* y *D. immitis* en niños asmáticos y no asmáticos de Hawaii, observando que el 45% tenían IgE y el 17,5% IgG contra uno o contra ambos parásitos. Levy et al. (1983) analizaron sueros de individuos residentes en Maryland donde la dirofilariosis es hiperenzootica, encontrando una positividad del 27% para IgG y del 5% para IgE. Como no había ningún suero que fuera positivo conjuntamente a las dos inmunoglobulinas estudiadas, estos autores concluyeron que la seroprevalencia total era del 32%. Scherr y Scherr (1983) aplicando la técnica de hemaglutinación indirecta, analizaron la reactividad a *D. immitis* en sueros procedentes de un laboratorio de análisis clínicos en un área de Illinois donde la seroprevalencia en perros variaba entre el 10 y el 15%. Observaron 12 sueros positivos (5,2%).

Por último, Konishi (1989 a, b) realizó los primeros estudios epidemiológicos en el que se analizan en una misma área perros, mosquitos y personas. Por lo que se refiere a los humanos, estudió 917 sueros tomados al azar, 247 varones de edades comprendidas entre 20 y 87 años y 670 mujeres de edades entre 20 y 80 años. La frecuencia de los valores obtenidos

por ELISA variaron entre 0,04 y 2 de densidad óptica (D.O) en hombres y entre 0,05 y 2,04 en mujeres. Valores superiores a 2 fueron observados en 2 personas, un varón de 55 años y una hembra de 43.

1.7. Situación de los estudios sobre dirofilariosis en España

Hasta 1985 la situación de la dirofilariosis en España sólo se conocía por denuncias esporádicas del parásito en cánidos, no existiendo datos sobre especies vectoras ni sobre la infección en humanos. Sin embargo, en la última década se han incrementado los estudios sobre esta parasitosis en España, en particular sobre estudios de endemia canina. Diferentes estudios epidemiológicos demostraron que *D.immitis* es la especie predominante en la población canina española. Así, estudios realizados en Tenerife demostraban una prevalencia del 34% en la población canina (Valladares y López-Román, 1985). En un estudio que abarcó poblaciones caninas de la mayoría de las provincias españolas encontraron una prevalencia entre 0,6 y 28%, estimando una prevalencia media de 3,7% (Rojo et al., 1988). En un estudio realizado en la provincia de Salamanca en 1989 en una población representativa de perros se observó una prevalencia media del 12%, si bien en zonas de montaña de la parte sur de la provincia no se detectaba microfilaremia, por el contrario en áreas con abundante regadío se observaba una prevalencia de hasta un 33% (Perez Sánchez et al., 1989).

En el Índice Catálogo de Zooparásitos Ibéricos (Cordero del Campillo, 1980) se mencionan las especies de *Aedes echinus*, *A. caspius* y *A. verlandi* como vectores de *D.immitis*. Así mismo, Encinas Grandes (1982) al estudiar los mosquitos de la provincia de Salamanca sugirió que *A. vexans* y *A. caspius* podrían ser vectores del parásito en el valle del Tormes. No obstante, no existen, que nosotros sepamos, estudios que demuestren la capacidad vectorial de alguna de las especies de mosquitos existentes en España, en el medio natural.

1.8. Prevención y tratamiento

El eslabón clave en la prevención de la dirofilariosis lo constituyen las actuaciones a nivel del hospedador definitivo, si bien medidas de lucha encaminadas al control de los vectores serán de gran ayuda para la profilaxis de esta parasitosis. La pauta de actuación está en función de los resultados obtenidos en los análisis previos de la sangre de los animales. El protocolo terapéutico y preventivo se divide en varios apartados.

1.8.1. Tratamiento en perros parasitados

Puede realizarse con fármacos aduclitidas y/o fármacos microfilaricidas.

a) Tratamiento con fármacos aduclitidas

El fármaco más empleado en este caso es la tiacetarsamida sódica, compuesto del grupo de los arsenicales, semejante a la piperazina. Se administra por vía intravenosa a dosis de 0,22 ml., 2 veces al día, en dos días seguidos. Tiene un estrecho margen terapéutico. Su modo de acción se supone semejante al del resto de los arsenicales: se une a los grupos -SH de las proteínas e inhibe muchos procesos en los que intervienen éstas. Los vermes mueren en dos o tres semanas. Su eficacia es discutida. Se sabe que es más eficaz contra vermes adultos. Las hembras grávidas, antes de morir, expulsan millones de microfilarias a la sangre, por lo que aumenta la microfilaremia y los riesgos derivados de ésta. Es posible que su eficacia varíe también en función de las características del animal que se está tratando. Deben tenerse muy en cuenta los efectos secundarios debidos a la muerte de los gusanos. Cuando esto ocurre, se produce una liberación masiva de antígenos del parásito a la sangre. Esto origina fuerte inflamación del endotelio de los vasos, de los tejidos circundantes, embolias pulmonares, trombosis e infartos. Puede haber casos de muerte por shock anafiláctico. Se recomienda una vigilancia estricta del animal durante las 6 semanas siguientes al tratamiento, restringiendo su actividad física. Si se presentan complicaciones, se aplicarán esteroides para reducir la gravedad de los procesos alérgicos. Sin embargo, se sabe que la prednisona disminuye la eficacia de la tiacetarsamida. La aspirina puede regular la formación de trombos pero está totalmente contraindicada si el animal presenta hemoptisis u otros procesos hemorrágicos.

b) Tratamiento con fármacos microfilaricidas

Si durante las 6 semanas postratamiento no aparecen complicaciones, se debe comenzar con el tratamiento microfilaricida. Existen cuatro fármacos de posible aplicación aunque dos de ellos prácticamente no se utilizan por los efectos secundarios a los que pueden dar lugar. Son el fenitión, organosofarado con un margen terapéutico inadecuado y el levamisol que destruye muy bien las microfilarias pero puede causar efectos que van desde pérdida del apetito y vómitos a trastornos neurológicos y muerte. Los dos fármacos microfilaricidas más empleados son la di-tiazanina yodada, derivado de la fenotiazina y que produce como efectos secundarios vómitos y diarrea con coloración por depósitos de yodo, y la ivermectina, del grupo de las avermectinas. Su acción dura casi un mes. Actúa sobre el sistema neuromotor de los nematodos, interfiriendo la acción del sistema GABA, bloqueando las neuronas motoras. Sus efectos secundarios son leves: salivación, vómitos, letargo y anorexia (24 horas postratamiento). No obstante, puesto que hay destrucción de microfilarias, es

necesario observar al perro durante las 6-8 horas posteriores al tratamiento por si aparecen reacciones alérgicas. Se utiliza a dosis única de 50 mg/Kg de peso. Son necesarios nuevos test al finalizar el tratamiento para determinar si quedan microfilarias en sangre.

