

Actualización sobre Dirofilariasis en Argentina y el contexto en America

Darío Vezzani¹
Diego F. Eiras²

¹ECOSISTEMAS, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires (UNICEN) y CONICET. Tandil, Buenos Aires.

²Laboratorio DIAP, Banfield, Buenos Aires. Departamento de Epizootiología y Salud Pública, Facultad de Ciencias Veterinaria, Universidad Nacional de La Plata. La Plata, Buenos Aires

dvezzani@gmail.com
bpleiras@gmail.com

La dirofilariasis es una zoonosis parasitaria producida por nematodos del género *Dirofilaria* transmitidos por mosquitos. Entre las 27 especies reconocidas como válidas, 12 se encuentran documentadas en América, siendo *Dirofilaria immitis* la de ma-

yor importancia y distribución geográfica, además de la única confirmada en Argentina. Este parásito, que afecta principalmente al perro y accidentalmente al hombre, ha sido detectado en todos los países de América con excepción de Chile, Uruguay y la Guyana Francesa. Sin embargo, solo se dispone información sobre sus vectores en cuatro países del continente. En Argentina, la dirofilariasis canina se encuentra presente en Salta, Formosa, Chaco, Misiones, Corrientes, Entre Ríos, Santa Fe, Santiago del Estero, Córdoba, Mendoza y Buenos Aires; además existen registros aislados en San Juan (caso humano) y La Pampa (fauna silvestre). Solo seis casos humanos (cuatro pulmonares y dos subcutáneos) y algunas infecciones en coatí, aguará guazú y gato montés fueron descritas en nuestro país. De las 43 especies de mosquitos incriminadas como vectores de *D. immitis* en América, 12 se encuentran en nuestro país y podrían considerarse potenciales vectores. Hasta el presente, solo *Aedes aegypti* y *Culex pipiens* s.l. han sido encontrados con infección natural en Argentina.

Introducción

Los nematodos, comúnmente conocidos como gusanos redondos, son un grupo de helmintos muy diverso, que incluye tanto especies acuáticas y terrestres de vida libre como parásitos de animales y plantas. Las estimaciones en el número de especies descritas varían entre 12.000 y 80.000, y se calcula que el número total de especies supera el medio millón (Chapman, 2009). A pesar de tal nivel de incertidumbre, existe consenso de que aproximadamente un tercio de las especies conocidas son parásitos de vertebrados (Anderson, 2000). Entre los nematodos parásitos, algunos transmitidos por mosquitos son de gran importancia médica y/o veterinaria. Los ejemplos mejor conocidos son los filáridos de los géneros *Wuchereria*, *Brugia* y *Dirofilaria*. En Argentina, entre los nematodos transmitidos por mosquitos solo se han registrado especies del género *Dirofilaria*, y sobre éstas se centrará el presente capítulo.

El género *Dirofilaria* pertenece al Orden Spirurida, Familia Onchocercidae, y actualmente consiste en 27 especies válidas y 15 cuestionables (Canestri Trotti et al., 1997; Dantas-Torres y Otranto, 2013). Nombres potenciales de supuestas nuevas

especies son sugeridas con cierta frecuencia, como por ejemplo "*Dirofilaria hongkongensis*" de Japón (To et al., 2012). Sin embargo, considerando el actual número de especies dudosas dentro del género, cualquier sugerencia de una nueva especie que no incluya una descripción genética y morfológica completa podría ser prematura (Dantas-Torres y Otranto, 2013). Los hospedadores definitivos son mamíferos, principalmente primates y carnívoros. Los gusanos adultos se desarrollan generalmente en el tejido subcutáneo con excepción de *Dirofilaria immitis* Leidy que se desarrolla en arterias pulmonares, aunque las localizaciones ectópicas se describen con relativa frecuencia en varias especies. Los hospedadores intermediarios que actúan como vectores de *Dirofilaria* son los mosquitos, excepto en el caso de *Dirofilaria ursi* Yamaguti, transmitida por simúlidos. El desarrollo larval de estos nematodos ocurre en los túbulos de Malpighi del insecto, existiendo también una excepción para *Dirofilaria corynoides* (von Linstow), que se desarrolla en los cuerpos grasos (Anderson, 2000). El hombre es un hospedador accidental y los primeros registros de dirofilariasis humana se

