



Facultad de Veterinaria

Trabajo de  
Fin de Grado

Presencia de nematodos  
cardiopulmonares de las  
familias Angiostrongylidae,  
Crenosomatidae y Trichuridae  
en perros de Galicia.

Rita María Quintela Tizón

**Grado en Veterinaria**

Año 2019

Modalidad del Trabajo: Experimental

## Licencia

Excepto donde se haga constar explícitamente, esta obra pertenece a Rita María Quintela Tizón y está bajo una licencia de “Creative Commons Reconocimiento 4.0 Internacional”.



## 1. RESUMEN

### Presencia de nematodos cardiopulmonares de las familias Angiostrongylidae, Crenosomatidae y Trichuridae en perros de Galicia

*Angiostrongylus vasorum*, *Crenosoma vulpis*, *Eucoleus aerophilus* (*Capillaria aerophila*) y *Eucoleus* (*Capillaria boehmi*) son nematodos cardiopulmonares que afectan a carnívoros domésticos y silvestres, aunque se ha comprobado que *E. aerophilus* puede afectar también a personas. La importancia de estos parásitos se ha incrementado notablemente en los últimos años, debido a un aumento en la detección del número de casos en la población canina. En este sentido, es especialmente llamativo el caso de *A. vasorum*, cuya expansión geográfica se ha multiplicado en los últimos años, pero cuyas causas todavía se desconocen. Sin embargo, en Galicia no se han realizado estudios que permitan conocer la presencia e importancia de estos parásitos. Así, y con objeto de estimar la prevalencia de estos nematodos en la población canina de Galicia, entre enero y abril de 2019 se recogieron y analizaron 95 muestras de perros abandonados, tras llegar a varios albergues de esta comunidad autónoma. Las muestras se recogieron del suelo poco después de ser eliminadas, y siempre antes de la administración de un tratamiento antiparasitario. Las muestras se procesaron mediante dos técnicas coprológicas: flotación en solución de sacarosa y migración larvaria o test de Baermann. Las L1 se identificaron morfológicamente.

Nuestros resultados indican que un elevado porcentaje de animales (78,95%) estaba infectado con endoparásitos. Aunque la gran mayoría presentaba parásitos gastrointestinales (77,89%), en un 8,42% se identificaron formas parasitarias de nematodos cardiopulmonares. Los más prevalentes fueron *E. aerophilus* (5,26%) y *E. boehmi* (2,11%), mientras que *Angiostrongylus vasorum* (0,5 larvas por gramo de heces –lpg) y *Crenosoma vulpis* (6,4 lpg) se hallaron en un 1,05% de los animales, respectivamente. La mayoría de los perros positivos a nematodos cardiopulmonares (87,5%) presentaron infecciones mixtas con otros parásitos gastrointestinales, siendo las combinaciones más comunes con *Trichuris* spp. (85,71%) y *Ancylostoma* spp. (71,43%).

Nuestros resultados demuestran la presencia de nematodos cardiopulmonares en perros de Galicia, aunque las prevalencias son bajas. Sin embargo, nuestros resultados pueden estar subestimando los porcentajes de infección reales, pues estas técnicas no permiten detectar infecciones en periodo de prepatencia y, además, la eliminación de huevos y L1 de estos nematodos en heces es intermitente.

**Palabras clave:** *Angiostrongylus vasorum*, *Crenosoma vulpis*, *Eucoleus aerophilus*, *Eucoleus boehmi*, perros, Lugo.

## Presencia de nematodos cardiopulmonares das familias Angiostrongylidae, Crenosomatidae e Trichuridae en cans de Galicia

*Angiostrongylus vasorum*, *Crenosoma vulpis*, *Eucoleus aerophilus* (*Capillaria aerophila*) e *Eucoleus boehmi* (*Capillaria boehmi*) son nematodos cardiopulmonares que afectan a carnívoros domésticos e silvestres, aínda que se demostrou que *E. aerophilus* tamén pode afectar ás persoas. A importancia destes parasitos aumentou notablemente nos últimos anos debido a un aumento na detección do número de casos na poboación canina. Neste sentido, o caso de *A. vasorum* é especialmente rechamante, pois a súa expansión xeográfica multiplicouse nos últimos anos, aínda que as súas causas descoñécense. Non obstante, en Galicia non se realizaron estudos que permitan coñecer a presenza e importancia destes parasitos. Deste xeito, e para estimar a prevalencia destes nematodos na poboación canina de Galicia, entre xaneiro e abril de 2019 recolléronse e analizáronse 95 mostras de cans abandonados despois de chegar a varios refuxios nesta comunidade autónoma. As mostras recolléronse do chan pouco despois de ser eliminadas e sempre antes da administración dun tratamento antiparasitario. As mostras foron procesadas por dúas técnicas coprolóxicas: flotación en solución de sacarosa e migración larvaria ou proba de Baermann. As L1 identificáronse morfolóxicamente.

Os nosos resultados indican que unha alta porcentaxe de animais (78,95%) estaban infectados con endoparasitos. Aínda que a gran maioría presentou parasitos gastrointestinais (77,89%), no 8,42% dos casos identificáronse formas parasitarias de nematodos cardiopulmonares. Os máis frecuentes foron *E. aerophilus* (5,26%) e *E. boehmi* (2,11%), mentres que *A. vasorum* (0,5 larvas por gramo de feces -lpg) e *C. vulpis* (6,4 lpg) estaban presentes nun 1,05% dos animais, respectivamente. A maioría dos cans positivos para nematodos cardiopulmonares (87,5%) presentaron infeccións mixtas con outros parasitos gastrointestinais, sendo as combinacións máis comúns con *Trichuris* spp. (85,71%) e *Ancylostoma* spp. (71,43%).

Os nosos resultados demostran a presenza de nematodos cardiopulmonares en cans galegos, aínda que as prevalencias son baixas. Non obstante, estes resultados poden estar subestimando as taxas de infección real, xa que estas técnicas non permiten detectar infeccións no período de prepatencia e, ademais, a eliminación de ovos e L1 destes nematodos nas feces é intermitente.

**Palabras chave:** *Angiostrongylus vasorum*, *Crenosoma vulpis*, *Eucoleus aerophilus*, *Eucoleus boehmi*, cans, Lugo.

## Occurrence of *Angiostrongylidae*, *Crenosomatidae* and *Trichuridae* cardiopulmonary nematodes in dogs from Galicia

*Angiostrongylus vasorum*, *Crenosoma vulpis*, *Eucoleus aerophilus* (*Capillaria aerophila*) and *Eucoleus boehmi* (*Capillaria boehmi*) are cardiopulmonary nematodes affecting domestic and wild carnivores, although it has been demonstrated that *E. aerophilus* can also infect people. The importance of these parasites has remarkably risen in recent years, mainly due to an increase in the detection of cases in canine populations. The case of *A. vasorum* is especially striking since its geographical expansion has recently increased, but the causes of it are still unknown. However, data on the presence and importance of these parasites in dogs from Galicia are limited. Thus, 95 samples of stray dogs were collected and analyzed between January and April of 2019 in order to estimate the prevalence of these nematodes in the canine population of Galicia. All samples originated from several shelters in this region, and they were collected from the ground shortly after being eliminated, and always before the administration of anthelmintic treatments. Samples were processed by two coprological techniques: flotation in sucrose solution and larval migration or Baermann test. First stage larvae (L1) were identified on the basis of morphological features.

Our results indicate that a high percentage of animals (78.95%) were infected with endoparasites. Although most of animals presented gastrointestinal parasites (77.89%), cardiopulmonary nematodes were identified in the 8.42% of samples. The most prevalent were *E. aerophilus* (5.26%) and *E. boehmi* (2.11%), while *A. vasorum* (0.5 larvae per gram of feces - lpg) and *C. vulpis* (6.4 lpg) were found both in the 1.05% of the animals. Most cardiopulmonary nematode-positive dogs (87.5%) presented mixed infections with other gastrointestinal parasites, especially with *Trichuris* spp. (85.71%) and *Ancylostoma* spp. (71.43%).

Our results demonstrate the presence of cardiopulmonary nematodes in Galician dogs, although the prevalences are low. However, these results may be underestimating the actual infection rates, since these techniques do not detect infections in the prepatent period and shedding of eggs and L1 of these nematodes in feces is intermittent.

**Key words:** *Angiostrongylus vasorum*, *Crenosoma vulpis*, *Eucoleus aerophilus*, *Eucoleus boehmi*, dogs, Lugo.

## 2. ÍNDICE

<b>Licencia .....</b>	<b>2</b>
<b>1. RESUMEN .....</b>	<b>3</b>
<b>3. ABREVIATURAS.....</b>	<b>8</b>
<b>4. INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>8</b>
4.1. ANGIOSTRONGILOSIS.....	10
4.1.1. Ciclo biológico .....	10
4.1.2. Factores epidemiológicos.....	11
4.1.3. Patogenia y signos .....	13
4.2. CRENOSOMOSIS .....	15
4.2.1. Ciclo biológico .....	15
4.2.2. Factores epidemiológicos.....	15
4.2.3. Patogenia y signos .....	17
4.3. CAPILARIOSIS .....	17
4.3.1. Ciclo biológico .....	17
4.3.2. Factores epidemiológicos.....	18
4.3.3. Patogenia y signos .....	19
4.4. DIAGNÓSTICO.....	19
4.4.1. Exploración física .....	20
4.4.2. Pruebas de imagen .....	20
4.4.3. Lavado broncoalveolar.....	20
4.4.4. Análisis hematológicos, bioquímicos y del fluido cerebroespinal .....	21
4.4.5. Análisis coprológico .....	21
4.4.6. Técnicas moleculares y métodos serológicos.....	23
4.4.7. Examen <i>postmortem</i> .....	23
4.5. TRATAMIENTO.....	23

---

4.6. PRONÓSTICO.....	25
4.7. PROFILAXIS .....	25
<b>5. OBJETIVOS .....</b>	<b>26</b>
<b>6. MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>	<b>26</b>
6.1. RECOGIDA DE MUESTRAS.....	26
6.2. PROCESADO DE MUESTRAS E IDENTIFICACIÓN DE AGENTES.....	27
6.2.1. Test de Baermann .....	27
6.2.2. Identificación larvaria .....	28
6.2.3. Flotación en solución de sacarosa e identificación de huevos.....	30
<b>7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>32</b>
7.1. PREVALENCIAS DE LOS PARÁSITOS ENCONTRADOS .....	32
7.2. PRESENCIA DE INFECCIONES MIXTAS.....	39
7.3. INFLUENCIA DE DIFERENTES FACTORES DE RIESGO .....	40
<b>8. CONCLUSIONES.....</b>	<b>43</b>
<b>9. BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>44</b>
<b>10. AGRADECIMIENTOS .....</b>	<b>50</b>

### 3. ABREVIATURAS

APTT: tiempo de tromboplastina parcial activa.  
CID: coagulación intravascular diseminada.  
dpi: días post-infección.  
ELISA: enzimoimmunoensayo.  
HD: hospedador definitivo.  
HI: hospedador intermediario.  
hpg: huevos por gramo.  
L1, L2, L3, L5: larvas de primer, segundo, tercer y quinto estadio.  
lpg: larvas por gramo.  
PCR: reacción en cadena de la polimerasa.  
PT: tiempo de protrombina.  
rpm: revoluciones por minuto.  
SNC: sistema nervioso central.  
spi: semanas post-infección.  
TAC: tomografía axial computerizada.

### 4. INTRODUCCIÓN

Las nematodosis cardiopulmonares son procesos clínicamente importantes en los cánidos domésticos, aunque todavía hay muchos aspectos que no se conocen por completo. Entre las especies más relevantes en el perro se encuentran *Angiostrongylus vasorum* y *Crenosoma vulpis*, pertenecientes a la Superfamilia Metastrongyloidea, y *Eucoleus aerophilus* y *Eucoleus boehmi*, de la Trichinelloidea (Bowman, 2011).

En la última década se ha demostrado un aumento en el número de animales afectados con estos nematodos en numerosas regiones del mundo, así como una diseminación geográfica desde zonas endémicas a otras consideradas libres (Traversa *et al.*, 2010). Las razones de esta expansión todavía no se conocen, pero se ha sugerido que el cambio climático, la estacionalidad y prevalencia de estos parásitos en las poblaciones de hospedadores intermediarios, el movimiento de las poblaciones de hospedadores definitivos, la falta de programas de control a gran escala, el aumento de concienciación entre veterinarios y los mejores métodos diagnósticos disponibles podrían ser clave (Koch y Willeßen, 2009). Además, las interacciones entre los

parásitos, sus hospedadores y el ambiente podrían tener una importante influencia sobre el riesgo de exposición a la enfermedad.

La importancia de estos parásitos radica también en su patogenicidad y en su potencial zoonótico (en el caso de *Eucoleus* spp.). Además, el diagnóstico es particularmente complicado, ya que estas nematodosis pueden presentarse con una amplia variedad de signos clínicos, en su mayor parte inespecíficos, que van desde casos asintomáticos hasta otros más graves y potencialmente fatales; todo ello, unido a que las pruebas radiográficas o hematológicas de uso diario en clínicas veterinarias tampoco permiten emitir un diagnóstico definitivo, hace que los errores de diagnóstico sean comunes (Ridyard, 2005).

El uso de métodos de diagnóstico apropiados es vital para la detección y el tratamiento tempranos de este problema, evitando en lo posible la transmisión y expansión del parásito y mejorando el pronóstico del paciente. Los más importantes son los análisis coprológicos, que permiten la detección de huevos y larvas de primer estadio; entre ellos destacan la extensión fecal (con baja sensibilidad), la flotación en soluciones de alta densidad y el método de Baermann. Este último está considerado el gold standard para el diagnóstico de la mayoría de las nematodosis cardiopulmonares (Koch y Willeßen, 2009). A pesar de ello, estos métodos presentan algunas desventajas, como problemas de sensibilidad debidos a la eliminación intermitente del parásito en heces o al período de prepatencia, que pueden ocasionar falsos negativos (Martínez-Pereira, 2010). En todo caso, el problema más frecuente se relaciona con que estos métodos no se realizan de manera rutinaria en las clínicas veterinarias, ya que estos parásitos no se incluyen generalmente en los diagnósticos diferenciales. Para poder detectar estos agentes, se tienen que buscar de manera específica, lo que no ocurre en la mayoría de casos (Traversa *et al.*, 2010). Teniendo esto en cuenta, el diagnóstico suele realizarse tarde, en un hospital de referencia, cuando el proceso ya ha empeorado, a veces de manera irreversible. La formación y concienciación del veterinario y la mejora de los métodos de control y de diagnóstico en los laboratorios es de gran importancia, especialmente en las zonas consideradas libres; descartar estas parasitosis sólo por la zona geográfica ya no es válido, al contrario, estos procesos deben estar siempre en los cuadros diferenciales de problemas cardiopulmonares, para evitar el diagnóstico erróneo y la liberación de un posible reservorio al medio (Elsheikha *et al.*, 2014).

En definitiva, la reciente expansión de estos parásitos ha vuelto a poner el foco en estas nematodosis, hasta hace poco desconocidas. Consecuentemente, en los últimos años se ha avanzado notablemente en el conocimiento de la distribución, epidemiología y control de estas parasitosis, a pesar de que algunos aspectos de su biología, patogenicidad y diagnóstico todavía se desconocen.

#### 4.1. ANGIOSTRONGILOSIS

La angiostrongilosis es una enfermedad emergente causada principalmente por nematodos de la especie *Angiostrongylus vasorum*, cuyos adultos se alojan en las arterias pulmonares y el lado derecho del corazón de sus hospedadores definitivos como perros (*Canis familiaris*) y otras especies silvestres, especialmente el zorro común o zorro rojo (*Vulpes vulpes*). Debido a esta localización, la sintomatología se asocia con neumonía y coagulopatías (Koch y Willezen, 2009).

Los primeros casos de *A. vasorum* se denunciaron en Francia en el siglo XIX, y posteriormente se demostró su presencia endémica en Toulouse, por lo que se denominó *French heartworm* o “gusano francés del corazón”. Sin embargo, más de un siglo después, existe todavía mucho desconocimiento sobre la epidemiología y biología de este parásito; por ello, se necesitan más estudios que posibiliten el desarrollo de programas eficaces de monitorización y control (van Doorn *et al.*, 2009).