1.8.2. Prevención en perros no parasitados

Dadas las características epidemiológicas de esta parasitosis sólo es posible la prevención medicamentosa. Dos son los fármacos que más se utilizan. La dietilcarbamazina, derivado piperazínico, que se emplea a dosis diarias de 5,5mg/kg de peso durante el periodo de actividad de los mosquitos mas dos meses. Actúa sobre la cubierta de los vermes favoreciendo la adherencia de los leucocitos. Sobre las reacciones adversas existen opiniones diferentes, unos autores opinan que no hay y otros que aparecen en el 20% de los casos y varían desde ligeras a muy graves como la muerte del animal. La ivermectina es el otro fármaco empleado para la prevención de esta afección. Son suficientes dosis mínimas de 6 µg/kg de peso una vez al mes durante el periodo de actividad de los mosquitos.

Actualmente se ha demostrado en estudios de campo que un fármaco denominado moxidectina alcanza una eficacia del 100% en la prevención de la infestación por *D.immitis*.

1.8.3. Prevención en vectores

Algunos de los estudios que tratan sobre aspectos de la capacidad vectorial de los hospedadores intermediarios o de la respuesta inmune de los mismos, señalan la existencia de factores bioquímicos y genéticos que determinan que una especie de mosquito pueda o no ser refractaria a las microfilarias de *D.immitis*. Por otro lado, y dadas las características epidemiológicas de esta parasitosis, la prevención en este eslabón del ciclo no ha sido tratada con métodos de uso habitual, como el empleo de insecticidas. Por todo esto, es de suponer que los estudios sobre el control de los vectores en años venideros, se centrarán fundamentalmente en el estudio exhaustivo de los caracteres bioquímicos y genéticos de dichos vectores para obtener especies refractarias a ese parásito.

2. ESTUDIOS REALIZADOS SOBRE DIROFILARIOSIS HUMANA EN LA PROVINCIA DE SALAMANCA

2.1. Introducción

Nuestro grupo de investigación se ha centrado en los estudios sobre la dirofilariosis humana, partiendo del elevado número de casos encontra-

dos en ciertas áreas de dirofilariosis canina. Para realizar este estudio, se pusieron a punto una serie de técnicas inmunológicas que se emplearon para definir las características epidemiológicas y analizar las variaciones estacionales de la respuesta inmune humoral. Por otro lado, y mediante exploraciones clínicas y radiológicas se delimitaron las características clínicas de la enfermedad. Tanto la metodología utilizada, como los resultados y conclusiones obtenidas se exponen en los siguientes apartados.

2.2. Materiales y metodología empleada para el estudio clínico y epidemiológico de la dirofilariosis humana en la provincia de Salamanca

2.2.1. Areas de estudio

2.2.1.1. Zona de salud de la Alberca

Analizamos 100 sueros procedentes de esta zona situada en el Sur de la provincia (figura 4) que sirvieron como control negativo de zona. Estos sueros fueron tomados al azar entre personas que acudieron a consulta médica por causas no relacionadas con nuestros estudios.

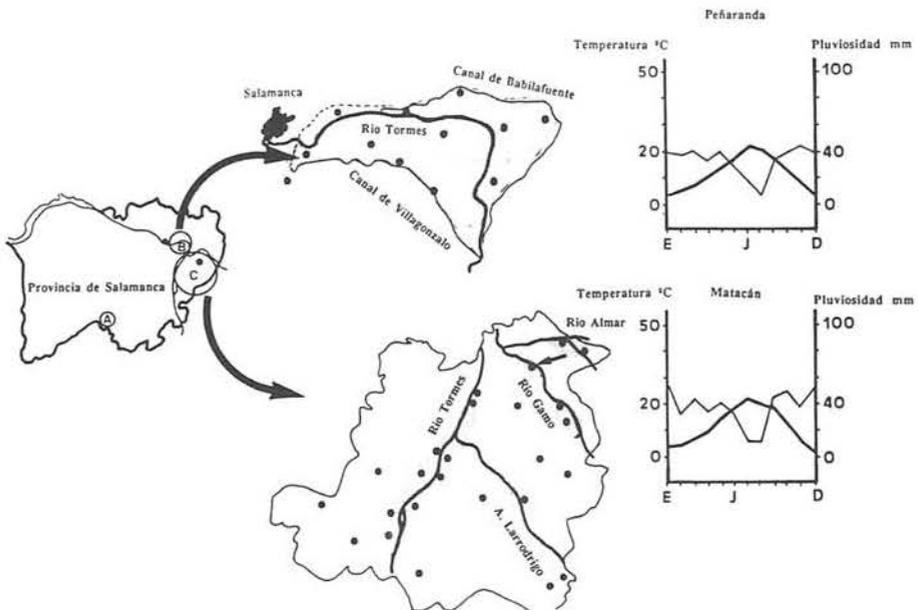


FIGURA 4. Areas de endemia canina de dirofilariosis de la provincia de Salamanca donde se han realizado los estudios: (A) Zona de salud de la Alberca. (B) Zona de Santa Marta de Tormes. (C) Zona de salud de Alba de Tormes. La flecha indica la situación del término municipal de Garcibernández. Las zonas sombreadas indican aproximadamente la extensión de los regadíos.

Se eligió esta zona para tomar la muestra control negativa porque en el estudio de la filariosis canina realizado en la provincia de Salamanca (Perez Sánchez et al., 1989), no se encontró ningún perro parasitado por *D.immitis*.

2.2.1.2. Zona de salud de Santa Marta de Tormes

Estudiamos 122 sueros de residentes en la zona comprendida entre el término municipal de Santa Marta de Tormes y el de Encinas de Abajo (figura 4). Esta cifra supone el 1,3% de la población total. El muestreo fue realizado al azar entre personas que acudieron a consulta médica por causas diferentes a las de nuestro interés. Por sexos, la muestra estaba compuesta de 80 mujeres y 42 varones. Por edades, agrupando los sueros por veintenas, resultaron 11 individuos de menos de 20 años, 38 entre 20 y 39 años, 38 entre 40 y 59 y 35 de 60 años o más. La media de edad del total de la muestra fue de 46,38 años, de las mujeres 45,7 y de los varones 46 años.