remontan 400 años atrás (Orihel y Eberhard, 1998). Al menos siete especies pueden infectar al hombre: *Dirofilaria repens* Railliet y Henry, *D. immitis*, *Dirofilaria striata* Molin, *Dirofilaria tenuis* Chandler, *D. ursi*, *Dirofilaria magnilarvata* Price, y *Dirofilaria spectans* Freitas y Lent (Canestri Trotti *et al.*, 1997; Orihel y Eberhard, 1998; Dantas-Torres y Otranto, 2013). Sin embargo, a nivel mundial *D. repens* y *D. immitis* son particularmente importantes, no solo por el potencial zoonótico de estas especies, sino también por el daño que generan en los animales de compañía (principalmente en el perro), las elevadas prevalencias y su amplia distribución (McCall *et al.*, 2008; Simón *et al.*, 2012; Genchi *et al.*, 2014).

La distribución geográfica de *D. repens* está restringida a Europa, África y Asia (Canestri Trotti *et al.*, 1997; Dantas-Torres y Otranto, 2013). Si bien existen algunos registros aislados de ejemplares

similares a *Dirofilaria repens* en Chile, Brasil y Argentina, la identificación del parásito es considerada cuestionable (Vezzani *et al.*, 2006; Dantas-Torres y Otranto, 2013). *D. repens* es la responsable de la mayoría de los casos humanos de infecciones subcutáneas y oculares en el viejo mundo (Simón *et al.*, 2009; 2012). Además, los casos pulmonares humanos en Europa, históricamente asociados a *D. immitis*, han sido recientemente reevaluados y también podrían deberse a *D. repens* (Pampiglione *et al.*, 2009). Por su parte, *D. immitis* tiene una distribución cosmopolita y se le atribuyen unos cientos de casos de dirofilariasis pulmonar humana en América (Simón *et al.*, 2009; 2012). Hasta el presente, *D. immitis* es la única especie del género que ha sido documentada fehacientemente en el hombre, en animales domésticos y salvajes, y en mosquitos en Argentina.

***Dirofilaria immitis*: generalidades**

Esta especie cosmopolita es el agente etiológico indiscutido de la dirofilariasis canina en América, y es conocida comúnmente como gusano del corazón del perro. En realidad, este es un parásito del sistema vascular, y su hallazgo en el ventrículo derecho es una consecuencia *postmortem* (Theis, 2005). Su ciclo de vida completo dura entre siete y nueve meses, lo que resulta relativamente largo en comparación con la mayoría de los nematodos parásitos. Los gusanos machos miden de 12 a 16 cm y las hembras de 18 a 27 cm; para una descripción taxonómica de la especie ver Furtado *et al.* (2010). Los adultos se alojan principalmente en las ramas de la arteria pulmonar donde pueden vivir hasta siete años. Con cargas parasitarias crecientes también pueden hallarse gusanos adultos en el atrio derecho y la vena cava caudal y más raramente en otros vasos sanguíneos. Las hembras son vivíparas y producen microfilarias (larva 1) de aproximadamente 300 micras de longitud que pueden vivir alrededor de dos años en la sangre del perro. Los mosquitos que actúan como hospedadores intermediarios, y vectores, ingieren las microfilarias circulantes junto con la sangre del perro infectado. Durante las primeras 24 hs las microfilarias se encuentran en el estómago del mosquito y son idénticas a las que se observan en la sangre del perro. Luego migran a los túbulos de Malpighi, donde primero se acortan y adquieren una forma de salchicha cercana a las 150 micras. El tiempo de desarrollo hasta larva 3 depende principalmente de la temperatura, siendo aproximadamente de 8 días a 30 °C y de un mes a 18 °C. Durante ese periodo, aumentan de tamaño hasta unas 1.100 micras. Luego penetran en la cavidad corporal y se alojan en los espacios cefálicos y en la proboscis del insecto, llegando a su forma infectante (larva 3) de

aproximadamente 1.300 micras. La infección del perro tiene lugar cuando el mosquito realiza una nueva ingesta de sangre y las larvas 3 salen por la proboscis y penetran activamente la piel a través del orificio dejado por la picadura; no son inyectadas por el mosquito como erróneamente se ha descrito en la literatura. Inmediatamente se alojan en tejido subcutáneo donde mudan a larvas 4, y luego migran a los músculos torácicos y abdominales donde, unas semanas después, vuelven a mudar a juveniles (adultos inmaduros). Finalmente, entran en el sistema circulatorio del hospedador y migran a las arterias pulmonares, donde completan su desarrollo como adultos. El periodo de prepatencia es de 120-180 días (Taylor, 1960; Theis, 2005; McCall *et al.*, 2008; Ledesma y Harrington, 2011; Simón *et al.*, 2012).