##### 4.1.1. Ciclo biológico

*A. vasorum* es un nematodo parásito de ciclo indirecto que presenta numerosos hospedadores definitivos (HD), incluyendo el perro. Numerosos animales silvestres también pueden actuar como HD, siendo el zorro rojo el más frecuente desde el punto de vista epidemiológico, aunque también son comunes el lobo (*Canis lupus*), el coyote (*Canis latrans*), la nutria europea (*Lutra lutra*), el tejón europeo (*Meles meles*) o el hurón (*Mustela putorius*) (Koch y Willezen, 2009; Elsheikha *et al.*, 2014). Además, se ha descrito que más de 25 especies de babosas y caracoles acuáticos y terrestres pueden actuar como hospedadores intermediarios (HI), incluidas las babosas del género *Arion*, uno de los gasterópodos más comunes en Europa (Koch y Willezen, 2009). Estudios experimentales recientes han demostrado que los anfibios pueden también actuar como HI y como hospedadores paraténicos (van Doorn *et al.*, 2009).

El ciclo comienza cuando los HD eliminan larvas de primer estadio (L1) con las heces; éstas buscan un HI, pudiendo infectarlo mediante dos vías: de forma activa atravesando su epidermis o pasivamente tras su ingestión (Morgan *et al.*, 2005). En el HI, la L1 continúa su desarrollo hasta larva de segundo estadio (L2), que en condiciones ideales se completa a los 7 días, y finalmente hasta larva de tercer estadio o infectante (L3), que puede estar presente 10 días después de la infección (Rosen *et al.*, 1970).

El HD se puede infectar al ingerir la L3 directamente del ambiente, ya que es una larva que puede sobrevivir en zonas húmedas (Moeremans *et al.*, 2011). También puede infectarse al ingerir un HI o paraténico que presente L3, o incluso sus secreciones (Morgan *et al.*, 2005). Tras la ingestión por el HD, la L3 infectante comienza su migración, atravesando la pared intestinal y migrando hacia los linfonodos mesentéricos, que alcanza sobre el tercer día post-

infección (dpi). Allí continúa su rápido desarrollo, creciendo hasta su quinto estadio (L5 o adulto inmaduro). Hacia el quinto dpi, la L5 migra a través de los vasos linfáticos, circulación portal, parénquima hepático y vena cava caudal hacia sus lugares de reposo definitivos, ventrículo cardíaco derecho y arterias pulmonares. Aquí finalmente se desarrolla hasta el estado adulto y se reproduce sexualmente (Bourque *et al.*, 2002). La hembra es ovípara y, una vez pone los huevos, éstos migran hacia su lugar de incubación, los capilares pulmonares. Tras la eclosión, la L1 comienza su migración desde los alvéolos hacia la faringe, donde es deglutida, pasa al tracto gastrointestinal y es finalmente eliminada en las heces, reiniciando el ciclo (Morgan *et al.*, 2005).

El período de prepatencia de *A. vasorum* es muy variable, aunque generalmente oscila entre los 35 y los 60 días (van Doorn *et al.*, 2009). Un HD puede eliminar hasta 280.000 larvas por gramo de heces (Martin *et al.*, 1993) y, sin las medidas y el tratamiento adecuados, posiblemente permanezca infectado y continúe eliminando larvas durante toda su vida (van Doorn *et al.*, 2009).

#### **4.1.2. Factores epidemiológicos**

##### *a) Focos endémicos y expansión*

La distribución geográfica de *A. vasorum* se caracteriza por concentrarse en focos endémicos aislados, apareciendo de forma esporádica fuera de ellos (Bolt *et al.*, 1994). Se consideran focos endémicos clásicos zonas concretas de gran parte del continente europeo (incluyendo España, Francia, Italia, Dinamarca, Hungría, Holanda, Polonia, Eslovaquia, Finlandia, Alemania, Suiza, Suecia y Reino Unido); y zonas más limitadas del americano (Brasil y Colombia en Sudamérica y Terranova en Canadá) y del africano (Uganda) (Bourque *et al.*, 2002; Elsheikha *et al.*, 2014). Sin embargo, en los últimos 20 años se ha observado una rápida expansión (Traversa *et al.*, 2010), de forma que en Europa ya se ha detectado en áreas previamente no infectadas de Dinamarca, Alemania, Grecia, Holanda, Italia, Suecia y Reino Unido (McGarry y Morgan, 2009). A pesar de que no se conocen todavía las razones de esta expansión, se manejan sobre todo dos hipótesis: el incremento de la densidad y distribución de las poblaciones de HD y HI (presencia del zorro común en zonas urbanas y movimiento de perros desde zonas endémicas a zonas no infectadas) y las condiciones climáticas, que se comentarán posteriormente. A mayores, también se valora la influencia del aumento de concienciación entre los veterinarios, lo que lleva a una mayor vigilancia diagnóstica y permite detectar un mayor número de casos (Elsheikha *et al.*, 2014). Se debe tener en cuenta que, a lo largo de estos años, el análisis únicamente de muestras de animales con sintomatología ha subestimado la prevalencia real (Morgan *et al.*, 2005).

*b) Hospedadores*

Se han realizado numerosos estudios con el objetivo de identificar posibles factores que supongan un mayor riesgo de infección de los perros con el nematodo. En dos estudios realizados en Reino Unido a principios de siglo (Chapman *et al.*, 2004; Conboy, 2004) se sugiere que los perros de raza pura (incluyendo el Cavalier King Charles Spaniel, el Staffordshire Bull Terrier y el Beagle) son más susceptibles a la infección que los cruces. También se ha apreciado una mayor prevalencia en perros usados para la caza (Conboy, 2004). Finalmente, se ha observado que los animales más jóvenes presentan cierta predisposición a infectarse con el nematodo, lo que puede deberse tanto a la inmadurez del sistema inmunitario como a la innata curiosidad de estos perros, que aumenta su contacto con los HI (Copenhague *Angiostrongylus* Survey; Koch y Willesen, 2009). Diferentes investigaciones realizadas en varios países europeos han señalado una prevalencia de *A. vasorum* en perros domésticos baja, pues oscila entre el 0,3 y el 9,8%, esta última cifra en perros de caza (Tabla 1). Recientemente se han llevado a cabo estudios genéticos del parásito en perros de Europa y Sudamérica, basado en marcadores ribosomales y mitocondriales. Estos estudios revelaron la existencia de al menos dos poblaciones filogenéticas de *A. vasorum*, la europea y la sudamericana. Esto podría indicar que su reciente expansión viene favorecida por la divergencia genética que ha sufrido el parásito, cada vez más adaptado a sus hospedadores (Jefferies *et al.*, 2009; Morgan *et al.*, 2012).

**Tabla 1. Prevalencia de *A. vasorum* en perros domésticos de algunos países europeos y Canadá**

PAÍSES	PREVALENCIA
Inglaterra	4% (Martin y Neal, 1992)
Italia	3,4% (Traversa <i>et al.</i> , 2019)
Holanda	0,8% (van Doorn <i>et al.</i> , 2009)
Alemania	0,3% (Barutzki y Schapper, 2003) 1,2% (Taubert <i>et al.</i> , 2009) 7,4% (Barutzki y Schaper, 2009)
República Checa	6,7% (Hajnalová <i>et al.</i> , 2017)
Grecia	1,1% (Papazahariadou <i>et al.</i> , 2007)
Dinamarca	9,8% (Koch y Willesen, 2009) 2,2% (Taubert <i>et al.</i> , 2009)
Canadá (costa atlántica) <sup>1</sup>	7,9% (Conboy, 2004)

<sup>1</sup> Datos obtenidos de una población de perros con procesos respiratorios crónicos

En animales silvestres se han realizado más estudios al respecto. Así, la prevalencia de *A. vasorum* en el zorro es más alta que en el perro, pues los diversos estudios señalan porcentajes de infección de entre el 5 y el 56% (Sréter *et al.*, 2003; Jeffery, *et al.*, 2004). Esto puede adquirir especial importancia en áreas urbanas o suburbanas en las que estos animales silvestres puedan

entrar en contacto con los perros. Recientemente se desarrolló un estudio de prevalencias en lobos de Galicia, Asturias y Castilla y León, dando un valor de *A. vasorum* del 2,1%, más común en invierno y en los ejemplares juveniles (Segovia *et al.*, 2001).

### *c) Condiciones climáticas*

Aunque los estudios acerca de la influencia del clima en la distribución de *A. vasorum* son todavía escasos, se ha comprobado que la temperatura afecta al desarrollo y supervivencia de las L3 en el medio. Éstas pueden permanecer activas en el ambiente hasta 15 días y vivas hasta 24 siempre que no se superen los 5 °C, pues temperaturas más altas se asocian con mayor mortalidad (Dias y dos Santos Lima, 2012). Asimismo, el parásito no se desarrollaría por debajo de los -4 °C, lo que podría deberse a que sus HI no sobreviven en ambientes fríos (Jeffery *et al.*, 2004). Otros trabajos informan de que los brotes de infección son más comunes en zonas con temperaturas moderadas así como en años húmedos y con precipitaciones regulares que favorecen una mayor abundancia de gasterópodos HI (Conboy, 2004). Así, se ha sugerido que las zonas hiperendémicas locales obedecen a distintos microclimas que influyen positivamente en el desarrollo de los HI (Morgan *et al.*, 2009). En este sentido, un estudio llevado a cabo en la Península Ibérica en 2004 (Segovia *et al.*, 2004), mostró una prevalencia de *A. vasorum* del 27% en zorros de las zonas más húmedas del norte, mientras que en las más cálidas y secas del sur ésta fue meramente anecdótica. El cambio climático y la subida invernal de las temperaturas en zonas húmedas del norte contribuyen a la diseminación de la infección hacia estas zonas (Moeremans *et al.*, 2011).

### **4.1.3. Patogenia y signos**

La angiostrongilosis se caracteriza por neumonía verminosa granulomatosa e intersticial, con endoarteritis trombótica obliterante y fibrosis, debido a la acción de los adultos de *A. vasorum* en su localización definitiva, que promueven el depósito de inmunocomplejos y la activación del complemento (Martínez-Pereira, 2010). El 80% de los animales infectados también presentan desórdenes de coagulación derivados de una coagulopatía primaria relacionada con el síndrome de Coagulopatía Intravascular Diseminada (CID) o con una trombocitopenia inmunomediada (Ramsey *et al.*, 1996). En este sentido, como posibles causas de este CID, se ha sugerido que podría ser un antígeno secretado por el parásito (Cury *et al.*, 2002), que éste liberara factores que modulasen la coagulación (Morgan *et al.*, 2005), o que la irritación física que ejerce en el endotelio vascular fuera la causa de la activación local de la coagulación y del sistema inflamatorio (Martínez-Pereira, 2010). Otros signos observados son consecuencia de la migración del parásito y de localizaciones ectópicas, que incluyen bazo,

riñón, ojos, cerebro o extremidades (Koch y Willesen, 2009; Moeremans *et al.*, 2011). A este respecto también influirán el depósito inducido de inmunocomplejos (reacción de hipersensibilidad tipo III) y la embolización de formas larvarias que no han migrado correctamente (Martínez-Pereira, 2010)

Las manifestaciones clínicas de esta parasitosis son muy variadas, desde casos asintomáticos o leves hasta muy graves, que pueden ser fatales (Chapman *et al.*, 2004). Los signos más comunes son de carácter respiratorio; los cardiovasculares y los causados por desórdenes de la coagulación son menos frecuentes pero más graves. Dependiendo de las características de la infección y del parásito, también se pueden presentar signos neurológicos, digestivos o musculoesqueléticos, entre otros (Elsheikha *et al.*, 2014).

Los signos respiratorios suelen caracterizarse por tos, que puede ser productiva, y disnea (Chapman *et al.*, 2004). Las crisis respiratorias agudas son también frecuentes y generalmente vienen acompañadas de sangrados pulmonares o hemotórax (Sasanelli *et al.*, 2008). La presencia de otros signos leves como letargia o intolerancia al ejercicio es menos común (Elsheikha *et al.*, 2014). Entre los signos cardiovasculares se incluyen sonidos cardíacos disminuidos, miocarditis, periarteritis y mucosas pálidas, entre otros (Chapman *et al.*, 2004). Según la gravedad y duración de la infección, también pueden aparecer hipertensión pulmonar y cor pulmonale, y, en estos casos se podrá escuchar un soplo cardíaco de grado II a IV debido a la regurgitación de la tricúspide. También puede aparecer fallo cardíaco derecho, secundario a la obstrucción de los vasos principales por *A. vasorum* (Nicolle *et al.*, 2006). Por último, la aparición de coagulopatías se caracteriza por petequias, hematomas, epistaxis, aumento del sangrado post-traumático, hemoptisis, hematuria, sangrado gastrointestinal con melenas, hemoabdomen, hemotórax, hemorragia conjuntival o intracraneal, e incluso anemia (Koch y Willesen, 2009). Los signos nerviosos son poco comunes pero de gran importancia clínica, y su aparición se debe al sangrado de zonas del Sistema Nervioso Central (SNC) secundario a una coagulopatía (Elsheikha *et al.*, 2014); así, se han señalado acumulación de fluidos en la espina dorsal y hemorragias intramedulares e intraparenquimales (Denk *et al.*, 2009). También pueden observarse otros signos inespecíficos como depresión, anorexia, pérdida de peso, letargia e intolerancia al ejercicio, que dificultan el diagnóstico de esta patología. Además, la aparición de sintomatología gastrointestinal (presentando vómitos, diarrea o dolor abdominal), nerviosa (presentando convulsiones, parestias, hipermetría o problemas vestibulares o en los nervios craneales) o muscular (presentando laminitis) también puede estar asociada a la infección con el nematodo (Koch y Willesen, 2009).

La mortalidad, debida sobre todo a hemorragias severas o fallos respiratorios, oscila entre un 10 y un 15% a pesar del tratamiento (Chapman *et al.*, 2004).

## 4.2. CRENOSOMOSIS

La crenosomosis es un proceso causado por el nematodo *Crenosoma vulpis* o “gusano del zorro”. Este parásito afecta a bronquios, bronquiolos y tráquea de cánidos domésticos y silvestres como el zorro rojo, el lobo, el coyote, el mapache y el tejón (Bowman, 2011) y es especialmente frecuente en zonas templadas de Europa y Norteamérica (Traversa *et al.*, 2010). Se trata de la primera causa de parasitosis pulmonar en el zorro común, con una prevalencia que oscila entre el 11% en el Reino Unido (Matos *et al.*, 2016) y casi el 16% en la zona central de Italia (Latrofa *et al.*, 2015).

### 4.2.1. Ciclo biológico

Al igual que *A. vasorum*, con el que comparte algunos hospedadores, también se trata de un nematodo de ciclo indirecto que emplea gasterópodos acuáticos y terrestres como HI y cánidos domésticos y silvestres como HD. Todavía no se han caracterizado hospedadores paraténicos, pero no se descarta su participación en el ciclo (Conboy, 2009).

Los HD eliminan la L1 en las heces, y éstas continúan su desarrollo tras ser ingeridas por sus HI. En condiciones ideales pueden alcanzar su tercer estadio a los 17 días en el interior de estos gasterópodos (Matos *et al.*, 2016). El HD se infecta al ingerir los HI con la L3 infectiva en su interior. Esta L3 atraviesa la pared intestinal y, migrando por la circulación portalhepática, venas y parénquima hepático, vena cava caudal, corazón y arterias pulmonares, llega a su lugar de reposo definitivo, parénquima pulmonar y tráquea. (Stockdale y Smart, 1975). En estos lugares concluye su desarrollo, y los adultos se alojan en los bronquios, donde tiene lugar la reproducción sexual. Posteriormente, las hembras, ovovivíparas, ponen las larvas o los huevos ya embrionados y de cubierta delgada en los bronquios. Las L1 eclosionadas ascienden por la tráquea y son deglutidas y eliminadas con las heces, reiniciando de esta manera el ciclo.

El período de prepatencia de este nematodo dura unos 18-21 días, y la vida media de los adultos se ha estimado en los diez meses (Mortier *et al.*, 2018). En perros y zorros se ha señalado un tiempo de eliminación de entre 240 y 290 días (Shaw *et al.*, 1996).

### 4.2.2. Factores epidemiológicos

*C. vulpis* se considera endémico en perros de Alemania y República Checa (Tabla 2). Asimismo también se ha detectado en poblaciones de perros Italia y Dinamarca, y casos aislados en Suiza y Reino Unido (Ridyard, 2005; Mortier *et al.*, 2018).