El área, está limitada al Norte y al Sur por los canales de Babilafuente y Villagonzalo respectivamente. Todos los términos municipales son ribereños del río Tormes. Su altitud media es de 800 metros sobre el nivel del mar, siendo la agricultura casi exclusivamente de regadío.

La población residente de manera más o menos permanente se agrupa en pequeños pueblos que no superan los 1000 habitantes, salvo el de Santa Marta que posee 5000. Existe además una población flotante dispersa en chalets y zonas residenciales a lo largo de los márgenes del río Tormes, cuya presencia es más continuada durante los meses del verano (actividad de los mosquitos).

En esta zona, se observó una prevalencia de *D.immitis* en perros del 33,3% (Perez Sánchez et al., 1989). Encinas Grandes (1982) encontró en el periodo comprendido entre finales de primavera y otoño poblaciones muy numerosas de mosquitos de las especies *A. vexans* y *A. caspius*, y ya entonces especuló sobre su posible papel en la transmisión de este parásito.

Los datos climáticos: pluviosidad y temperatura se recogen en la figura 4.

2.2.1.3. Zona de salud de Alba de Tormes

Se analizaron 213 sueros procedentes de la Zona de Salud de Alba de Tormes que incluye el territorio señalado en la figura 4.

El muestreo se realizó con las mismas características que en el grupo anterior. La muestra corresponde a un 1,4% de la población total. Por sexos la distribución fue de 105 mujeres y 108 varones. Por edades se analizaron 7 de menos de 20 años, 51 de 20 a 39 años, 75 entre 40 y 59 años y 80 de más de 60 años. La media de edad de la población total fue de 49,7 años, la de las mujeres 48,2 y la de los varones de 51,2 años.

Esta zona agrupa numerosos términos municipales, unos ribereños del Tormes o sus afluentes y otros carentes de esta condición. Su altitud media es de 850 m. sobre el nivel del mar alternando la agricultura de secano con la de regadío, que se encuentra circunscrita a las cercanías de algunos de los pueblos.

La población reside casi en su totalidad en los núcleos rurales, si bien existen pequeñas alquerías y granjas con escasos habitantes.

Una de estas granjas fue estudiada por Pérez Sánchez y cols. (1989), observando alta prevalencia de *D.immitis* en los perros de dicha finca. Faltan así mismo datos sobre las especies de mosquitos de la zona, no obstante la existencia de zonas de regadío cercanas a los pueblos nos indujo a muestrear también este área.

Los datos climáticos: pluviosidad y temperatura se recogen en la figura 4.

2.2.1.4. *Término municipal de Garcibernández*

Para estudiar la evolución de la respuesta inmune humoral se analizaron los sueros de 60 individuos una vez en cada estación del año. La muestra corresponde al 7,5% del censo total del pueblo. Esta se tomó al azar pero de tal manera que estuvieran representados proporcionalmente a la realidad, los sexos y las edades. La composición de la muestra fue de 30 mujeres y 30 varones. Por edades, 9 individuos tenían menos de 20 años, 14 entre 20 y 39, 19 entre 40 y 59 y 18 sesenta años o más. La media de edad de la muestra fue de 45,6 años, la de las mujeres 46,5 y la de los hombres 44,7 años.

El estudio se realizó en un pueblo de 800 habitantes situado a 830 metros de altura sobre el nivel del mar. En su término municipal predominan los cultivos de regadío sobre los de secano, por lo que existen en las proximidades del núcleo urbano, numerosas corrientes de agua, tanto naturales como artificiales.

Muestreos previos de la población canina mostraron una prevalencia de *D.immitis* del 30%.

Este término municipal pertenece al Área de Salud de Alba de Tormes, por lo que sus características climáticas se describen en el apartado correspondiente (figura 4).

Con vistas a establecer los posibles factores de riesgo, realizamos una encuesta epidemiológica a cada individuo según modelo que se adjunta (cuadro 1), recabando información sobre el tipo de ocupación, condiciones de habitabilidad de su vivienda, cercanía de éstas a huertos o zonas con agua, medidas preventivas de entrada de mosquitos y relación con animales, especialmente perros. Esta encuesta fue ciega, ya que el encuestador desconocía los resultados de los análisis en el momento de realizarla.

CUADRO 1
Modelo de encuesta epidemiológica.

EDAD	SEXO	E. CIVIL	N.I.P.	<input type="text"/> / <input type="text"/>
PROFESION	Agricultor <input type="checkbox"/>	Jubilado <input type="checkbox"/>	Ganadero <input type="checkbox"/>	Otros <input type="checkbox"/>
	Porcentaje de dedicación Secano/Regadío <input type="text"/> / <input type="text"/>		Ropa que lleva en el trabajo	
	Propietario de huertos <input type="checkbox"/>			
VIVIENDA	Húmeda <input type="checkbox"/>	Seca <input type="checkbox"/>	Soleada <input type="checkbox"/>	Depósito de aguas <input type="checkbox"/>
	Establo <input type="checkbox"/>	Corral <input type="checkbox"/>	Jardín <input type="checkbox"/>	Estiércol <input type="checkbox"/>
	Sistema de prevención de mosquitos <input type="checkbox"/>			
RELACION CON ANIMALES				
	Tienes animales <input type="checkbox"/>			
	Ubicación:			
	En casa <input type="checkbox"/>		Alejados <input type="checkbox"/>	
	Tipos de animales:			
	Ganado <input type="checkbox"/>		Aves <input type="checkbox"/>	
	Perros <input type="checkbox"/>		de compañía <input type="checkbox"/>	
			de caza <input type="checkbox"/>	
			de producción <input type="checkbox"/>	
	Animales de los vecinos			
	Ganado <input type="checkbox"/>		Aves <input type="checkbox"/>	
	Perros <input type="checkbox"/>		de compañía <input type="checkbox"/>	
			de caza <input type="checkbox"/>	
			de producción <input type="checkbox"/>	
	Relación profesional con animales: <input type="checkbox"/>			

2.2.2. Técnicas utilizadas

Pusimos a punto dos técnicas de ELISA diferentes que se detallan comparativamente en el cuadro 2: Un ELISA directo para la detección de IgM e IgG específicas anti *D.immitis*, basado en el empleo de antígeno completo de vermes adultos, obtenidos mediante autopsias de perros inestados y a los que previamente se le había detectado microfilaremia mediante el test de Knott. Para el análisis de IgM los sueros se fraccionaron por paso a través de columnas de DEAE Sephadex A-50 para prevenir las interferencias entre IgG e IgM.

Además pusimos a punto una modificación del ELISA para la detección de IgE. En esencia el método consiste en la captación de las IgE séricas mediante tapizado de las placas con una Anti-IgE monoclonal y detección de las IgE específicas anti *D.immitis* con antígeno completo de vermes adultos marcado por nosotros con peroxidasa de rábano picante. Los sueros se adsorbieron siempre previamente con antígenos de especies de parásitos prevalentes en la zona: *Toxocara canis*, *Ascaris lumbricoides*, *Fasciola hepatica* y *Echinococcus granulosus*.

2.2.3. Estudios clínicos y radiológicos

Los enfermos seropositivos fueron avisados por correo, invitándoles a revisión.

Acudieron a la misma 39 enfermos, de los que 26 eran mujeres y 13 varones.

Todos los enfermos fueron sometidos a anamnesis por aparatos y exploración física completa, así como a recogida de datos sobre el proceso que motivó la necesidad de que se les realizara analítica.

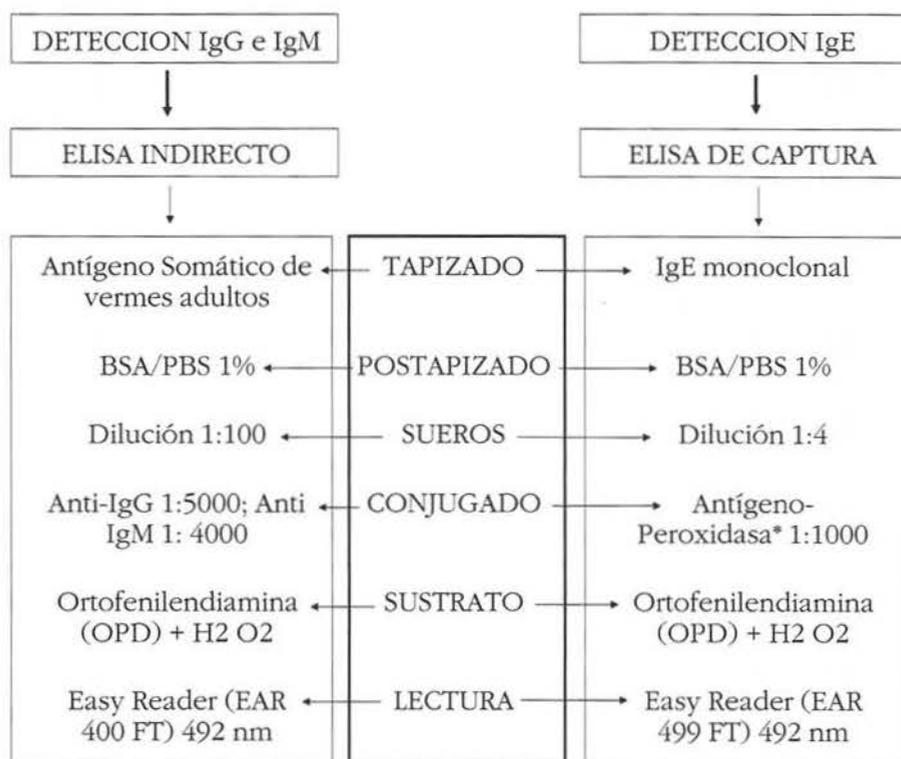
Los enfermos también fueron sometidos a estudio radiológico de tórax. A los enfermos que disponían de estudios radiológicos previos se les solicitó el mismo a fin de compararlo con el realizado en el momento del estudio. En el caso de encontrar nódulos pulmonares calcificados pequeños, interpretados como lesiones granulomatosas residuales, sólo se valoraron aquellos casos en que, disponiendo de radiología previa, la lesión era de aparición reciente. Aquellos casos con granulomas calcificados en que no se disponía de placas previas o éstas mostraban una lesión similar en la misma localización fueron considerados como normales a los efectos de este estudio.

2.2.4. Análisis estadísticos

Los datos se examinaron estadísticamente mediante el test de la t de Student. Las cualitativas se examinaron con cuadros de contingencia con

los grados de libertad adecuados y corrección de Yates para muestras pequeñas. Cuando se compararon variables cuantitativas y cualitativas se utilizó el test de análisis de la varianza. Estos estudios se realizaron mediante el programa Staview 512+.

CUADRO 2
Esquema comparativo de la metodología usada para la detección de IgG e IgM mediante ELISA indirecto y para la detección de IgE mediante ELISA de captura antigénica.



* El sustrato antigénico se unió previamente a la peroxidasa de rábano según la metodología descrita por Kawaoui y Nakane.

2.3. Resultados obtenidos

2.3.1. Estudios epidemiológicos

Los resultados de nuestro estudio indican que en el conjunto de la población analizada (Simón et al., 1991; Espinoza et al., 1993), tanto en el área de salud de Santa Marta de Tormes como en el de Alba de Tormes, la seroprevalencia global observada es del 20,97%. Analizando cada isotipo de inmunoglobulinas (Ig), detectamos unas seroprevalencias de 5,67% para IgG, 2,68% para IgM, y 12,62% para IgE. Solo un individuo mostró seropositividad simultáneamente a IgG e IgE (Tabla I).

TABLA I
Seroprevalencia de las diferentes inmunoglobulinas estudiadas.

IgG	%	IgM	%	IgE	%
19(335)	5.67	9(335)	2.68	38(301)	12.62

La distribución por edades de estas seroprevalencias muestra que el isotipo predominante en la población mas joven es IgM, mientras que la IgG es en la población mas vieja. El isotipo IgE muestra prevalencias semejantes en los distintos grupos de edad (Tabla II).

TABLA II
Seroprevalencia de inmunoglobulinas por grupos de edad.

	IgG	%	IgM	%	IgE	%
0-19	0(17)	0	2(17)	11.76	2(14)	14.28
20-39	4(90)	4.44	7(90)	7.77	11(82)	13.41
40-59	5(113)	4.42	0(113)	0	13(104)	12.5
≥60	10(115)	8.69	0(115)	0	12(101)	11.88

Por sexos, no existen diferencias estadísticamente significativas entre hombres y mujeres en los isotipos IgG e IgM. Por el contrario, si se observan diferencias en IgE, con predominio en las mujeres (Tabla III).

TABLA III
Seroprevalencia de inmunoglobulinas por sexos.