**Tabla 2. Prevalencia de *C. vulpis* en perros domésticos de algunos países europeos y Canadá**

<b>PAÍSES</b>	<b>PREVALENCIA</b>
<b>Italia</b>	0,2% (Traversa <i>et al.</i> , 2019)
<b>Alemania</b>	0,9% (Barutzki y Schaper, 2003) 6% (Barutzki y Schaper, 2009) 2,4% (Taubert <i>et al.</i> , 2009)
<b>República Checa</b>	2% (Hajnalová <i>et al.</i> , 2017)
<b>Dinamarca</b>	1,4% (Taubert <i>et al.</i> , 2009)
<b>Canadá (costa atlántica)<sup>1</sup></b>	21% (Conboy, 2004)

<sup>1</sup> Datos obtenidos de una población de perros con procesos respiratorios crónicos

Al igual que *A. vasorum*, también tiene un patrón de distribución en áreas endémicas, y, al compartir algunos hospedadores con este agente, coexiste con él en muchas de ellas (Koch y Willeßen, 2009). En la costa atlántica de Canadá se constató una prevalencia de *C. vulpis* del 21% en perros con procesos respiratorios crónicos; estos resultados probablemente se deban a la alta humedad y a las temperaturas moderadas de la zona de estudio, que favorecen la presencia de elevadas poblaciones de HI. En este estudio también se evidenció una prevalencia más elevada de *C. vulpis* en las razas Beagle y Labrador (Conboy, 2004). En la misma zona, un estudio anterior señaló una prevalencia de *C. vulpis* de hasta el 80% en zorros, evidenciando de nuevo el papel de estos animales como reservorios silvestres en la distribución del agente (Shaw *et al.*, 1996). De la misma manera, se estima que la prevalencia de *C. vulpis* en perros (al igual que en el caso de *A. vasorum*) está subestimada por el uso poco frecuente del método de Baermann.

Un estudio realizado en Reino Unido en 2016 en *Helix aspersa* no sólo desveló que más del 80% estaba infectado con *C. vulpis*, si no también que las L3 podían sobrevivir al invierno en el interior de sus HI, con temperaturas no inferiores a los 4°C (Colella *et al.*, 2016). Esto adquiere especial importancia al considerar el cambio climático y la subida progresiva de las temperaturas que tiene lugar actualmente.

Así pues, igual que en el caso de *A. vasorum*, los movimientos poblacionales de perros y zorros, así como el cambio climático, promueven la expansión de *C. vulpis* a zonas en las que previamente no se encontraba. Asimismo existen también evidencias de su divergencia genética en función del hospedador y de la zona geográfica (Latrofa *et al.*, 2015).

### 4.2.3. Patogenia y signos

La L3 en su localización en el parénquima pulmonar puede provocar neumonía intersticial. Los adultos, localizados en el árbol bronquial y en tráquea, provocan generalmente bronquitis y bronquiolitis con dominancia de eosinófilos. Los cambios desarrollados a raíz de estas localizaciones incluyen manguitos peribronquiales, obstrucción bronquial con exudado inflamatorio y consolidación pulmonar (Ridyard, 2005).

La clínica varía, desde casos asintomáticos a signos respiratorios moderados. Los signos, cuando los hay, son respiratorios, con tos seca crónica y reflejo traqueal positivo. En casos de altas cargas parasitarias puede desencadenarse una descarga nasal mucopurulenta y tos productiva crónica (Traversa *et al.*, 2010). Estos signos son similares a la tos de las perreras, lo que favorece los errores diagnósticos, pero en estos casos no hay respuesta al tratamiento antibiótico empírico (Ridyard, 2005). Hasta ahora no se ha denunciado ninguna infección fatal (Conboy, 2009).

## 4.3. CAPILARIOSIS

La capilariosis es un proceso respiratorio generalmente leve y poco diagnosticado, causado por las especies *Eucoleus* (o *Capillaria*) *aerophilus* y *Eucoleus* (o *Capillaria*) *boehmi*. El primero afecta a tráquea, bronquios y bronquiolos de perros, gatos y otros carnívoros salvajes (como zorros y mustélidos), y tiene una distribución mundial, mientras que *E. boehmi* afecta a la cavidad nasal y los senos nasales y paranasales de cánidos domésticos y silvestres en Europa y en todo el continente americano (Conboy, 2009).

### 4.3.1. Ciclo biológico

Al contrario que en los nemaotodos anteriormente comentados, el ciclo de *E. aerophilus* puede ser directo y desenvolverse en el ambiente o incluir a las lombrices de tierra como HI facultativos (Bowman, 2011). Los HD eliminan huevos no embrionados en las heces, y las L1 se desarrollan dentro del huevo, tanto en el propio ambiente como en el interior de una lombriz de tierra que lo haya ingerido. En el medio se ha señalado que la L1 en el interior del huevo se convierte en infectante tras unos 30-45 días en condiciones ideales, con una supervivencia de hasta 1 año dentro de su huevo (Traversa *et al.*, 2017). El HD se infecta cuando ingiere una lombriz de tierra infectada o directamente del ambiente huevos con L1 completamente desarrolladas e infectivas; en este último caso es importante el papel de la coprofagia. En el intestino, las larvas salen del huevo y migran hacia sus lugares de reposo definitivos, tráquea, bronquios y bronquiolos, donde se desarrollan a estado adulto y tiene lugar la reproducción

sexual. Las hembras son ovíparas y ponen los huevos en la mucosa respiratoria en la que se encuentran. Estos huevos llegan pasivamente a la faringe por los movimientos causados por la incomodidad respiratoria que sufre el HD debido a la presencia de estos parásitos. Finalmente, los huevos son deglutidos y eliminados en las heces (Traversa *et al.*, 2011). El período de prepatencia puede alcanzar los 40 días de duración y la infección puede estar patente de 8 a 11 meses (Khatat *et al.*, 2016).

El ciclo de *E. boehmi* es todavía desconocido, pero se supone que es similar al de *E. aerophilus*, de ciclo directo con uso facultativo de lombrices de tierra. Se cree que las larvas migran desde el intestino por la circulación sanguínea hasta la cavidad nasal, donde alcanzan el estado adulto (Cervone *et al.*, 2017).

#### 4.3.2. Factores epidemiológicos

A pesar de que se considera que el número de casos diagnosticados es sustancialmente menor que el de los casos reales, estudios realizados en Norteamérica señalan prevalencias de hasta el 5% en el caso de *E. aerophilus* y de hasta el 2% en el caso de *E. boehmi* (Conboy, 2009). En lo que respecta a Europa, el conocimiento de su epidemiología no es completa. A pesar de presentar una alta prevalencia en animales silvestres, en carnívoros domésticos se consideraba un proceso esporádico hasta la última década, cuando se comenzaron a publicar un mayor número de estudios (Khatat *et al.*, 2016). Recientemente, se han identificado casos de *E. aerophilus* en animales domésticos de Italia y Portugal (Traversa *et al.*, 2011) (Tabla 3); en el caso de *E. boehmi*, existen evidencias en la literatura científica de su presencia en Austria, Polonia, Italia o Portugal (Cervone *et al.*, 2017), en el cual se denunció por primera vez la presencia de este parásito en 2016 (Alho *et al.*, 2016).

**Tabla 3. Prevalencia de *Capillaria* spp. en perros domésticos de algunos países europeos**

PAÍSES	PREVALENCIA	
	<i>E. aerophilus</i>	<i>E. boehmi</i>
Portugal	0,3% (Traversa <i>et al.</i> , 2010)	
Italia	2,8% (Traversa <i>et al.</i> , 2009) 5,4% (Traversa <i>et al.</i> , 2017) 2% (Traversa <i>et al.</i> , 2019)	1,2% (Traversa <i>et al.</i> , 2019)
Alemania <sup>1</sup>	2,3% (Barutzki y Schaper, 2003) 0,2% (Traversa <i>et al.</i> , 2010)	

<sup>1</sup> Datos reportados como *Capillaria* spp

El género *Eucoleus* no es específico de hospedador y las lombrices de tierra que pueden formar parte de su ciclo biológico tienen una distribución mundial durante todo el año, factores

que favorecen el crecimiento y expansión de estos nematodos (Traversa *et al.*, 2019). En la actualidad se sigue considerando un proceso altamente subdiagnosticado, y todavía no contamos con los datos suficientes para valorar su expansión o la influencia de factores como el cambio climático o las características de los hospedadores domésticos en su distribución (Helm y Morgan, 2017).

#### **4.3.3. Patogenia y signos**

Por la localización de los adultos de *E. aerophilus* y *E. boehmi*, predominarán los procesos crónicos de bronquitis en el primer caso y de rinitis en el segundo (Cervone *et al.*, 2017). A pesar de que las infecciones por *E. aerophilus* se consideran relativamente frecuentes en perros y gatos, con frecuencia no se diagnostican debido a que la mayoría son asintomáticas, y cuando se presentan signos, generalmente no pasan de una tos ligera (Bowman, 2011). Por supuesto, esto también dependerá de la carga parasitaria, edad e inmunidad del hospedador, entre otros factores. Se han señalado sibilancias, crepitaciones y aumento de los sonidos respiratorios a la auscultación, con reflejo traqueal positivo. En el caso de complicación bacteriana, la tos puede ser productiva y originarse una bronconeumonía que cause fallo respiratorio. Sin embargo, la letalidad de la infección es poco común (Traversa *et al.*, 2010). En el caso de *E. boehmi* se encuentran estornudos con descarga nasal mucopurulenta y sanguínea en ocasiones. Más esporádicamente, pueden ocurrir convulsiones y meningoencefalitis debido a la migración intracraneal de los huevos (Clark *et al.*, 2013). Ambos procesos pueden venir acompañados de disnea y otros signos inespecíficos como fatiga (Traversa, *et al.*, 2011).

En zorros se han señalado altas cargas parasitarias de *E. aerophilus*, con signos más graves, como ronquidos y ataques de tos, así como debilidad, pérdida de peso, mal pelaje e incluso muerte debido a bronconeumonía severa (Bowman, 2011). Además, *E. aerophilus* se ha identificado en humanos de manera ocasional, con una docena de casos descritos hasta el momento (Traversa *et al.*, 2010). La infección se caracteriza por signos inespecíficos como tos, descarga mucosa con presencia de sangre, fiebre y disnea.

#### **4.4. DIAGNÓSTICO**

Debido a la amplia variedad de manifestaciones clínicas inespecíficas que presentan estas nematodosis, en inicio los diagnósticos diferenciales son muy variados. Esta variabilidad, unida a que los únicos métodos concluyentes de diagnóstico *antemortem* son los inmunológicos y coprológicos, contribuye a que no se sospeche de la enfermedad, y que muchas veces no se diagnostique si no se busca de manera específica.

#### 4.4.1. Exploración física

Debe ser el primer paso, evaluando los signos y su gravedad. La auscultación es muy útil, de forma que en algunos casos se podrán escuchar crepitaciones o sibilancias en el pulmón, así como presencia de descarga nasal en casos de crenosomosis y capilariosis.

En *A. vasorum*, en casos de hipertensión pulmonar crónica se podrá escuchar un soplo sistólico en tricúspide (Traversa y Guglielmini, 2008). Además, los déficits neurológicos pueden orientar al veterinario acerca de la zona del sistema nervioso que posiblemente esté sangrando; de hecho, los brotes agudos de signos neurológicos centrales se consideran muy indicativos de angiostrongilosis en perros jóvenes (Elsheikha *et al.*, 2014).

#### 4.4.2. Pruebas de imagen

Aunque los métodos de imagen no permiten emitir un diagnóstico concluyente, son útiles para valorar la infección y establecer una guía con respecto a los diagnósticos diferenciales posibles o la probabilidad de que se trate de una de estas nematodosis.

En caso de nematodosis cardiopulmonares se pueden observar patrones intersticiales difusos con pequeñas áreas de patrón alveolar y/o bronquial (Martínez-Pereira, 2010; Mortier *et al.*, 2018).

La resonancia magnética es especialmente útil en las angiostrongilosis para pacientes con signos neurológicos, pues permite valorar hemorragias intracraneales o intramedulares (Wessman *et al.*, 2006). Los TAC de alta resolución aportan imágenes de mejor calidad que las radiografías. En angiostrongilosis de moderadas a graves se puede observar una imagen de atenuación difusa a lo largo de todo el pulmón, compatible con edema, congestión o infiltración de células inflamatorias (Koch y Willeesen, 2009). En crenosomosis un TAC permitirá observar lesiones peribronquiales y multifocales, compatibles con bronquitis y bronquiectasias (Mortier *et al.*, 2018). Asimismo, en *E. boehmi* se podrá observar engrosamiento de los cornetes nasales y acúmulo de descarga nasal compatible con rinitis crónica bilateral (Alho *et al.*, 2016).

Por último, la ecocardiografía y el Doppler en las angiostrongilosis permiten detectar la hipertensión pulmonar, que se caracteriza por dilatación del corazón derecho, tronco pulmonar, vena cava y venas hepáticas, así como aumento de tamaño del tabique interatrial, reducción del tamaño del ventrículo izquierdo, insuficiencias de las válvulas tricúspide y pulmonar y cambios en el flujo sanguíneo pulmonar (Nicolle *et al.*, 2006).

#### 4.4.3. Lavado broncoalveolar

Esta técnica permite observar directamente al parásito (en todos los casos excepto en *E. boehmi*), así como tomar muestras histopatológicas, que en el caso de *A. vasorum* y de *C. vulpis* evidencian neutrofilia, eosinofilia y aumento de células multinucleadas gigantes (Shaw *et al.*,

1996). Se debe tener en cuenta que es un procedimiento arriesgado al requerir de anestesia general y de la introducción del endoscopio en las vías respiratorias, especialmente en pacientes con signos respiratorios graves. Como la muestra recogida suele ser limitada, en las angiostrongilosis se han reportado resultados negativos en pacientes con infecciones leves (Chapman *et al.*, 2004). En el lavado transtraqueal en presencia de *C. vulpis* se puede observar eritema, inflamación y descarga mucopurulenta en ocasiones (Shaw *et al.*, 1996). En el caso de *E. aerophilus* también es posible detectar los huevos en lavados broncoalveolares (Alho *et al.*, 2016). Se encuentra un predominio de eosinofilia en las muestras histopatológicas obtenidas (Conboy, 2009).

#### **4.4.4. Análisis hematológicos, bioquímicos y del fluido cerebroespinal**

En los casos de angiostrongilosis, los más estudiados con diferencia, las anormalidades en los análisis hematológicos dependen de la cronicidad y gravedad de la infección. Es frecuente observar anemia regenerativa, leucocitosis y eosinofilia, que facilitan la sospecha diagnóstica en zonas endémicas (Elsheikha *et al.*, 2014). En casos de sangrado se señala un aumento de los tiempos de coagulación junto con signos compatibles con una CID, con o sin trombocitopenia (Ramsey *et al.*, 1996; Koch y Willesen, 2009). Cuando la L5 llega al corazón puede aumentar la isoenzima MB de la creatin-kinasa, indicador de daño cardíaco (Cury *et al.*, 2005).

El análisis del fluido cerebroespinal en casos de *A. vasorum* está indicado en animales que presenten signos neurológicos. Un aumento anormal de las cantidades de proteína, así como signos de eritrofagia y de policitemia combinados con valores normales de leucocitos, son signos compatibles con sangrado del SNC (Wessman *et al.*, 2006).

#### **4.4.5. Análisis coprológico**

La técnica de Baermann se considera el método *gold standard* para el diagnóstico de las nematodosis cardiopulmonares que expulsan larvas en las heces, como es el caso de *A. vasorum* y *C. vulpis*. Es la más utilizada por su sencillez y rapidez, además de que permite emitir un diagnóstico definitivo (Moeremans *et al.*, 2011). Esta técnica consiste en introducir una muestra de heces en un aparato de Baermann, permitiendo la migración de las L1 desde las heces al agua durante 12-24 horas; éstas L1, posteriormente, se concentran en el fondo del embudo por gravedad. Pasado el tiempo, se recoge el líquido resultante y, tras concentrar las L1 mediante centrifugación, se observan al microscopio en una cámara de Favati. Las especies de nematodos cardiopulmonares se identifican en función de sus características morfológicas, lo que requiere tiempo y especialización; además, si las heces no se conservan correctamente, también pueden observarse L1 de ancilostómidos, lo que nos puede dificultar todavía más el diagnóstico.

Cuando se interpreten los resultados de esta técnica hay que considerar que puede dar falsos negativos, ya que la eliminación de L1 en las heces es intermitente, por lo que se recomienda el análisis de las heces del paciente durante tres días consecutivos para mejorar la sensibilidad (Koch y Willesen, 2009). También hay que tener en cuenta los períodos de prepatencia de estos nematodos, durante los cuales no se eliminan L1 con las heces, originando también falsos negativos (Traversa y Guglielmini, 2008). Se debe considerar también que si las heces no son frescas, las L1 pueden haberse degradado, complicando su identificación morfológica (Moeremans *et al.*, 2011).

La técnica de flotación es el método de diagnóstico definitivo de referencia en el caso de los nematodos que eliminan huevos en las heces, como es el caso de *Eucoleus* spp. Se trata de un método rápido, barato y sencillo que permite observar los huevos entre porta y cubre flotando en soluciones estándar tras la homogeneización de la muestra de heces y de la solución de flotación. De la misma manera, también se requiere de cierta especialización para diferenciar los huevos del parásito, pues son muy similares a los de *Trichuris* spp., y se recomienda obtener múltiples muestras para evitar los falsos negativos debidos al período de prepatencia o a la eliminación intermitente de estos huevos (Cervone *et al.*, 2017). Aunque las L1 de *A. vasorum* y *C. vulpis* no flotan bien en soluciones estándar, se ha demostrado que el método FLOTAC tiene mayor sensibilidad que el Baermann cuando se usan soluciones de alta densidad, como el sulfato de zinc (Rinaldi *et al.*, 2007). Sin embargo, se debe tener en cuenta que estas soluciones pueden dañar las larvas por ósmosis y deshidratación, comprometiendo su identificación (Traversa *et al.*, 2010).

Existen otras técnicas coprológicas menos utilizadas, como la extensión fecal, que es la técnica más rápida y sencilla, aunque su sensibilidad es reducida, de entre el 54 y el 61% en el caso de angiostrongilosis (Humm y Adamantos, 2010).

Una vez obtenidas las larvas, en los casos de angiostrongilosis y crenosomosis, es muy importante no sólo identificar la especie del nematodo en cuestión, si no también su estadio dentro del propio ciclo vital. Las larvas deben obtenerse de muestras lo más frescas posibles, que no tengan varios días de antigüedad, ya que con el paso del tiempo se degradan. Especialmente en el caso de *A. vasorum*, las larvas se vuelven más translúcidas, delgadas y rectas, y gradualmente van perdiendo su estructura interna y las características distintivas de su piel (McGarry y Morgan, 2009). En los casos de capilariosis se debe tener en cuenta su gran similitud con *Trichuris* spp., así como diferenciar correctamente las dos especies, *E. aerophilus* y *E. boehmi*. Esto se consigue mediante la distinción del patrón característico de su cubierta, su tamaño y la morfología del tapón, características que se comentarán más adelante.

#### 4.4.6. Técnicas moleculares y métodos serológicos

En el caso de *A. vasorum* se han desarrollado técnicas moleculares como la PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa), la PCR en tiempo real o la RFLP (Polimorfismos en la Longitud de Fragmentos de Restricción) (McManus y Bowles, 1996). Sin embargo, estas técnicas todavía no se usan a gran escala a nivel comercial.

También para *A. vasorum* se dispone de varias técnicas serológicas directas e indirectas. Las primeras permiten detectar un antígeno producido por el parásito en suero o plasma a partir de las 5 semanas, es decir, durante el período de prepatencia (Schnyder *et al.*, 2011). Así, el ELISA (Ensayo por Inmunoabsorción Ligado a Enzimas) directo presenta valores de sensibilidad (95%) y especificidad (94%) superiores a los métodos coprológicos (Schnyder *et al.*, 2011). Asimismo, como los niveles de anticuerpos se mantienen elevados tras la eliminación del parásito, las técnicas serológicas indirectas nos indican exposición al parásito y se presentan muy útiles en áreas no endémicas. Por ello se recomienda emplear estas técnicas junto con el test de Baermann (Elsheikha *et al.*, 2014).

#### 4.4.7. Examen *postmortem*

Al igual que sucede con los métodos serológicos, sólo se han publicado datos exhaustivos sobre el diagnóstico *postmortem* en casos de angiostrongilosis. Los exámenes *postmortem* de perros y zorros infectados con *A. vasorum* evidencian un aumento de grosor de la pared ventricular derecha y pérdida de la estructura alveolar (Morgan *et al.*, 2008). Los adultos de *A. vasorum* pueden estar presentes en las arterias pulmonares y el corazón derecho, rodeados de fibrina; y las larvas, en los vasos pulmonares de menor diámetro, rodeadas de reacción inflamatoria. Esto resulta en la formación de granulomas caseosos en la periferia del pulmón y la pleura (Koch y Willesen, 2009).

Las migraciones ectópicas de las larvas favorecen también la aparición de granulomas caseosos en otros órganos, como riñón y/o adrenales, cerebro, bazo o linfonodos traqueobronquiales (Bourque *et al.*, 2008). Asimismo, en casos de coagulopatías es posible encontrar grandes hematomas, y, en caso de signos neurológicos, hemorragias en el cerebro o la espina dorsal (Bourque *et al.*, 2008).

### 4.5. TRATAMIENTO

Una vez detectado el parásito y emitido un diagnóstico concluyente, el tratamiento de estas nematodosis se basa en el empleo de antihelmínticos. Actualmente el más utilizado es el fenbendazol, así como diversas lactonas macrocíclicas que, al destruir lentamente a los

nematodos, minimizan el riesgo de choque anafiláctico, especialmente en *A. vasorum* (Bourque *et al.*, 2008).

Para el caso de angiostrongilosis, el fenbendazol se emplea diariamente vía oral a una dosis de 20-50mg/kg, durante 5-21 días; la eficacia es del 91,3% usando una dosis de 25mg/kg diariamente durante 20 días (Traversa *et al.*, 2010), aunque en Europa no está registrado para el tratamiento de *A. vasorum* (Conboy, 2004). Entre las lactonas macrocíclicas destacan la milbemicina oxima y la moxidectina, de eficacia probada y las únicas registradas a nivel europeo para el tratamiento de las angiostrongilosis (Moeremans *et al.*, 2011). La primera, administrada oralmente durante un mes de forma semanal a 0,5 mg/kg, reduce los niveles de adultos y L5 (Willesen *et al.*, 2007). En infecciones experimentales se ha demostrado que a 0,5 mg/kg tiene una eficacia del 84,8% (Traversa *et al.*, 2010). La moxidectina 2,5%, en combinación con el imidacloprid 10% en aplicación tópica única, ha demostrado ser eficaz, pudiendo alcanzar hasta un 100% contra adultos y formas inmaduras como L4 y L5 (Elsheikha *et al.*, 2014). La eficacia del tratamiento debe demostrarse seis semanas después del tratamiento con lactonas y tres semanas después del fenbendazol, mediante un test de Baermann en heces recogidas en tres días consecutivos (Moeremans *et al.*, 2011).

El uso del tratamiento de apoyo en casos de angiostrongilosis depende de la gravedad de los signos y de la valoración del veterinario (Chapman *et al.*, 2004). Incluye antibióticos, broncodilatadores y vasodilatadores, inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina y diuréticos. Los corticosteroides están indicados, en dosis inmunosupresoras, en casos de trombocitopenia inmunomediada y reacciones anafilácticas, reduciendo además la inflamación y la fibrosis pulmonar (Koch y Willesen, 2009). Los casos graves se pueden estabilizar con suplementación de oxígeno y transfusiones de sangre o plasma (Koch y Willesen, 2009).

Para las crenosomosis, no existen antihelmínticos registrados para el tratamiento de los perros infectados (Ridyard, 2005). La administración tópica única de moxidectina 2,5% e imidacloprid 10% en spot-on ha demostrado ser 100% eficaz en infecciones experimentales en perros. Asimismo, la administración oral única de 0,5 mg/kg de milbecimcina oxima ha demostrado tener una eficacia del 98-99%. En infecciones naturales también se ha comprobado que el fenbendazol (25-50 mg/kg oral y diario de 3 a 14 días) y el febantel (14mg/kg oral y diario durante 1 semana) son eficaces (Traversa *et al.*, 2010). El tratamiento de apoyo no es tan necesario como en el caso de *A. vasorum*, pero es común diagnosticarlo de forma incorrecta como una alergia respiratoria y que el animal mejore por el tratamiento sintomático con corticosteroides (Conboy, 2009).

En el caso de las capilariosis, apenas se han estudiado tratamientos antihelmínticos específicos. Se ha publicado como efectivo el uso de fenbendazol (oral 50 mg/kg, diariamente durante 14 días), milbemicina oxima (oral 2 mg/kg) y moxidectina-imidacloprid 2,5%-10%

(spot on, única) o abamecina en gato (subcutánea 0,3 mg/kg, dos dosis a repetir a los 14 días) (Traversa *et al.*, 2011). Se han dado casos de sintomatología recurrente y de continuación de eliminación de huevos tras el tratamiento (Cervone *et al.*, 2017). Para evitar estos casos se recomienda comprobar la eliminación del parásito con flotaciones fecales regulares, que permitan también la detección de reinfecciones (Alho *et al.*, 2016).

#### **4.6. PRONÓSTICO**

Las angiostrongilosis presentan el pronóstico más grave de todos los nematodos estudiados en este trabajo. Tras la eliminación de la infección, los signos respiratorios desaparecen generalmente en 1-2 semanas, aunque los casos graves pueden presentar sintomatología residual como tos o intolerancia al ejercicio (Koch y Willesen, 2009). La tasa de mortalidad oscila entre el 10 y el 15%, principalmente debido a la aparición de hemorragias graves consecuencia de coagulopatías o a fallos respiratorios. (Chapman *et al.*, 2004).

En los casos de crenosomosis nunca se han citado infecciones fatales, y en las capilariosis estos casos son anecdóticos; generalmente no presentan complicaciones severas (Bowman, 2011).

#### **4.7. PROFILAXIS**

Las angiostrongilosis y las crenosomosis se consideran enfermedades emergentes, y teniendo en cuenta su extensión en los reservorios silvestres, su erradicación es prácticamente imposible (Conboy, 2004). Por su parte, las capilariosis presentan una amplia distribución debido a la altísima ubicuidad de las lombrices de tierra, por lo que su presencia se presupone a nivel mundial y la erradicación también es impensable (Traversa *et al.*, 2019). Es importante que los veterinarios estén informados de estas enfermedades y sus posibles signos clínicos, para educar a los dueños y favorecer un reconocimiento diagnóstico temprano que facilite la recuperación del animal. En el caso de crenosomosis y angiostrongilosis en zonas endémicas, se deberían realizar tests de Baermann cada tres o seis meses, pues las reinfecciones son relativamente frecuentes (Moeremans *et al.*, 2011). De igual manera, para el caso de las capilariosis se deben incluir siempre en la lista de posibles diagnósticos diferenciales de procesos respiratorios, y monitorizar de manera regular mediante flotaciones la eficacia de los tratamientos administrados (Khatat *et al.*, 2016).

Los dueños juegan un importante papel en la vigilancia y control de estos procesos, pues pueden adoptar medidas que eviten el contacto de sus perros con las posibles fuentes de infección. Por ejemplo, se puede evitar que el perro ingiera larvas infectantes del ambiente

sacándolo de paseo siempre con correa, dándole de comer en casa y limpiando el entorno y sus juguetes de manera regular. Además, si eliminan las heces de los perros de forma adecuada también evitan la contaminación del ambiente con estas larvas.

Con respecto a los tratamientos profilácticos, todavía no existen vacunas disponibles en el mercado, por lo que se recomienda el uso de tratamientos antihelmínticos preventivos en todos los perros que hayan sufrido la enfermedad, especialmente en el caso de angiostrongilosis (Elsheikha *et al.*, 2014). En este caso, el uso conjunto de moxidectina 2,5% e imidacloprid 10%, en administración única ha demostrado ser útil contra *A. vasorum* en el 85,2% de los casos (Traversa *et al.*, 2010) y actualmente está registrado como método profiláctico, de administración mensual (Moeremans *et al.*, 2011). En regiones hiperendémicas algunos autores recomiendan la aplicación de tratamientos preventivos incluso en perros que nunca se han infectado (Willesen *et al.*, 2007).

## 5. OBJETIVOS

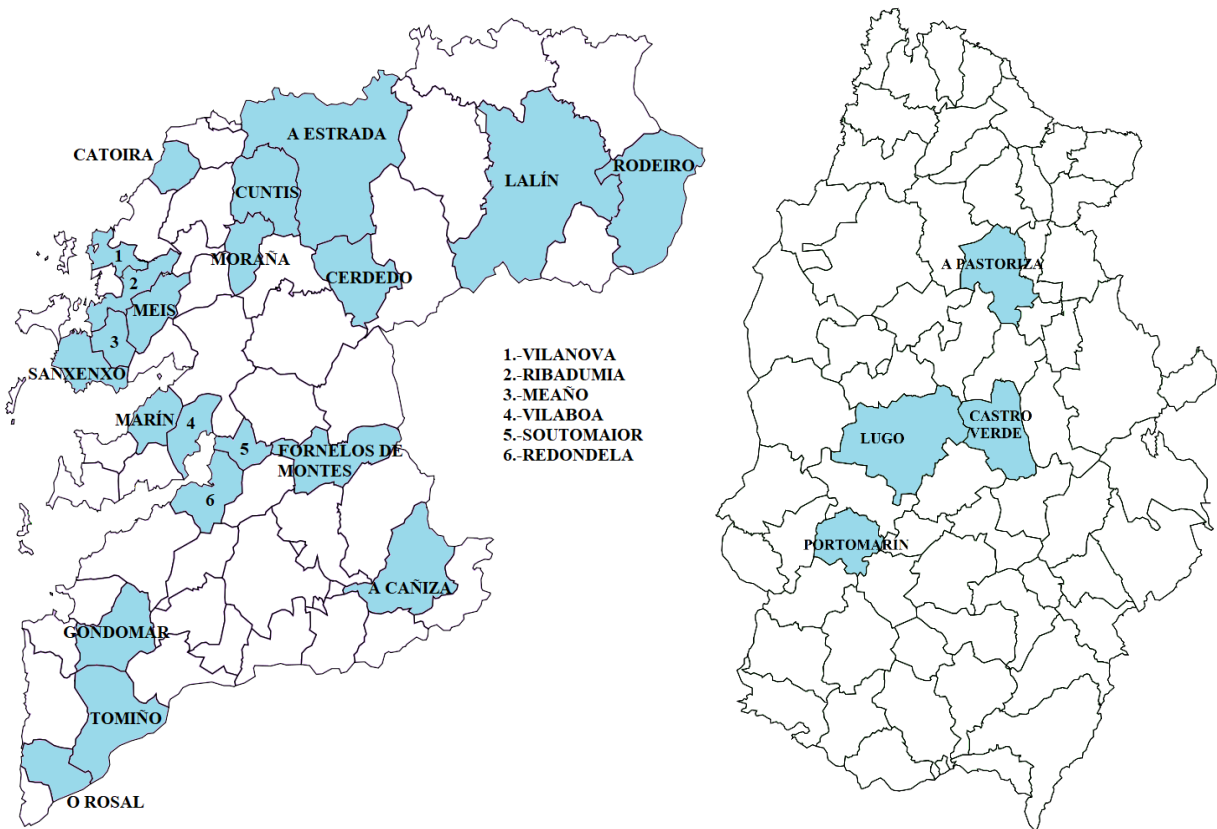
- 1.- Estimar la prevalencia de los nematodos cardiopulmonares *Angiostrongylus vasorum*, *Crenosoma vulpis*, *Eucoleus aerophilus* (*Capillaria aerophila*) y *Eucoleus boehmi* (*Capillaria boehmi*) en perros de Galicia.
- 2.- Determinar las posibles coinfecciones con otros endoparásitos intestinales.
- 3.- Establecer la posible influencia de diferentes factores de riesgo (sexo y edad del animal) en la prevalencia de infección por estos nematodos en la población canina gallega.

## 6. MATERIALES Y MÉTODOS

### 6.1. RECOGIDA DE MUESTRAS

Para la realización de este trabajo se analizaron 95 muestras fecales de perros procedentes de diferentes municipios de las provincias de Lugo y Pontevedra. La mayoría de los animales ( $n= 59$ ) procedieron de la Sociedad Protectora de Animales y Plantas de Lugo, mientras que 35 provinieron del Centro de Acogida y Protección de Animales (CAAN) de Meis, en Pontevedra (Figura 1). Todos estos animales se muestrearon antes de desparasitarlos internamente, y ninguno de ellos presentaba sintomatología aparente.

Las muestras se recogieron inmediatamente después de que el animal defecara, sobre una superficie limpia. A continuación, se mantuvieron refrigeradas hasta su envío al laboratorio.