	IgG	%	IgM	%	IgE	%
Hombres	7(150)	4.66	4(150)	2.66	12(137)	8.75
Mujeres	12(185)	6.48	5(185)	2.7	26(164)	15.85

Análisis realizados en la población del termino municipal de Garcihernández a lo largo de 1 año (Muro et al., 1991) demostraron que existían variaciones estacionales de anticuerpos anti-*D.immitis*. De esta manera, se observó altos niveles de IgM durante el verano, época de mayor actividad de los mosquitos, declinando posteriormente a lo largo del mismo. Por el contrario, los niveles de IgG experimentaron un gradual ascenso hasta llegar a su máximo en la época invernal, descendiendo bruscamente en primavera. Al igual que las IgM, las IgE presentaron sus niveles máximos en verano con un descenso mas brusco y temprano que las IgM (figuras 5 y 6).

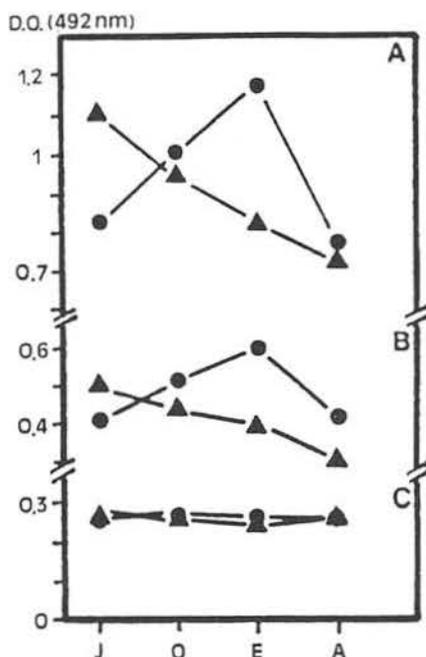


FIGURA 5. Evolución anual de los niveles de inmunoglobulinas. (A) Seropositivos. (B) Conjunto de la población endémica. (C) Grupo control. (•) IgG. (▲) IgM

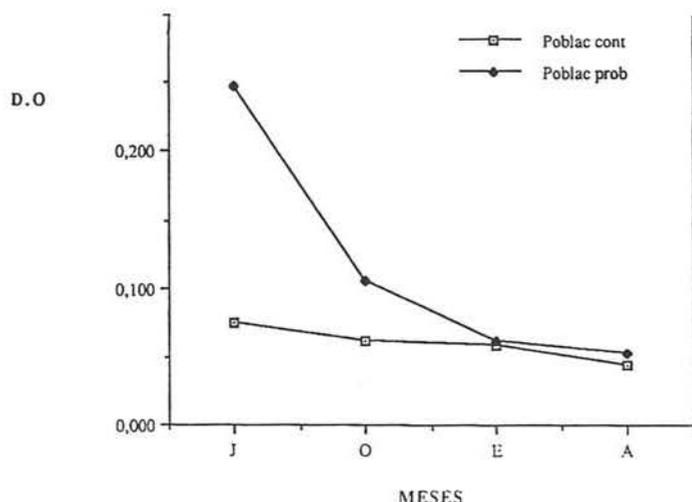


FIGURA 6. Evolución anual de los niveles de inmunoglobulinas E (IgE).

El análisis de la encuesta epidemiológica (Muro et al., 1991) muestra que existe una asociación significativa entre la actividad profesional y la seropositividad a IgG. Sin embargo, el grupo profesional asociado con este riesgo es el de los jubilados y esta asociación no es independiente de la edad.

2.3.2. Estudios clínicos

Los enfermos estudiados han sido clasificados en distintos grupos atendiendo a diferentes criterios de selección:

1. Considerando la presencia o no de síntomas en dos grupos, se separaron en sintomáticos y asintomáticos.
2. De acuerdo con las alteraciones radiológicas se han dividido en tres grupos:
 - a) enfermos sin alteración radiológica,
 - b) enfermos con nódulo solitario pulmonar (figuras 7 y 8) y
 - c) enfermos en los que se apreció aparición de una lesión nodular calcificada pequeña, interpretada como granuloma calcificado (figura 9).

Siguiendo este esquema, en el estudio de hallazgo de casos hemos encontrado: 2 individuos sintomáticos con nódulo solitario pulmonar transitorio (Cordero et al., 1990 y 1992 a); 1 caso sintomático y otro asintomático con nódulo pulmonar estable; y 1 individuo sintomático y 2 asintomáticos con granuloma calcificado (Cordero et al., 1992 b).



FIGURA 7. *Radiografía antero-posterior de torax en la que se observa un nódulo solitario pulmonar.*



FIGURA 8. *Tomografía axial computerizada (TAC) en la que se observa un nódulo solitario pulmonar.*