**Figura 1. Municipios de las provincias de Pontevedra y Lugo donde se recogieron las muestras estudiadas (marcadas en azul).**

## 6.2. PROCESADO DE MUESTRAS E IDENTIFICACIÓN DE AGENTES

Para la detección de nematodos cardiopulmonares en las muestras se empleó el test de Baermann y la flotación en solución de sacarosa, la cual permite también detectar coinfecciones con otros endoparásitos intestinales.

### 6.2.1. Test de Baermann

La técnica de Baermann o migración larvaria es una técnica cuantitativa que permite detectar L1 de nematodos en heces. En este caso se empleó para identificar L1 de *Angiostrongylus vasorum*, *Crenosoma vulpis* y *Filaroides* spp. en perros. Así, se pesaron 10 gramos de heces que se colocaron dentro de un filtro de “tejido-no tejido” de 200 mm de diámetro (NW 25L, Filter-Lab, Barcelona) en un aparato de Baermann (Figura 2); posteriormente, se añadió agua tibia hasta cubrir las muestras. Debido a su higrotropismo, las L1 migran desde las heces hacia el agua, y este comportamiento permite su separación de la

muestra fecal. La muestra se dejó 24 horas para que las L1 que abandonan las heces, por gravedad, se concentrasen en el fondo del aparato de Baermann. En un tubo de 15 ml se recogió el primer líquido, donde se concentraron las L1, y a continuación se centrifugó 5 minutos a 2000 revoluciones por minuto (rpm). Finalmente, se eliminó el sobrenadante con una bomba de vacío hasta dejar aproximadamente 1 ml, que se observó al microscopio en una cámara de Favati a 40 y 100 aumentos.

La intensidad de eliminación de larvas se expresó en número de L1 por gramo de heces (LPG), se calculó con la siguiente fórmula:

$$\text{LPG} = \text{n}^\circ \text{ larvas observadas} / \text{g de muestra pesados}$$

En aquellas muestras positivas, las especies se identificaron observando las L1 a 400 aumentos. Para ello, estas larvas se colocaron en un portaobjetos y se añadió una gota de Lugol para inmovilizarlas y teñirlas.



Figura 2. Aparatos de Baermann (izquierda) y pesado de muestras encima del filtro de “tejido-no tejido” (derecha).

### 6.2.2. Identificación larvaria

Debido a que las L1 se recuperan vivas y se encuentran en constante movimiento, la identificación microscópica basada en el estudio de diferentes detalles morfométricos de interés es complicada. En estos casos se recomienda la tinción con Lugol que, además de matarlas, favorece la diferenciación de diversas estructuras de la larva, facilitando la observación de ciertas características morfológicas.

En líneas generales, se debe considerar la forma cilíndrica característica de los nematodos, cuyo diámetro se va estrechando hacia los extremos, así como la cápsula bucal específica de la Superfamilia Metastrongyloidea y el primordio genital de gran tamaño de los ancilostómidos. Los metastrongílidos no poseen un esófago rabadiforme, y éste ocupa típicamente entre un

tercio y la mitad de su cuerpo (Lange *et al.*, 2018). Para la diferenciación específica debemos atender, además de al tamaño, a la parte posterior (diferencias en morfología y apéndices de las distintas colas) y anterior (identificando cápsula bucal o botón cefálico) de la L1, así como a la morfología esofágica (McGarry y Morgan, 2009).

*a) A. vasorum*

La L1 presenta una longitud de entre 280 y 380  $\mu\text{m}$ , con un botón cefálico muy amplio (en forma de meseta) en la parte anterior y una cola afilada con finas estriaciones transversales (Figura 3. e). En la parte dorsal de la cola también presentan una muesca prominente y una espina, así como una muesca menos prominente en su parte ventral (McGarry y Morgan, 2009).

*b) C. vulpis*

La L1, que oscila entre los 240 y los 280  $\mu\text{m}$ , presenta esófago filiforme y un botón cefálico muy llamativo en su parte anterior (Figura 3. c). Posee una cola uniformemente afilada, sin ninguna otra característica morfológica en la parte posterior (Bourque *et al.*, 2002).

*c) Filaroides spp.*

En el caso de *F. osleri*, su L1 posee una terminación ondulante, y una muesca dorsal prominente en su parte posterior (Figura 3. a). Su longitud oscila entre los 230 y los 250  $\mu\text{m}$  (McGarry y Morgan, 2009). Por el contrario, la L1 de *F. hirthei* mide entre 250 y 275  $\mu\text{m}$  y tiene una terminación recta, con una muesca dorsal más leve que la de *F. osleri*. (Figura 3. d) (McGarry y Morgan, 2009).

*d) Ancylostoma spp.*

Las L1 de ancilostómidos, a diferencia de las de los metastrongílidos, tienen un esófago rabadiforme, y generalmente son de mayor tamaño, oscilando entre los 290 y los 360  $\mu\text{m}$  (Figura 3. b) (Traversa *et al.*, 2010).



**Figura 3. Características morfológicas de las larvas de primer estadio de *Filaroides osleri* (a), *Ancylostoma* spp. (b), *Crenosoma vulpis* (c), *Filaroides hirthei* (d) y *Angiostrongylus vasorum* (e). Los dibujos no están a escala.**

### 6.2.3. Flotación en solución de sacarosa e identificación de huevos

Debido a que la técnica de flotación en sacarosa permite detectar quistes u ooquistes de protozoos y huevos de nematodos gastrointestinales y cestodos en las heces, se empleó con el objetivo de detectar los huevos de *Eucoleus* spp. Como esta técnica permite evidenciar otras

formas parasitarias de endoparásitos intestinales, nos permitió obtener una información epidemiológica más completa.

Para la realización de esta técnica se tomaron 3 gramos de cada muestra de heces, 42 ml de agua y se añadieron, además, perlas de vidrio, que favorecen una adecuada homogeneización de la muestra. A continuación, el contenido del bote se pasó por una doble malla (Figura 4): la de 4 mm retiene las perlas y la de 150  $\mu\text{m}$  los detritos fecales de mayor tamaño. Con el filtrado se llenaron dos tubos de ensayo de 15 ml, que se centrifugaron 5 minutos a 2000 rpm. A continuación, se eliminó el sobrenadante y, para mejorar la homogeneización, se deshizo el sedimento con unos golpes suaves en la base del tubo antes de añadir solución de sacarosa hasta formar un menisco en la parte superior del tubo. Seguidamente se centrifugó una segunda vez (5 minutos a 2000 rpm) con un cubreobjetos encima de cada tubo de ensayo (Figura 4). De esta manera, durante la centrifugación las formas parasitarias se separan del sedimento, más pesado, y flotan hasta llegar a la parte superior del tubo, donde se adhieren al cubreobjetos. Finalmente, estos cubres se colocan sobre los portaobjetos pertinentes y se observan las muestras al microscopio a 100 aumentos. Los huevos de *E. aerophilus* (Figura 5), de entre 60 y 85  $\mu\text{m}$  de longitud, se caracterizan por poseer dos tapones polares asimétricos y una superficie con estriaciones que se ramifican (Cervone *et al.*, 2017). Por su parte, el huevo de *E. boehmi* (Figura 5) es ligeramente más pequeño, de 50-60  $\mu\text{m}$  de longitud, y su superficie está cubierta de numerosos orificios a modo de dedal (Bowman, 2011), y en el momento de ser eliminadas en las heces han sufrido ya algunas divisiones celulares, con lo que no llenan el huevo por completo (Alho *et al.*, 2016). Todos estos huevos suelen confundirse fácilmente con los de *Trichuris* spp., de entre 70 y 80  $\mu\text{m}$  de longitud, pero éstos son simétricos, y sus tapones polares presentan engrosamientos en anillo en su base. Además, su cubierta externa es lisa, sin ningún tipo de estriación (Traversa *et al.*, 2010).



**Figura 4.** Mallas usadas (izquierda), de izquierda a derecha, malla de 4 mm, de 150  $\mu\text{m}$  y contenedor de recolección; centrífuga (derecha), con los cubreobjetos colocados sobre los tubos

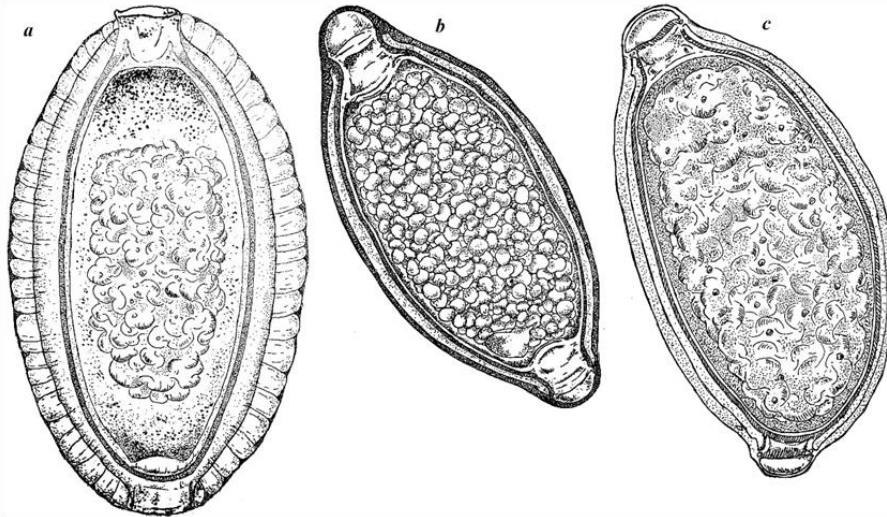


Figura 5. Características morfológicas de las larvas de primer estadio de *Eucoleus boehmi* (a), *Trichuris* spp. (b) y *Eucoleus aerophilus* (c). Los dibujos no están a escala.

### 6.3. INFLUENCIA DE LA EDAD Y EL SEXO DE LOS ANIMALES EN LA PREVALENCIA DE LAS DIFERENTES FORMAS PARASITARIAS.

Los datos obtenidos en este estudio se procesaron con ayuda de la hoja de cálculo Microsoft Excel 2007 y su análisis estadístico se realizó mediante el paquete estadístico SPSS para Windows, versión 22.0. Se empleó el test de Chi-cuadrado para comprobar si existían diferencias significativas respecto al porcentaje de infección al tener en cuenta la edad y el sexo de los animales. Los animales se clasificaron en dos grupos al considerar la edad: jóvenes (menores de un año) y adultos (mayores de un año).

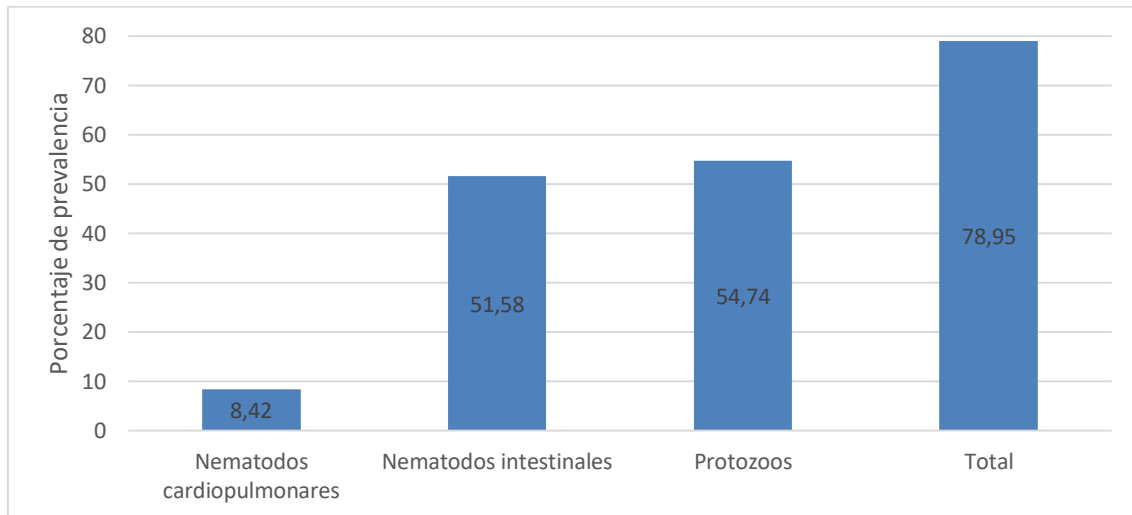
## 7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 7.1. PREVALENCIAS DE LOS PARÁSITOS ENCONTRADOS

De las 95 muestras estudiadas, en 75 (78,95%) se hallaron formas parasitarias de nematodos cardiopulmonares, nematodos gastrointestinales y/o protozoos (Figura 6). Los más prevalentes fueron los protozoos (52 muestras positivas, 54, 74%), seguidos por los nematodos intestinales (49 muestras positivas, 51, 58%), mientras que los nematodos cardiopulmonares solo se hallaron en un pequeño porcentaje del total (8 muestras positivas, 8,42%).

Dentro de los nematodos cardiopulmonares, se identificaron 4 especies diferentes. Los más frecuentes pertenecieron al género *Eucoleus*, predominando *E. aerophilus* (5,26%) sobre *E. boehmi* (2,11%). Finalmente, en un 1,05% de las muestras se hallaron L1 de los metastrongílidos *Angiostrongylus vasorum* y *Crenosoma vulpis*, respectivamente.

Los huevos de *E. aerophilus* tuvieron un tamaño medio de 66,4  $\mu\text{m}$  y, como se aprecia en la Figura 7, son asimétricos y presentan dos tapones polares sobresalientes y cubierta estriada. La mayoría de las muestras positivas a este nematodo ( $n= 3$ ) procedieron de la provincia de Pontevedra (ayuntamientos de Redondela, Vilanova y Catoira), mientras que las otras dos se obtuvieron de perros recogidos en el ayuntamiento de Lugo (Figura 8).

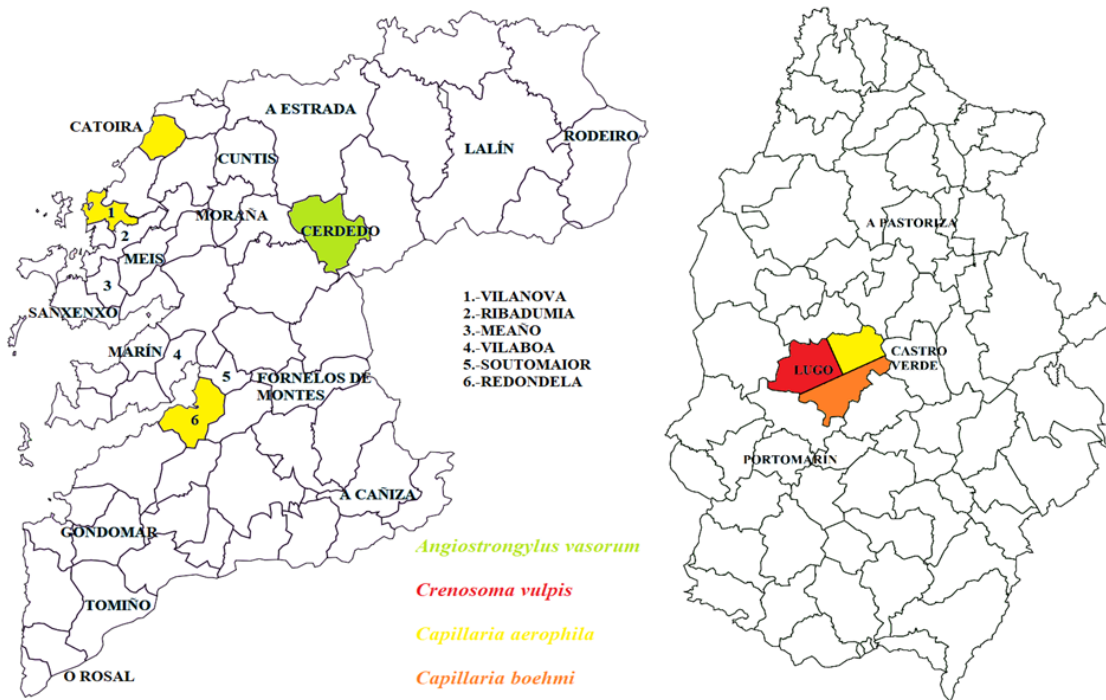


**Figura 6. Porcentajes de infección atendiendo a los grandes grupos parasitarios**

Por su parte, los huevos de *E. boehmi* fueron de menor tamaño que los de *E. aerophilus* (54,2  $\mu\text{m}$ ) y, aunque también presentaron una forma asimétrica y cubierta estriada, los tapones polares no sobresalieron (Figura 7). Ambas muestras positivas procedieron del ayuntamiento de Lugo (Figura 8).