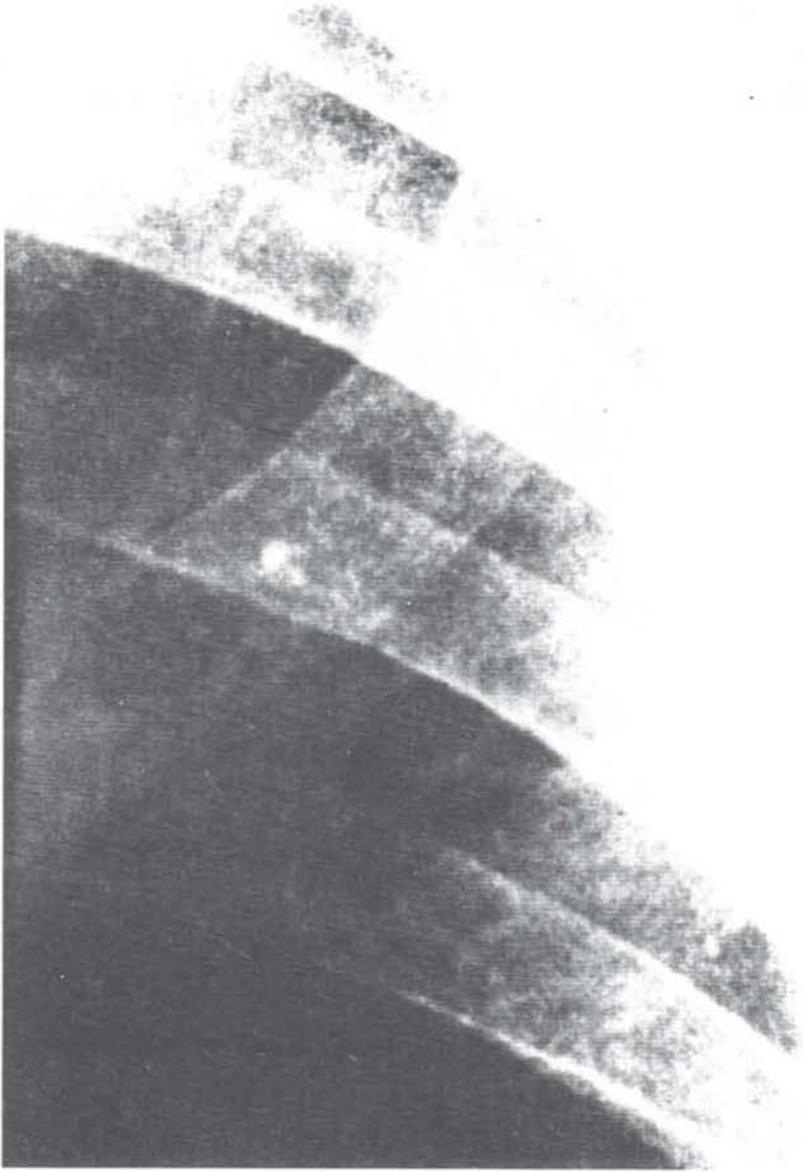
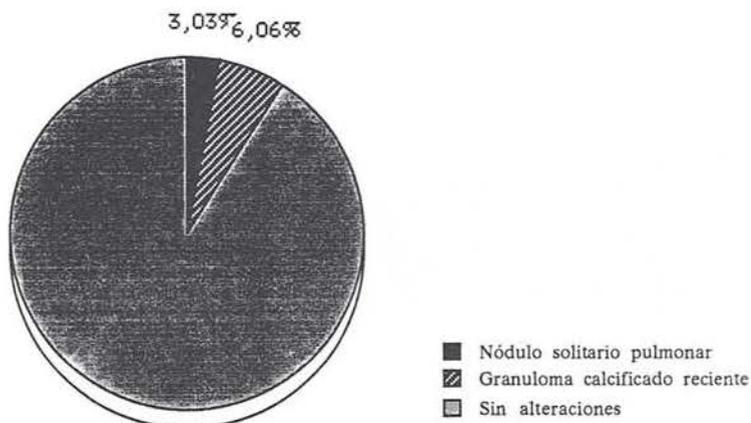


FIGURA 9. *Radiografía antero-posterior de tórax donde se observa una lesión nodular calcificada pequeña.*

La distribución de la población estudiada de acuerdo con estos criterios se muestra en la figura 10. La asociación entre presencia de sintomatología y aparición de nódulos es altamente significativa.

Alteraciones radiológicas en enfermos asintomáticos



Alteraciones radiológicas en enfermos sintomáticos.

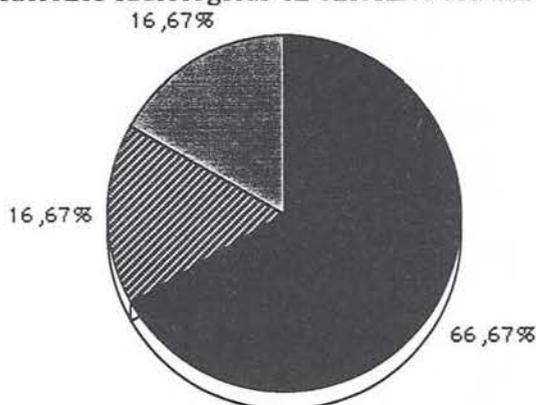


FIGURA 10. Distribución de las alteraciones radiológicas en enfermos de dirofilariosis.

2.4. Comentarios y conclusiones

A pesar de los diversos estudios realizados sobre la dirofilariosis canina en nuestro país (Valladares y López-Román, 1985; Rojo et al., 1988; Pérez Sánchez et al., 1989), no existían trabajos referentes a la situación de esta parasitosis en humanos. Nuestro grupo fue el pionero en esta investi-

gación, demostrando la existencia de prevalencias elevadas de anticuerpos anti-*D.immitis* en personas residentes en zonas de endemia canina detectadas en la provincia de Salamanca. Estos hallazgos demuestran el riesgo que supone para las poblaciones humanas la existencia de este parásito en los perros.

La detección de diferentes isotipos (IgG, IgM, e IgE) de anticuerpos se realizó mediante diferentes técnicas de enzimoimmunoensayo (ELISA) que nos permitió abordar de una manera no agresiva y eficaz el diagnóstico de esta parasitosis. Destacamos desde el punto de vista epidemiológico los datos más llamativos:

1. El hecho de que existan seroprevalencias elevadas a los tres isotipos de inmunoglobulinas estudiadas y que salvo en un caso no concomitan, nos indica que los contactos con el parásito son muy frecuentes (Muro et al., 1990; Espinoza et al., 1993).

2. La existencia tanto de seropositivos como de niveles elevados de IgM en jóvenes, así como de IgG en la población de mayor edad, muestra que los primeros contactos suelen producirse a edad temprana y que a lo largo de los años la posibilidad de infecciones reiteradas es alta (Simón et al., 1991).

3. El conocimiento del patrón de evolución de las tres inmunoglobulinas estudiadas en la población expuesta es importante para la aplicación de un diagnóstico eficaz, tanto desde un punto de vista epidemiológico como individual, puesto que los niveles de anticuerpos varían en función de la época del año y de la edad de los individuos (Muro et al., 1991).

4. El único factor de riesgo asociado con seropositividad frente a *D. immitis* en personas residentes en zonas endémicas es la edad (Muro et al., 1991).

Desde el punto de vista clínico, debemos señalar en primer lugar que en la población estudiada la dirofilariosis aparece fundamentalmente de manera subclínica. La mayoría de los individuos seropositivos son asintomáticos en el momento de la investigación serológica y no tienen lesión radiológica. Sin embargo, en pacientes sintomáticos son frecuentes las alteraciones radiológicas, existiendo una asociación estadísticamente significativa entre sintomatología presente y anormalidad radiológica.

Clínicamente los síntomas (cuando estos se presentan) son inespecíficos, con diferentes combinaciones de dolor torácico, malestar, fiebre baja y tos. Sólo uno de nuestros pacientes fue inicialmente diagnosticado de tromboembolismo pulmonar. Es importante indicar que ninguno de estos pacientes habría sido diagnosticado de dirofilariosis si no se hubiera realizado un diagnóstico serológico. Por tanto, esto parece indicar que la dirofilariosis humana es una enfermedad en la que no se piensa para su diagnóstico.