**Figura 7. Huevos de *Eucoleus aerophilus* (izquierda) y *Eucoleus boehmi* (derecha) en una muestra**



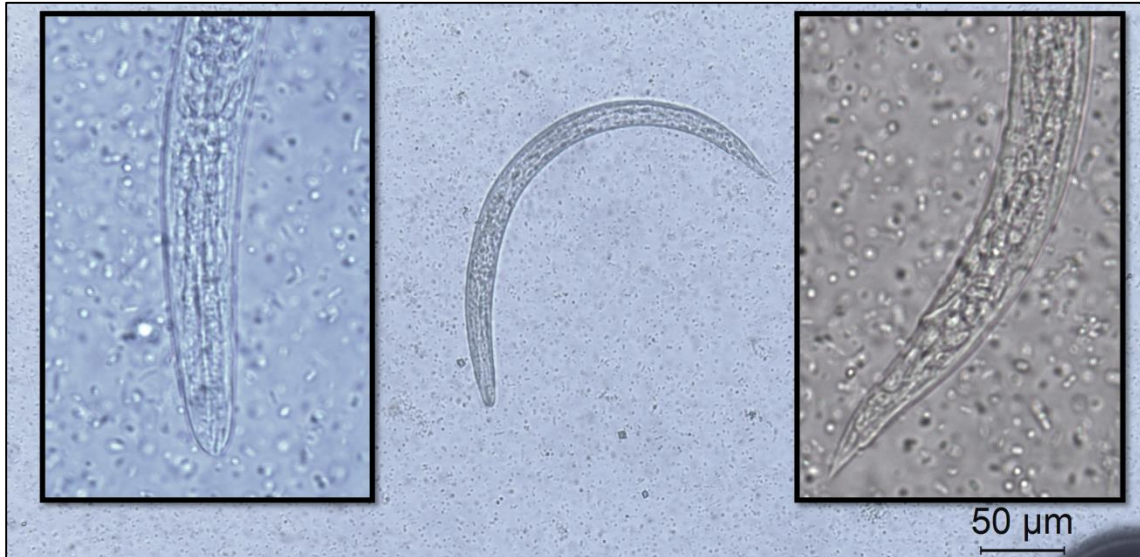
**Figura 8. Ayuntamientos de las provincias de Lugo y Pontevedra donde se hallaron muestras positivas a nematodos cardiopulmonares**

La muestra positiva a *A. vasorum* procedió de un perro de Cerdedo, en Pontevedra (Figura 8). Las L1 halladas tuvieron una longitud media de 401,2  $\mu\text{m}$ , y presentaron un característico botón cefálico de base ancha así como una cola retorcida, con una prominente muesca dorsal, con espina, y otra muesca ventral menos pronunciada (Figura 9). La intensidad de eliminación de L1 fue baja, ya que se hallaron 0,5 lpg.



**Figura 9. Larva de primer estadio de *Angiostrongylus vasorum* teñida con Lugol. A la izquierda, detalle de la cola, y a la derecha, detalle de la porción anterior**

El animal positivo a *C. vulpis* se recogió en el ayuntamiento de Lugo (Figura 8). Las L1 de esta especie tuvieron un tamaño pequeño (281,3  $\mu\text{m}$ ), con un botón cefálico prominente y cola roma (Figura 10).



**Figura 10.** Larva de primer estadio de *Crenosoma vulpis* teñida con Lugol. A la izquierda, detalle de la porción anterior, y a la derecha, detalle de la cola

Esporádicamente también se hallaron L1 de ancylostómidos, pero se diferenciaron bien de las L1 de nematodos cardiopulmonares por su mayor tamaño, presencia de cápsula bucal y extremo caudal afilado (Figura 11).

Las prevalencias de los nematodos cardiopulmonares identificados en este estudio fueron bajas, no superando el 6% en ningún caso. Estos resultados coinciden con los observados en otros países europeos, donde los porcentajes de infección fueron también muy reducidos, mientras que en España no tenemos datos recientes acerca de la presencia e importancia de estos parásitos en perros domésticos. Sin embargo, en España se ha demostrado su presencia en otros hospedadores como zorros, mostrando prevalencias más elevadas en el norte del país que en el sur (Segovia *et al.*, 2004). Así, las prevalencias de *A. vasorum* halladas en Europa fueron similares a las obtenidas en este trabajo (1,05%), pues en Dinamarca se hallaron porcentajes de infección del 2,2% (Taubert *et al.*, 2009), del 1,1% en Grecia (Papazahariadou *et al.*, 2007) y del 0,8% en Holanda (van Doorn *et al.*, 2009).

El porcentaje de animales positivos a *C. vulpis* en Galicia (1,05%) se correspondió también con los resultados obtenidos en otros países europeos, como Alemania (2,4%; Taubert *et al.*, 2009), Dinamarca (1,4%; Taubert *et al.*, 2009) y la República Checa (2%; Hajnalová, *et al.*, 2017). En el caso de *E. aerophilus* la prevalencia (5,26%) fue superior a la reflejada en otros

estudios, como Portugal (0,3%; Traversa *et al.*, 2010), Alemania (0,2%; Traversa *et al.*, 2010) o Italia (2%; Traversa *et al.*, 2019). Por último, los datos disponibles sobre *E. boehmi* son muy escasos, posiblemente por haberse identificado, junto con otras especies, como *Capillaria* spp., o incluso como *E. aerophilus*. Sin embargo, un estudio reciente ha señalado una prevalencia del 1,2% en Italia (Traversa *et al.*, 2019), también similar a los valores obtenidos en este trabajo (2,11%).

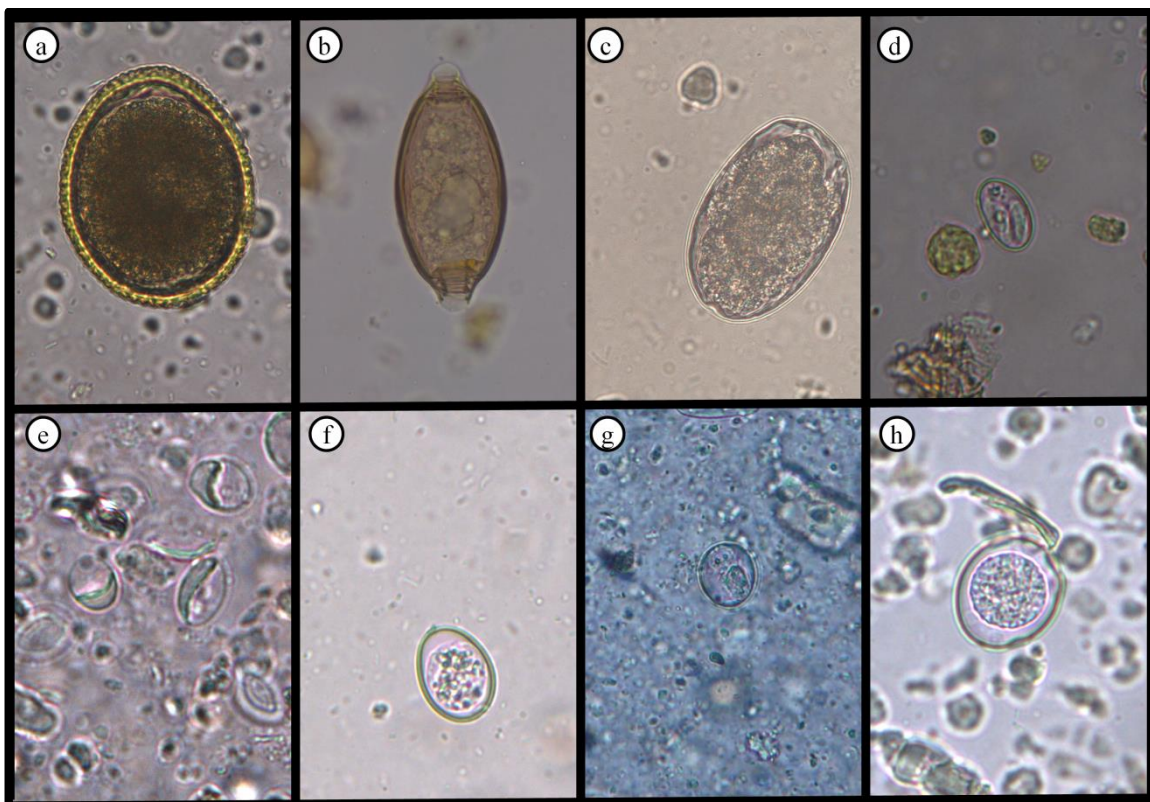


**Figura 11. L1 de ancylostómido teñido con Lugol**

Los animales incluidos en el presente estudio fueron perros abandonados que ingresaban en sociedades protectoras de animales; además, en el momento de la recogida de las muestras no habían sido desparasitados y no mostraban sintomatología clínica respiratoria. Por ello, eran perros que habían estado en el exterior, lo que incrementa la posibilidad de que ingiriesen posibles HI infectados y transmisores de estas parasitosis, como lombrices de tierra en el caso de *Eucoleus* spp. y de moluscos gasterópodos para *A. vasorum* y *C. vulpis*. Sin embargo, las prevalencias halladas fueron bajas, aunque varios factores relacionados con el diseño del estudio podrían explicar estos reducidos porcentajes de infección. Por un lado, el estudio fue transversal y solo se analizó una única muestra; por ello, y debido a que la eliminación de L1 y huevos de estos parásitos es intermitente y que la sensibilidad del método de Baermann no es completa (Martínez-Pereira, 2010), los valores de prevalencia obtenidos pueden ser menores a los reales. Por el contrario, la prevalencia de *E. aerophilus* hallada en perros de Galicia fue ligeramente superior a la hallada en otros países europeos, lo que puede deberse a posibles errores de

diagnóstico, pues sus huevos son muy similares a los de *Trichuris* spp. Estos resultados también son importantes al considerar el potencial zoonótico de *E. aerophilus*; aunque la prevalencia de este parásito no es elevada, estos resultados suponen un riesgo de infección para las personas. A pesar de no tratarse de un proceso común, las infecciones por este nematodo pueden causar procesos neumónicos en personas, dando un diagnóstico de imagen compatible con cáncer de pulmón; aún así, no se suele incluir en el diagnóstico diferencial en esos casos (Traversa *et al.*, 2010).

Con respecto a los parásitos del tracto gastrointestinal, la alta prevalencia obtenida en este estudio (77,89%) fue comparable a la señalada en perros de Cataluña (71,6%) por Ortuño *et al.* (2014) o en Córdoba (71,33%) por Martínez-Moreno *et al.* (2007). Por el contrario, en Madrid, Miró *et al.* (2007) solo identificó endoparásitos gastrointestinales en el 28% de las muestras. Asimismo, mediante la flotación en sacarosa también se observó la presencia de otros parásitos gastrointestinales (Figura 12).



**Figura 12.** Formas parasitarias de parásitos gastrointestinales. Huevos de *Toxocara* spp. (a), *Trichuris* spp. (b), Ancylostómido (c); esporocisto de *Sarcocystis* spp. (d), quiste de *Giardia duodenalis* (e) y ooquistes de *Eimeria* spp. (f), *Cystoisospora ohioensis* (g) y *Cystoisospora canis* (h).

*Giardia duodenalis* fue el parásito gastrointestinal más prevalente (38,95%). Los nematodos *Ancylostoma* spp. (28,42%), *Trichuris* spp. (28,42%) y *Toxocara* spp. (16,84%) fueron también muy frecuentes, así como aquellos ooquistes pertenecientes al complejo *Cystoisospora ohioensis* (15,79%). Por el contrario, *Sarcocystis* spp. (5,26%), *Eimeria* spp. (5,26%) y *Cystoisospora canis* (1,05%) se hallaron de forma esporádica.

*Giardia duodenalis* fue el parásito gastrointestinal más común de los incluidos en este estudio; estos resultados pueden tener graves implicaciones zoonóticas, aunque se deben realizar estudios moleculares para determinar el genotipo de *G. duodenalis* y su potencial zoonótico (Cendán, 2017). La prevalencia obtenida fue similar a la obtenida por Ortuño *et al.* (2014) en Cataluña (37,4%); sin embargo, la mayoría de los estudios realizados en España señalan porcentajes más reducidos, como el llevado a cabo por Dado *et al.* (2012) en Madrid (16,4%), por Gracenea *et al.* (2009) en Barcelona (6,1%) o por Martínez-Moreno *et al.* (2007) en Córdoba (1%).

*Ancylostoma* spp. y *Trichuris* spp. fueron también muy comunes puesto que más de un cuarto de los animales estudiados estaban infectados. Estos resultados poseen gran importancia porque ambos nematodos son potencialmente zoonóticos: *Ancylostoma* spp. causa el síndrome de larva *migrans* cutánea, mientras que las infecciones por *Trichuris* spp. suelen ser asintomáticas en humanos, pero en casos graves pueden cursar con síntomas como diarrea sanguinolenta y tenesmo (Márquez-Navarro *et al.*, 2012). Los resultados obtenidos fueron muy superiores a los señalados en otras regiones españolas; así, en perros de Barcelona, Gracenea *et al.* (2009) observaron prevalencias de *Ancylostoma* spp. del 4,3% y de *Trichuris* spp. del 5,3%, mientras que en Madrid, el 4% y el 3,3% de los animales fueron positivos a *Ancylostoma* spp. y *Trichuris* spp., respectivamente (Miró *et al.*, 2007). En los estudios de Martínez-Carrasco *et al.* (2007) y de Martínez-Moreno *et al.* (2007) los valores son similares a los de los estudios anteriormente comentados.

Los porcentajes de infección por *Toxocara* spp. observados fueron similares a los obtenidos por Martínez-Moreno *et al.* (2007) en Córdoba (17,72%), y notablemente más elevados que los señalados por Gracenea *et al.* (2009), Ortuño *et al.* (2014) y Martínez-Carrasco *et al.* (2007), con valores del 6,5%, 6,9% y 8% respectivamente. Nuestros resultados tienen importantes implicaciones desde el punto de vista de salud pública, ya que las infecciones por *Toxocara* spp. son una de las zoonosis más comunes en el mundo, incluso con elevadas prevalencias en países desarrollados (Magnaval *et al.*, 2001); una de las causas de estos elevados índices de infección es la elevada resistencia de sus huevos en el ambiente, y las personas se infectan tras la ingestión de los mismos. Cursa con el síndrome de larva *migrans* visceral o larva *migrans* ocular, produciendo hemorragias y necrosis a lo largo de su trayecto

migratorio y, en el caso del ocular, incluso pérdidas de visión, siendo de especial importancia en niños pequeños (Magnaval *et al.*, 2001).

Con un 15,79%, la prevalencia de *Cystoisospora ohioensis* fue similar a la obtenida por Ortuño *et al.* (2014) en Barcelona (13,3%). Por su parte, *Sarcocystis* spp., fue más prevalente que en Córdoba (2,5%; Martínez-Moreno *et al.*; 2007). Por el contrario, la prevalencia de *Cystoisospora canis* fue muy inferior a la señalada por Ortuño *et al.* (2014), Martínez-Carrasco *et al.* (2007) y Martínez-Moreno *et al.* (2007), con valores del 4,8%, del 10% y del 22% respectivamente.

## 7.2. PRESENCIA DE INFECCIONES MIXTAS

De las 8 muestras positivas a nematodos cardiopulmonares, sólo en una de ellas no se detectaron otros parásitos. El resto de animales presentaban coinfecciones con uno o más parásitos del tracto gastrointestinal, siendo los más comunes *Trichuris* spp. (85,71%) y *Ancylostoma* spp. (71,43%) (Tabla 4). Se hallaron infecciones con hasta 5 parásitos diferentes; así, en la muestra positiva a *A. vasorum* también se identificó *Ancylostoma* spp., *Trichuris* spp. y *Giardia duodenalis*, mientras que la positiva a *C. vulpis* lo fue también a *Toxocara* spp., a *Trichuris* spp. y a *Giardia duodenalis*. De las 5 muestras positivas a *E. aerophilus*, una de ellas, procedente del concello de Lugo, no presentó otros parásitos, mientras que el resto fueron infecciones mixtas con 2-5 parásitos diferentes (Tabla 4).