Otro aspecto de interés en los estudios clínicos es el referente a las manifestaciones radiológicas de la enfermedad. Los nódulos solitarios pulmonares eran la única lesión radiológica descrita hasta el momento, sin embargo, en nuestras investigaciones hemos encontrado formas radiológicas diferentes. En este sentido, la aportación más interesante basada en los estudios de hallazgo de casos es la descripción de manifestaciones radiológicas no comunes de la dirofilariosis humana. La primera de ellas la constituyen los nódulos solitarios pulmonares transitorios (Cordero et al., 1990 y 1992 a). La transitoriedad de estas lesiones sugiere que algunos pacientes seropositivos con radiografías normales de torax han debido tener nódulo pero en el momento de la exploración radiológica esta nodulación haya desaparecido. Otras lesiones encontradas en nuestra serie, no descritas anteriormente en asociación con la dirofilariosis, son pequeños granulomas calcificados (Cordero et al., 1992 b), habitualmente identificados con infecciones de origen micobacteriano o fúngico. Si consideramos que la dirofilariosis humana es presentada radiológicamente como un granuloma, debemos considerar sospechosos de tener esta enfermedad a individuos en los que se detecten estas lesiones residuales.

Como consecuencia de la gran seroprevalencia observada, de que según nuestra experiencia ninguno de los casos de la dirofilariosis humana encontrada en Salamanca hubiera sido diagnosticado adecuadamente sin la aplicación de métodos serológicos, y de las diferentes formas de presentación radiológica de la dirofilariosis pulmonar, pensamos que una cuestión de interés transcendental es diseñar un método serológico simple y eficaz para el diagnóstico de la dirofilariosis humana. Actualmente estamos identificando en nuestro laboratorio antígenos específicos de *D. immitis* que sirvan para este contenido, así una proteína de 22 kilodaltons (kDa) identificada en el complejo de vermes adultos del parásito reacciona solamente con sueros de individuos con nódulos pulmonares. Otros polipéptidos específicos de los productos excretores / secretores de adultos y de los somáticos de L3 están siendo estudiados.

Podemos concluir que la mayoría de los individuos infectados no desarrollan la enfermedad y que un elevado número de personas, por las razones expuestas anteriormente, no son diagnosticados de dirofilariosis pulmonar. Actualmente no conocemos qué porcentaje de individuos seropositivos tienen dirofilariosis pulmonar, ya que la positividad puede ser debida al mero contacto con L3 en el tejido subcutáneo. No obstante, nuestros hallazgos de manifestaciones radiológicas como la presencia de nódulos pulmonares solitarios transitorios y granulomas calcificados pequeños, nos hace pensar que existen un número elevado de casos que pasan desapercibidos.

AGRADECIMIENTOS

Deseamos expresar en primer lugar y de manera especial nuestro agradecimiento al Dr. Fernando Simón Vicente, a D. Juan Martín, Da. Rosa Muñoz, Da. Lorena Perera, Da. Elsa Espinoza y a Da. Belén Santamaría porque han intervenido de manera muy significativa en el desarrollo de estas investigaciones.

En segundo lugar, también expresamos nuestro agradecimiento al Fondo de Investigaciones Sanitarias de la Seguridad Social y a la Junta de Castilla y León por la financiación ofrecida en diferentes convocatorias, lo que ha permitido el desarrollo de este trabajo.

BIBLIOGRAFÍA

- ADKINS, A. B. y DAO, A. H.: «Pulmonary dirofilariasis: a diagnostic challenge», *South. Med. J.* 77: 372-374, 1984.
- AWE, R. J.; MATTOX, K. L.; ALVAREZ, A.; STORK, W. J.; ESTRADA, R. y GREENBERG, S. D.: «Solitary and bilateral pulmonary nodules due to *Dirofilaria immitis*», *Am. Rev. Resp. Dis.* 112: 445-449, 1975.
- BARRIGA, O. O.: «Dirofilariasis» CRC. Handbook Series in Zoonoses Steele. J. H. Ed.: *Section C: Parasitic zoonoses*, vol II. CRC. Press Ink. Boca Ratón, Florida 93-109, 1982.
- BEAVER, P. C.; JUNG, R. C. y CUPP, E. W.: «Spirurida: Dracunculus y otros». 1ª ed. *Parasitología clínica*. Salvat. 363-431, 1986.
- BEAVER, P. C. y ORIHIEL, T. C.: «Human infection with filariae of animals in the United States», *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 14: 1010-1029, 1965.
- CIFERRI, F.: «Human pulmonary dirofilariasis in the United States: a critical review», *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 31: 302-308, 1982.
- CORDERO, M.; MUÑOZ, M. R.; MURO, A.; SIMÓN, F.: «Transient solitary pulmonary nodule caused by *Dirofilaria immitis*», *Eur. Respir. J.* 3: 1070-1071, 1990.
- CORDERO, M.; MUÑOZ, M. R.; MURO, A.; SIMÓN, F. y PERERA, L.: «Small calcified nodule: an undescribed radiologic manifestation on human pulmonary dirofilariasis», *J. Infect. Dis.* 165: 398-399, 1992 a.
- CORDERO, M.; MURO, A.; SIMÓN, F.; TAPIA, J. I. y ESPINOZA, E.: «Are transient pulmonary solitary nodules a common event in human dirofilariosis?», *Clin. Invest.* 70: 437-440, 1992 b.
- CORDERO DEL CAMPILLO, M.: «Índice catálogo de zooparásitos ibéricos», Servicio de Publicaciones del Ministerio de Sanidad y Seguridad Social, pp. 579, 1980.

- DASHIELL, G. F.: «A case of dirofilariosis involving the lung», *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 10:37-39, 1961.
- DESOWITZ, R. S.; RUDOLPH, R. y BARNWELL, J. W.: «Antibodies to canine helminth parasites in asthmatic and nonasthmatic children», *Int. Archs. Allergy appl. Immun.* 65: 361-366, 1981.
- ENCINAS GRANDES, A.: «Taxonomía y Biología de los mosquitos del área salmantina (Diptera: Culicidae)». Ed. Univ. Salamanca, pp. 417, 1982.
- ESPIÑOZA, E.; CORDERO, M.; MURO, A.; LORENTE, F. y SIMÓN, F.: «Anti-*Dirofilaria immitis* IgE: Seroepidemiology and seasonal variation in an exposed human population», *Trop Med. Parasitol.* 44: 172-176, 1993.
- FARBER, H. W. y LAGUARDA, R.: «Human pulmonary dirofilariasis infection», *Ann. Intern. Med.* 106: 777-778, 1987.
- FAUST, E. C.; AGOSIN, M. y GARCÍA LAVERDETA: «Unusual findings of filarial infections in man», *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1: 239-249, 1952.
- GENCHI, C.; TRALDI, G.; MANFREDI, M. T.: «Epidemiology of canine heartworm infection in northern Italy», *Momentum* 3: 11-12, 1988.
- HAWKINS, A. G.; HSIV, J. G.; SMITH III, R. M.; STITIK, F. P.; SIDDIKY, M. A. y EDWARDS, O. E.: «Pulmonary dirofilariasis diagnosed by fine needle aspiration biopsy», *Acta Cytologica.* 29: 19-22, 1985.
- KANEKO, H.; HAYASAKI, M. y ONISHI, I.: «Antigenic identification of excretory-secretory products of adult *Dirofilaria immitis*», *Jap. J. Vet. Sci.* 52: 995-1000, 1990.
- KOCHAR, A. S.: «Human pulmonary dirofilariasis: report of three cases and brief review of the literature», *Am. J. Clin. Pathol.* 84:19-23, 1985.
- KONISHI, E.: «*Culex tritaeniorhynchus* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) as natural vectors of *Dirofilaria immitis* (Spirurida: Filaridae) in Miki City, Japan», *J. Med. Entomol.* 26: 294-300, 1989 a.
- KONISHI, E.: «Enzyme-linked immunosorbent assay to detect antigens of *Dirofilaria immitis* (Spirurida: Filaridae) larvae in *Aedes albopictus* and *Culex tritaeniorhynchus* (Diptera : Culicidae)», *J. Med. Entomol.* 26: 113-117, 1989 b.
- KONISHI, E.: «Yearly change in antibody level to *Dirofilaria immitis* (Spirurida: Filaridae) among humans exposed naturally to infected mosquitoes», *J. Med. Entomol.* 26: 489-490, 1989 c.
- LEVY, D. A.; SCOTT, L. A.; HAMILTON, R. E.; D'ANTONIO, R. D. y SWINDLE, M. M.: «Dog heartworm infection potentials IgE in humans», *J. Allergy Clin. Immunol.* 71:115, 1983.
- MAGNARELLI, L. A.: «Presumed *Dirofilaria immitis* infections in natural mosquito populations of Connecticut», *J. Med. Entomol.* 15: 84-85, 1978.
- MARTIN, T. E. y COLLINS, G.H.: «Prevalence of *Dirofilaria immitis* and *Dipetalonema reconditum* in greyhounds», *Aust. Vet. J.* 62: 159-163, 1985.

- MIROSHNIKOV, V. P.; BAKUROV, E. D.; SAPACH, V. K.; ARTAMONOVA, A. A. y KHELBNIKOVA, O. S.: «Localization of dirofilariasis in humans», *Khirurgiia-Mosk. Jul.* 127-128, 1991.
- MIZRACHI, H. H.; LIEBERMAN, P. H.; TOLVI, S. S. y SUN, T.: «Pulmonary dirofilariasis: Mimicry of well different squamous carcinoma», *Human Patbol.* 20: 818-819, 1989.
- MOORE, M. P.: «The patologic aspects of ascaridiasis», *South. Med. J.* 47: 825-832, 1954.
- MURO, A.; CORDERO, M.; MARTÍN, J. y SIMÓN, F.: «Seroepidemiological studies on human pulmonary dirofilariasis in Spain», *Trop. Med. Parasitol.* 84: 209-213, 1990.
- MURO, A.; CORDERO, M.; RAMOS, A. y SIMÓN, F.: «Seasonal changes in the levels of anti-*D. immitis* antibodies in an exposed human population», *Trop. Med. Parasitol.* 42: 371-374, 1991.
- PÉREZ SÁNCHEZ, R.; GÓMEZ-BAUTISTA, M. y ENCINAS GRANDES, A.: «Canine filariasis in Salamanca (Northwest Spain)», *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 83: 143-150, 1989.
- PHILIPP, M. y DAVIS, T. B.: «Biochemical and immunologic characterization of a major surface antigen of *Dirofilaria immitis* infective larvae», *J. Immunol.* 136: 2621-2627, 1986.
- ROJO VÁZQUEZ, F. A.; ORTEGA MORA, L. M.; RÓDENAS, A. y GUERRERO, J.: «Prevalence of infestation by *Dirofilaria immitis* in Spain», *Momentum*, 3: 9-10, 1988.
- SATO, M.; KOYAMA, A.; IWAI, K.; KAWABATA, Y.; KOJIMA, S.: «Human pulmonary dirofilariasis with special reference to the ELISA for the diagnosis and follow-up study», *Z. Parasitenkd.* 71:561-563, 1985.
- SCHERR, B. A. y SCHERR, G. H.: «How many humans have canine heartworm?», *Diag. Med.* May/ June: 95-96, 1983.
- SCHIAVON, F.; NARDINI, S.; DEL MASCHIO, O; Busetto, A. y MANFRIN P.: «I criteri radiologici di definizione del nodulo polmonare solitario neoplastico. Osservazioni su di un caso di dirofilariosi polmonare», *Radiol Med Torino.*; 81: 552-5, 1991.
- SELBY, L. L. A.; CORWIN, R. M. y HAYES, H. H.: «Risk factors associated with canine heartworm infection», *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 176: 33-35, 1980.
- SIMÓN, F.; MURO, A.; CORDERO, M.; MARTÍN, J.: «A seroepidemiologic survey of human dirofilariosis in Western Spain», *Trop. Med. Parasitol.* 42: 106-108, 1991.
- SUN, S. y SUGANE, K.: «Immunodiagnosis of human dirofilariosis by enzyme-linked immunosorbent assay using recombinant DNA-derived fusion protein», *J. Helminthol.* 66: 220-226, 1992.

- VALLADARES, B. y LÓPEZ-ROMÁN, R.: «Presencia de *Dirofilaria immitis* en la isla de Tenerife». IV Congreso Nacional de Parasitología. Tenerife, Julio 1985.
- WELCH, J. S.; DOBSON, C. y FREEMAN, C.: «Distribution and diagnosis of dirofilariosis and toxocariosis in Australia», *Vet. J.* 55: 265-274, 1979.
- YOSHIMURA, H. y AKAO, N.: «Current status of human dirofilariasis in Japan», *Int. J. Zoon.* 12: 53-60, 1985.