**Tabla 4. Muestras positivas a nematodos cardiopulmonares e infecciones concomitantes encontradas en ellas**

	INFECCIONES MIXTAS							ORIGEN
	<i>Ancylostoma</i> spp.	<i>Toxocara</i> spp.	<i>Trichuris</i> spp.	<i>Eucolus</i> <i>aerophilus</i>	<i>Eucoleus</i> <i>boehmi</i>	<i>Eimeria</i> spp.	<i>Giardia</i> spp.	
<i>A. vasorum</i>	X		X				X	Cerdedo (P)
<i>C. vulpis</i>		X	X				X	Lugo (L)
<i>E. aerophilus</i>			X		X	X		Lugo (L)
	X							Redondela (P)
	X		X					Vilanova (P)
	X	X	X				X	Catoira (P),
<i>E. boehmi</i>	X							Lugo (L)
			X	X		X		Lugo (L)

Por último, en las 2 muestras positivas a *E. boehmi* se detectaron infecciones mixtas de entre 2 y 4 parásitos diferentes (Tabla 4). Los parásitos más frecuentes en estas coinfecciones

fueron los nematodos gastrointestinales, probablemente debido a las altas prevalencias encontradas, que hacen su diagnóstico mucho más probable que el de los nematodos cardiopulmonares. Asimismo, al ser en su mayoría perros abandonados y recogidos de la calle, pertenecientes a protectoras, estos animales tienen un mayor riesgo de adquirir este tipo de parásitos internos. Al no presentar sintomatología ninguno de los perros de los que se han obtenido muestras, todavía no podemos confirmar hasta qué punto estas coinfecciones afectan a sus hospedadores.

Con respecto a las infecciones mixtas, la literatura científica publicada hasta ahora se ha centrado más en las coinfecciones de *A. vasorum* y *C. vulpis* que en las de otros parásitos, que no se abordan de manera específica. Por ejemplo, Taubert *et al.* (2009) señalaron coinfecciones de *A. vasorum* y *C. vulpis* en un 2,01% y en un 2,86% de las muestras positivas de las muestras positivas en Dinamarca y Alemania, respectivamente. En este último país también las hallaron Barutzki y Schaper (2009), con un 3,81% sobre las muestras positivas. Sin embargo, en ninguno de estos estudios se contemplan de manera específica coinfecciones con otro tipo de parásitos. Traversa *et al.* (2015), en un estudio que estima la prevalencia de *E. aerophilus* en Italia, se observó un porcentaje de infecciones mixtas del 40,31%, incluyendo parásitos intestinales y enfermedades transmitidas por vectores, pero sin identificar si se trata de coinfecciones con los casos positivos a *E. aerophilus* o con el resto de parásitos incluidos en el estudio.

En Canadá, Conboy (2004), señaló que el 5,17% de los perros positivos a endoparásitos eran a *A. vasorum* y *C. vulpis*. Además, de los 42 perros positivos a *C. vulpis*, 3 (7,14%) lo eran también a *Uncinaria stenocephala*, de la familia de los ancylostómidos; 1 (2,38%) a *Toxocara canis*, 1 a *Alaria* spp., un trematodo intestinal; y 1 a *Isospora* spp. De los 16 perros positivos a *A. vasorum*, 2 (12,5%) lo eran también a *Uncinaria stenocephala*, 2 a *Toxocara canis*, 2 a *Trichuris vulpis* y 1 (6,25%) a *Toxascaris leonina*.

### 7.3. INFLUENCIA DE DIFERENTES FACTORES DE RIESGO

Al estudiar la posible influencia de la edad sobre los porcentajes de infección por los diferentes endoparásitos cardiopulmonares y gastrointestinales, se observó que los jóvenes estaban más parasitados por *C. vulpis*, *Toxocara* spp., *C. canis* y *G. duodenalis* (Tabla 5), mientras que el resto fue más frecuente en los perros adultos. Sin embargo, estas diferencias sólo fueron significativas para los ancylostómidos ( $p < 0,05$ ). Martínez-Carrasco *et al.* (2007), Barutzki y Schaper (2011), Pallant *et al.* (2015) y Cendán (2017) obtuvieron resultados similares y significativos con respecto a *G. duodenalis*, que presentaba más prevalencia entre los animales más jóvenes. Estos resultados identifican con alta seguridad a los perros jóvenes como un grupo de riesgo con respecto a esta parasitosis. De la misma manera, los menores

valores de infección observables en los animales adultos podrían deberse a la inmunidad adquirida fruto de repetidos contactos con este protozoo.

Cendán (2017) también reportó más comunes en los animales adultos (aunque no de manera significativa) las toxocariosis, ancylostomosis y trichurosis. Estos resultados se corresponden sólo parcialmente con los nuestros en el caso de las ancylostomosis y las trichurosis. Martínez-Moreno *et al.* (2017) encontró, significativamente, que las infecciones por protozoos, *Toxocara* spp. y *Ancylostoma* spp. se presentaban más comunes entre los perros menores de 12 meses. Una vez más, sólo los resultados de las protozoosis y *Toxocara* spp. se corresponden con los nuestros. Barutzki y Schaper (2003), por su parte, reportó en los perros jóvenes más prevalencia en *Cystoisospora* spp., *Toxocara canis*, *Trichuris vulpis* y *Ancylostoma* spp., coincidiendo con nuestros resultados en los dos primeros casos.

A excepción de *Giardia* spp., con los datos observados no obtenemos un patrón claro de la influencia de la edad en el riesgo de infección.

**Tabla 5. Porcentajes de infección por los diferentes parásitos cardiopulmonares y gastrointestinales detectados en este estudio al considerar la edad de los animales**

Parásito	Jóvenes (%)	Adultos (%)	Chi-cuadrado
<i>A. vasorum</i>	0	1,7	0,548; p=0,459
<i>C. vulpis</i>	3,1	0	1,864; p=0,172
<i>E. aerophilus</i>	0	8,5	2,870; p=0,090
<i>E. boehmi</i>	0	3,4	1,109; p=0,292
<b>Ancylostómidos</b>	12,5	37,3	6,247; p=0,012
<b><i>Toxocara</i> spp.</b>	25,0	11,9	2,600; p=0,107
<b><i>Trchuris</i> spp.</b>	25,0	30,5	0,308; p=0,579
<i>Cy. canis</i>	3,1	0	1,864; p=0,172
<i>Cy. ohioensis</i>	15,6	16,9	0,026; p=0,871
<b><i>Sarcocystis</i> spp.</b>	0	8,5	2,870; p=0,090
<b><i>Eimeria</i> spp.</b>	0	6,8	2,269; p=0,132
<b><i>G. duodenalis</i></b>	50	32,2	2,776; p=0,096

En cuanto a la influencia del sexo de los animales sobre los porcentajes de infección, se comprobó que los machos estaban más parasitados por *A. vasorum*, ancylostómidos, *Trichuris* spp., *C. ohioensis* y *Sarcocystis* spp. (Tabla 6), mientras que el resto fueron más frecuentes en las hembras. Sin embargo, en ningún caso estas diferencias fueron estadísticamente significativas ( $p > 0,05$ ). Cendán (2017) observó de manera significativa que en los machos la

giardiosis era más frecuente que en las hembras. No obstante, Epe *et al.* (2010) y Pallant *et al.* (2015), en sus estudios demostraron, de manera significativa, que las hembras presentaban más riesgo a sufrir esta parasitosis. Asimismo, Cendán (2017) también observó que, excepto *Trichuris* spp., todas las parasitosis incluidas en su investigación (contando *G. duodenalis*, *Cystoisospora* spp., *Sarcocystis* spp., *Toxocara* spp. y ancylostómidos) eran más comunes en los machos (aunque sin diferencias significativas en ningún caso), lo que no se cumple en nuestro estudio. Finalmente, no contamos con una batería de datos que cumplan un patrón concreto del que sacar conclusiones sobre la incidencia del sexo en el riesgo de infección.

**Tabla 6. Porcentajes de infección por los diferentes parásitos cardiopulmonares y gastrointestinales detectados en este estudio al considerar el sexo de los animales**

Parásito	Hembras (%)	Machos (%)	Chi-cuadrado
<i>A. vasorum</i>	0	2	0,949; p= 0,330
<i>C. vulpis</i>	2,2	0	1,077; p=0,299
<i>E. aerophilus</i>	8,7	2,0	2,107; p= 0,147
<i>E. boehmi</i>	2,2	2,0	0,002; p= 0,964
<b>Ancylostómidos</b>	23,9	32,7	0,891; p=0,345
<i>Toxocara</i> spp.	17,4	16,3	0,019; p=0,890
<i>Trichuris</i> spp.	23,9	32,7	0,899; p=0,345
<i>Cy. Canis</i>	2,2	0	1,077; p=0,299
<i>Cy. Ohioensis</i>	13,0	18,4	0,506; p=0,477
<i>Sarcocystis</i> spp.	2,2	8,2	1,707; p=0,191
<i>Eimeria</i> spp.	6,5	4,1	0,283; p=0,595
<i>G. duodenalis</i>	45,7	32,7	1,686; p=0,194

Para el caso de los nematodos cardiopulmonares, Chapman *et al.* (2004), Koch y Willesen (2009) y Hajnalová *et al.* (2017) observaron en *A. vasorum* y en *C. vulpis* una mayor prevalencia en perros jóvenes. Por su parte, Conboy (2004) y van Doorn *et al.* (2009) no encontraron patrones significativos con respecto a la edad o al sexo. En nuestro caso, la discusión sobre estos dos parásitos se hace difícil al contar con solo una muestra positiva, por lo que se desembocaría en resultados no representativos de la realidad. Asimismo, con respecto a al resto de nematodos cardiopulmonares incluidos en este estudio, estos últimos años se han reportado en su mayoría datos aislados o muy reducidos (como es nuestro caso), que impiden sacar conclusiones veraces sobre la influencia de la edad o el sexo en el riesgo de infección.

## 8. CONCLUSIONES

1. Los nematodos cardiopulmonares de las familias Angiostrongylidae, Crenosomatidae y Trichuridae son poco prevalentes en perros de Galicia, pero los porcentajes son similares a los hallados en otros países europeos.

2. *Eucoleus aerophilus* fue el nematodo cardiopulmonar más frecuente; debido a que este parásito es zoonótico, este resultados tienen implicaciones en salud pública. En menor proporción se halló *Eucoleus boehmi*, *Angiostrongylus vasorum* y *Crenosoma vulpis*.

3. La sintomatología inespecífica y el diseño experimental del estudio puede subestimar los porcentajes de infección reales, ya que solo se analizó una sola muestra y la eliminación de formas parasitarias de estos nematodos es intermitente.

4. Aunque la edad y el sexo de los animales no influyeron de forma significativa sobre los porcentajes de infección, se necesitan estudios epidemiológicos más completos sobre estos nematodos cardiopulmonares para determinar las zonas de mayor riesgo y su importancia real en la población canina, lo que permitiría optimizar el diagnóstico y las medidas de control.

5. Los animales positivos a nematodos cardiopulmonares presentaron infecciones mixtas con otros parásitos gastrointestinales, encontrándose hasta 5 parásitos diferentes en un mismo animal.

6.-La prevalencia de parásitos gastrointestinales en perros de Galicia fue muy alta, siendo *Giardia duodenalis* el más común, seguido de *Trichuris* y *Ancylostoma*. Estos elevados valores sugiere la aplicación de programas de monitorización y control eficaces por parte de los veterinarios y de los dueños, sobre todo teniendo en cuenta que varias especies poseen potencial zoonótico.

## 9. BIBLIOGRAFÍA

- Alho, A., Mouro, S., Pissarra, H., Murta, A., Lemos, M., Gomes, L., Lima, C. y de Carvalho, L. (2016). First report of *Eucoleus boehmi* infection in a dog from Portugal. *Parasitology Research*, 115(4), 1721-1725. doi:10.1007/s00436-016-4932-6
- Bowman, D. (2011). *Georgis Parasitología para veterinarios*. Barcelona: Elsevier España.
- Barutzki, D., y Schaper, R. (2003). Endoparasites in dogs and cats in Germany 1999 – 2002. *Parasitology Research*, 90(3), 148-150. doi:10.1007/s00436-003-0922-6
- Barutzki, D., y Schaper, R. (2009). Natural infections of *Angiostrongylus vasorum* and *Crenosoma vulpis* in dogs in Germany (2007–2009). *Parasitology Research*, 105 Suppl 1(S1), 39. doi:10.1007/s00436-009-1494-x
- Barutzki, D., & Schaper, R. (2011). Results of parasitological examinations of faecal samples from cats and dogs in Germany between 2003 and 2010. *Parasitology research*, 109(1), 45-60. doi: 10.1007/s00436-011-2402-8
- Bolt, G., Monrad, J., Koch, J., y Jensen, A. L. (1994). Canine angiostrongylosis: a review. *The Veterinary Record*, 135(19), 447-452. doi: 10.1136/vr.135.19.447
- Bourque, A., Conboy, G., Miller, L., Whitney, H., y Ralhan, S. (2002). *Angiostrongylus vasorum* infection in 2 dogs from Newfoundland. *The Canadian Veterinary Journal*, 43(11), 876-879.
- Bourque, A. C., Conboy, G., Miller, L. M., y Whitney, H. (2008). Pathological findings in dogs naturally infected with *Angiostrongylus vasorum* in Newfoundland and Labrador, Canada. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 20(1), 11-20. doi: 10.1177/104063870802000103
- Cendán, I. (2017). Presencia de *Giardia* spp. en perros de la ciudad de Lugo y análisis de su potencial zoonótico. Trabajo Fin de Grado. Universidade de Santiago de Compostela.
- Cervone, M., Messina, N., y Perrucci, S. (2017). Nasal capillaritis due to *Eucoleus boehmi* in two naturally infected dogs. *Revue Vétérinaire Clinique*, 52(2), 41-45. doi:10.1016/j.anicom.2017.04.001
- Chapman, P. S., Boag, A. K., Guitian, J. y Boswood, A. (2004). *Angiostrongylus vasorum* infection in 23 dogs (1999-2002). *Journal of Small Animal Practice*, 45(9), 435-440. doi:10.1111/j.1748-5827.2004.tb00261.x
- Clark, A. C., López, F. R., Levine, J. M., Cooper, J. J., Craig, T. M., Voges, A. K., ... Porter, B. F. (2013). Intracranial migration of *Eucoleus (Capillaria) boehmi* in a dog. *Journal of Small Animal Practice*, 54(2), 99-103. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1748-5827.2012.01303.x>

- Colella, V., Mutafchiev, Y., Cavalera, M. A., Giannelli, A., Lia, R. P., Dantas-Torres, F. y Otranto, D. (2016). Development of *Crenosoma vulpis* in the common garden snail *Cornu aspersum*: Implications for epidemiological studies. *Parasites & Vectors*, 9(1), 208. doi:10.1186/s13071-016-1483-8
- Conboy, G. (2004). Natural infections of *Crenosoma vulpis* and *Angiostrongylus vasorum* in Atlantic Canada and their treatment with milbemycin oxime. *Veterinary Record*, 155(1), 16-18. doi:10.1136/vr.155.1.16
- Conboy, G. (2009). Helminth parasites of the canine and feline respiratory tract. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice*, 39(6), 1109-1126. doi:10.1016/j.cvsm.2009.06.006
- Cury, M. C., Lima, W. S., Guimaraes, M. P., y Carvalho, M. G. (2002). Hematological and coagulation profiles in dogs experimentally infected with *Angiostrongylus vasorum* (Baillet, 1866). *Veterinary parasitology*, 104(2), 139-149. doi: 10.1016/S0304-4017(01)00616-1
- Cury, M. C., Guimarães, M. P., Lima, W. S., Caldeira, M. C. M., Couto, T. R., Murta, K., ... Baptista, J. M. B. (2005). Biochemical serum profiles in dogs experimentally infected with *Angiostrongylus vasorum* (Baillet, 1866). *Veterinary parasitology*, 128(1-2), 121-127. doi: https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2004.11.009
- Dado, D., Montoya, A., Blanco, M. A., Miró, G., Saugar, J. M., Bailo, B., y Fuentes, I. (2012). Prevalence and genotypes of *Giardia duodenalis* from dogs in Spain: possible zoonotic transmission and public health importance. *Parasitology Research*, 111(6), 2419–2422. doi:10.1007/s00436-012-3100-x
- Denk, D., Matiasek, K., Just, F. T., Hermanns, W., Baiker, K., Herbach, N., ... Fischer, A. (2009). Disseminated angiostrongylosis with fatal cerebral haemorrhages in two dogs in Germany: a clinical case study. *Veterinary parasitology*, 160(1-2), 100-108. doi: 10.1016/j.vetpar.2008.10.077
- Dias, S. R. C., y dos Santos Lima, W. (2012). Effect of temperature on activity of third-stage larvae of *Angiostrongylus vasorum*. *Parasitology research*, 110(4), 1327-1330. doi: 10.1007/s00436-011-2624-9
- Elsheikha, H. M., Holmes, S. A., Wright, I., Morgan, E. R., y Lacher, D. W. (2014). Recent advances in the epidemiology, clinical and diagnostic features, and control of canine cardio-pulmonary angiostrongylosis. *Veterinary Research*, 45(1), 92. doi:10.1186/s13567-014-0092-9

- Epe C., Rehker G., Schnieder T., Lorentzen L., y Kreienbrock L., (2010). *Giardia* in symptomatic dogs and cats in Europe – results of a European study. *Veterinary Parasitology*, 173(1-2) 32 – 38. doi: 10.1016/j.vetpar.2010.06.015
- Gracenea, M., Gómez, M. S., y Torres, J. (2009). Prevalence of intestinal parasites in shelter dogs and cats in the metropolitan area of Barcelona (Spain). *Acta Parasitologica*, 54(1), 73-77. doi: 10.2478/s11686-009-0005-7
- Hajnalová, M., Svobodová, V., Schnyder, M., Schaper, R., y Svobodá, M. (2017). Faecal detection of the lungworms *Crenosoma vulpis* and *Angiostrongylus vasorum* and serological detection of *A. vasorum* in dogs from the Czech Republic. *Acta Veterinaria Brno*, 86(4), 393-398. doi:10.2754/avb201786040393
- Helm, J. y Morgan, E. (2017). Canine and feline lungworm infections in the UK. *In Practice*, 39(7), 298-315. doi: 10.1136/inp.j3134
- Humm, K., y Adamantos, S. (2010). Is evaluation of a faecal smear a useful technique in the diagnosis of canine pulmonary angiostrongylosis?. *Journal of Small Animal Practice*, 51(4), 200-203. doi: 10.1111/j.1748-5827.2009.00905.x
- Jefferies, R., Shaw, S. E., Viney, M. E., y Morgan, E. R. (2009). *Angiostrongylus vasorum* from South Smerica and Europe represent distinct lineages. *Parasitology*, 136(1), 107-115. doi:10.1017/S0031182008005258
- Jeffery, R. A., Lankester, M. W., McGrath, M. J., y Whitney, H. G. (2004). *Angiostrongylus vasorum* and *Crenosoma vulpis* in red foxes (*Vulpes vulpes*) in Newfoundland, Canada. *Canadian Journal of Zoology*, 82(1), 66-74. doi: 10.1139/z03-211
- Khatat, S. E., Rosenberg, D., Benchekroun, G., y Polack, B. (2016). Lungworm *Eucoleus aerophilus* (*Capillaria aerophila*) infection in a feline immunodeficiency virus-positive cat in france. *Journal of Feline Medicine and Surgery Open Reports*, 2(1), 2055116916651649. doi:10.1177/2055116916651649
- Koch, J., y Willesen, J. L. (2009). Canine pulmonary angiostrongylosis: An update. *The Veterinary Journal*, 179(3), 348-359. doi:10.1016/j.tvjl.2007.11.014
- Lange, M. K., Penagos-Tabares, F., Hirzmann, J., Failing, K., Schaper, R., Van Bourgonie, Y. R., . . . Taubert, A. (2018). Prevalence of *Angiostrongylus vasorum*, *Aelurostrongylus abstrusus* and *Crenosoma vulpis* larvae in native slug populations in Germany. *Veterinary Parasitology*, 254, 120-130. doi:10.1016/j.vetpar.2018.03.011
- Latrofa, M. S., Lia, R. P., Giannelli, A., Colella, V., Santoro, M., D'Alessio, N., . . . Otranto, D. (2015). *Crenosoma vulpis* in wild and domestic carnivores from Italy: a morphological and molecular study. *Parasitology Research*, 114(10), 3611-3617. doi:10.1007/s00436-015-4583-z

- Magnaval, J.-F., Glickman, L. T., Dorchies, P., y Morassin, B. (2001). Highlights of human toxocariasis. *The Korean Journal of Parasitology*, 39(1), 1-11. doi:10.3347/kjp.2001.39.1.1
- Márquez-Navarro, A., García-Bracamontes, G., Álvarez-Fernández, B. E., Ávila-Caballero, L. P., Santos-Aranda, I., Díaz-Chiguer, D. L., ... Noguera-Torres, B. (2012). *Trichuris vulpis* (Froelich, 1789) Infection in a Child: A Case Report. *The Korean Journal of Parasitology*, 50(1), 69–71. doi:10.3347/kjp.2012.50.1.69
- Martin, M. W. S., y Neal, C. (1992). Distribution of angiostrongylosis in cornwall. *Journal of Small Animal Practice*, 33(7), 327-330. doi:10.1111/j.1748-5827.1992.tb01158.x
- Martin, M. W. S., Ashton, G., Simpson, V. R., y Neal, C. (1993). Angiostrongylosis in Cornwall: clinical presentations of eight cases. *Journal of Small Animal Practice*, 34(1), 20-25. doi: 10.1111/j.1748-5827.1993.tb02570.x
- Martínez-Carrasco, C., Berriatua, E., Garijo, M., Martínez, J., Alonso, F. D., y Ruiz de Ybáñez, R. (2007). Epidemiological Study of Non-systemic Parasitism in Dogs in Southeast Mediterranean Spain Assessed by Coprological and Post-mortem Examination. *Zoonoses and Public Health*, 54(5), 195–203. doi:10.1111/j.1863-2378.2007.01047.x
- Martínez-Moreno, F. J., Hernández, S., López-Cobos, E., Becerra, C., Acosta, I., y Martínez-Moreno, A. (2007). Estimation of canine intestinal parasites in Córdoba (Spain) and their risk to public health. *Veterinary Parasitology*, 143(1), 7–13. doi:10.1016/j.vetpar.2006.08.004
- Matos, B., Colella, V., Alho, A. M., Otranto, D., Doyle, R., y Madeira de Carvalho, L. (2016). *Crenosoma vulpis* infection in a four-month old puppy. *Helminthologia*, 53(3), 276-280. doi:10.1515/helmin-2016-0027
- McGarry, J. W., y Morgan, E. R. (2009). Identification of first-stage larvae of metastrongyles from dogs. *Veterinary Record*, 165(9), 258-261. doi:10.1136/vr.165.9.258
- McManus, D. P., y Bowles, J. (1996). Molecular genetic approaches to parasite identification: their value in diagnostic parasitology and systematics. *International Journal for Parasitology*, 26(7), 687-704. doi: 10.1016/0020-7519(96)82612-9
- Miró, G., Mateo, M., Montoya, A., Vela, E., y Calonge, R. (2007). Survey of intestinal parasites in stray dogs in the Madrid area and comparison of the efficacy of three anthelmintics in naturally infected dogs. *Parasitology Research*, 100(2), 317–320. doi:10.1007/s00436-006-0258-0
- Moeremans, I., Binst, D., Claerebout, E., Maele, I., y Daminet, S. (2011). Canine *Angiostrongylus vasorum*. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift*, 80(5), 319-326. Recuperado de <http://hdl.handle.net/1854/LU-1982811>

- Morgan, E. R., Shaw, S. E., Brennan, S. F., De Waal, T. D., Jones, B. R., y Mulcahy, G. (2005). *Angiostrongylus vasorum*: A real heartbreaker. *Trends in Parasitology*, 21(2), 49-51. doi:10.1016/j.pt.2004.11.006
- Morgan, E. R., Tomlinson, A., Hunter, S., Nichols, T., Roberts, E., Fox, M. T., y Taylor, M. A. (2008). *Angiostrongylus vasorum* and *Eucoleus aerophilus* in foxes (*Vulpes vulpes*) in Great Britain. *Veterinary parasitology*, 154(1-2), 48-57. doi: 10.1016/j.vetpar.2008.02.030
- Morgan, E. R., Jefferies, R., Krajewski, M., Ward, P., y Shaw, S. E. (2009). Canine pulmonary angiostrongylosis: the influence of climate on parasite distribution. *Parasitology international*, 58(4), 406-410. doi: 10.1016/j.parint.2009.08.003
- Morgan, E. R., Clare, E. L., Jefferies, R., Stevens, J. R. y Randolph, S. E. (2012). Parasite epidemiology in a changing world: Can molecular phylogeography help us tell the wood from the trees? *Parasitology*, 139(14), 1924-1938. doi:10.1017/S0031182012001060
- Mortier, J. R., Fina, C. J., Edery, E., White, C. L., y Dhumeaux, M. P. (2018). Computed tomographic findings in three dogs naturally infected with *Crenosoma vulpis*. *Veterinary Radiology & Ultrasound*, 59(1), 27-31. doi:10.1111/vru.12541
- Nicolle, A. P., Chetboul, V., Tessier-Vetzel, D., Sampedrano, C. C., Aletti, E., y Pouchelon, J. L. (2006). Severe pulmonary arterial hypertension due to *Angiostrongylus vasorum* in a dog. *The Canadian Veterinary Journal*, 47(8), 792-795.
- Ortuño, A., Scorza, V., Castellà, J., y Lappin, M. (2014). Prevalence of intestinal parasites in shelter and hunting dogs in Catalonia, Northeastern Spain. *The Veterinary Journal*, 199(3), 465-467. doi:10.1016/j.tvjl.2013.11.022
- Pallant, L., Barutzki, D., Schaper, R., y Thompson, R. A. (2015). The epidemiology of infections with *Giardia* species and genotypes in well cared for dogs and cats in Germany. *Parasites & vectors*, 8(1), 2-16. doi: 10.1186/s13071-014-0615-2
- Papazahariadou, M., Founta, A., Papadopoulos, E., Chliounakis, S., Antoniadou-Sotiriadou, K., y Theodorides, Y. (2007). Gastrointestinal parasites of shepherd and hunting dogs in the serres prefecture, northern Greece. *Veterinary Parasitology*, 148(2), 170-173. doi:10.1016/j.vetpar.2007.05.013
- Ramsey, I. K., Littlewood, J. D., Dunn, J. K., y Herrtage, M. E. (1996). Role of chronic disseminated intravascular coagulation in a case of canine angiostrongylosis. *Veterinary Record*, 138(15), 360-363. doi: 10.1136/vr.138.15.360
- Rinaldi, L., Calabria, G., Carbone, S., Carrella, A., y Cringoli, G. (2007). *Crenosoma vulpis* in dog: First case report in Italy and use of the FLOTAC technique for copromicroscopic diagnosis. *Parasitology Research*, 101(6), 1681-1684. doi:10.1007/s00436-007-0713-6
- Ridyard, A. (2005). Heartworm and lungworm in dogs and cats in the UK. *In Practice*, 27(3), 147-153. doi:10.1136/inpract.27.3.147

- Rosen, L., Ash, L. R. y Wallace, G. D. (1970). Life history of canine lungworm *Angiostrongylus vasorum* (Baillet). *American Journal of Veterinary Research*, 31, 131-143.
- Sasanelli, M., Paradies, P., Otranto, D., Lia, R. P., y DeCaprariis, D. (2008). Haemothorax associated with *Angiostrongylus vasorum* infection in a dog. *Journal of Small Animal Practice*, 49(8), 417-420.
- Schnyder, M., Tanner, I., Webster, P., Barutzki, D., y Deplazes, P. (2011). An ELISA for sensitive and specific detection of circulating antigen of *Angiostrongylus vasorum* in serum samples of naturally and experimentally infected dogs. *Veterinary parasitology*, 179(1-3), 152-158. doi: 10.1016/j.vetpar.2011.01.054
- Segovia, J. M., Torres, J., Miquel, J., Llana, L., y Feliu, C. (2001). Helminths in the wolf, *Canis lupus*, from north-western Spain. *Journal of Helminthology*, 75(2), 183-192. doi:10.1079/JOH200152
- Segovia, J. M., Torres, J. y Miquel, J. (2004). Helminth parasites of the red fox (*Vulpes vulpes* L., 1758) in the Iberian Peninsula: an ecological study. *Acta Parasitologica*, 49(1), 67-79.
- Shaw, D. H., Conboy, G. A., Hogan, P. M. y Horney, B. S. (1996). Eosinophilic bronchitis caused by *Crenosoma vulpis* infection in dogs. *The Canadian Veterinary Journal*, 37(6), 361-363. Recuperado de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1576414/pdf/canvetj00103-0043.pdf>
- Sréter, T., Széll, Z., Marucci, G., Pozio, E. y Varga, I. (2003). Extraintestinal nematode infections of red foxes (*Vulpes vulpes*) in Hungary. *Veterinary Parasitology*, 115(4), 329-344. doi: 10.1016/S0304-4017(03)00217-6
- Stockdale, P. H., y Smart, M. E. (1975). Treatment of crenosomiasis in dogs. *Research in veterinary science*, 18(2), 178-181.
- Taubert, A., Pantchev, N., Vrhovec, M. G., Bauer, C., y Hermosilla, C. (2009). Lungworm infections (*Angiostrongylus vasorum*, *Crenosoma vulpis*, *Aelurostrongylus abstrusus*) in dogs and cats in Germany and Denmark in 2003–2007. *Veterinary Parasitology*, 159(2), 175-180. doi:10.1016/j.vetpar.2008.10.005
- Traversa, D., y Guglielmini, C. (2008). Feline aelurostrongylosis and canine angiostrongylosis: a challenging diagnosis for two emerging verminous pneumonia infections. *Veterinary parasitology*, 157(3-4), 163-174. doi: 10.1016/j.vetpar.2008.07.020
- Traversa, D., Di Cesare, A. D., Milillo, P., Iorio, R., y Otranto, D. (2009). Infection by *Eucoleus aerophilus* in dogs and cats: Is another extra-intestinal parasitic nematode of pets emerging in Italy? *Research in Veterinary Science*, 87(2), 270-272. doi:10.1016/j.rvsc.2009.02.006

- Traversa, D., Di Cesare, A., y Conboy, G. (2010). Canine and feline cardiopulmonary parasitic nematodes in Europe: Emerging and underestimated. *Parasites & Vectors*, 3(1), 62-84. doi:10.1186/1756-3305-3-62
- Traversa, D., Di Cesare, A., Lia, R., Castagna, G., Meloni, S., Heine, J., . . . Schaper, R. (2011). New insights into morphological and biological features of *Capillaria aerophila* (Trichocephalida, Trichuridae). *Parasitology Research*, 109(S1), 97-104. doi:10.1007/s00436-011-2406-4
- Traversa, D., Di Cesare, A., Simonato, G., Cassini, R., Merola, C., Diakou, A., . . . Frangipane di Regalbono, A. F. (2017). Zoonotic intestinal parasites and vector-borne pathogens in Italian shelter and kennel dogs. *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases*, 51, 69-75. doi: 10.1016/j.cimid.2017.04.003
- Traversa, D., Morelli, S., Cassini, R., Crisi, P. E., Russi, I., Grillotti, E. y Frangipane di Regalbono, A. (2019). Occurrence of canine and feline extra-intestinal nematodes in key endemic regions of Italy. *Acta Tropica*, 193, 227-235. doi: 10.1016/j.actatropica.2019.03.009
- van Doorn, D. C. K., van de Sande, A. H., Nijse, E. R., Eysker, M., y Ploeger, H. W. (2009). Autochthonous *Angiostrongylus vasorum* infection in dogs in The Netherlands. *Veterinary Parasitology*, 162(1), 163-166. doi:10.1016/j.vetpar.2009.02.019
- Wessmann, A., Lu, D., Lamb, C. R., Smyth, B., Mantis, P., Chandler, K., ... Cappello, R. (2006). Brain and spinal cord haemorrhages associated with *Angiostrongylus vasorum* infection in four dogs. *Veterinary Record*, 158(25), 858-863. doi: 10.1136/vr.154.14.426
- Willesen, J. L., Kristensen, A. T., Jensen, A. L., Heine, J., y Koch, J. (2007). Efficacy and safety of imidacloprid/moxidectin spot-on solution and fenbendazole in the treatment of dogs naturally infected with *Angiostrongylus vasorum* (Baillet, 1866). *Veterinary parasitology*, 147(3-4), 258-264. doi: 10.1016/j.vetpar.2007.05.001

## 10. AGRADECIMIENTOS

Quisiera agradecer a los veterinarios del Centro CAAN y de la Sociedad Protectora de Animales y Plantas de Lugo por su colaboración en la recogida y envío de muestras. También a Carlos Furelos Guitián por su asistencia con la realización de las Figuras 3 y 5.