La enfermedad en el perro se clasifica de acuerdo con la gravedad de las manifestaciones clínicas, los hallazgos clínico-patológicos y las lesiones observables en la radiografía torácica del paciente infectado. Cuando el número de parásitos es bajo, la infección transcurre de modo asintomático (estadio I). Con cargas parasitarias mayores los gusanos adultos pueden obstruir las arterias pulmonares, manifestándose tos crónica, pérdida de vitalidad y peso, insuficiencia cardiaca de grado variable y ascitis (estadios II y III). El estadio IV de la enfermedad (síndrome de la vena cava o síndrome hepático agudo) resulta una verdadera emergencia veterinaria cuando una gran cantidad de gusanos adultos obstruyen la entrada de la vena cava al corazón. Para una descripción completa de los síntomas clínicos, diagnósticos y tratamientos en el perro ver Theis (2005), McCall *et al.* (2008) y Simón *et al.* (2012).

Además del perro, existe un amplio registro

de infecciones en otros animales, incluyendo gatos domésticos (*Felis catus* Linnaeus), pumas (*Puma concolor* Linnaeus), ocelotes (*Leopardus pardalis* Linnaeus), lobos (*Canis lupus* Linnaeus), zorros (*Urocyon cinereoargenteus* Schreber), coyotes (*Canis latrans* Say), leones marinos (*Zalophus californianus* Lesson), focas (*Phoca vitulina* Linnaeus), caballos (*Equus caballus* Linnaeus), coatíes (*Nasua nasua* Linnaeus), conejos (*Oryctolagus cuniculus* Linnaeus), pandas (*Ailuropoda melanoleuca* David), osos (*Ursus americanus* Pallas), y pingüinos (*Spheniscus humboldti* Meyen) (Anderson, 2000; Sano et al., 2005; McCall et al., 2008). En general, los felinos no tienen microfilarias circulantes y no se los considera reservorio. Por el contrario, los cánidos salvajes suelen ser microfilarémicos y pueden desempeñar un rol importante como especies centinelas y participar en los ciclos de transmisión. En el hombre, la dirofilariasis por *D. immitis* es relativamente frecuente en América y rara en Europa, por lo cual se ha especulado que existen variedades de la especie con diferente virulencia o capacidad infectiva (Pampiglione et al., 2009; Dantas-Torres y Otranto, 2013). La mayor parte de las infecciones son asintomáticas y la forma más frecuente es la dirofilariasis pulmonar. La lesión con forma de moneda (que suele confundirse con un tumor maligno), se descubre al practicarse un examen radiológico por otros motivos. En los casos sintomáticos se observa tos, algunos síntomas de neumonitis y otros signos inespecíficos como mialgias (Orihel y Eberhard, 1998; McCall et al., 2008; Simón et al., 2012; Genchi et al., 2014). Para una descripción completa de los casos humanos registrados en Estados Unidos ver Theis (2005). Además de la localización pulmonar, *D. immitis* ha sido encontrado en tejido craneal, hepático, intraocular y mesentérico, y arterias testiculares (Simón et al., 2012).

Alrededor de 70 especies de mosquitos de los géneros *Aedes*, *Culex*, *Culiseta* Felt, *Anopheles*, *Mansonia*, *Coquillettidia* y *Psorophora* son suscepti-

bles a *D. immitis* y capaces de sostener su desarrollo hasta larva 3 infectante (Ludlam et al., 1970; Simón et al., 2012). Además, algunas especies de otros géneros han sido encontradas portando únicamente larvas 1 o 2 del parásito; por ej. *Wyeomyia* (Labarthe et al., 1998). Las especies incriminadas como potenciales vectores son diferentes en distintas regiones del mundo, e incluso la susceptibilidad difiere entre poblaciones de la misma especie. Muchas especies solo fueron infectadas experimentalmente (ej. *Aedes albifasciatus*) y, entre las que se hallaron naturalmente infectadas, solo en algunos casos se halló la forma infectante en la proboscis del insecto. Más aún, estos casos tampoco demuestran que el parásito pueda completar el ciclo de transmisión en una futura picadura del mosquito. Uno de los principales motivos por el que existen escasos registros de vectores en condiciones naturales, es el bajo porcentaje de mosquitos hallados infectados (Tabla 1). Los estudios de campo en distintas regiones sugieren que los valores de infección en el vector son inferiores al 5 %, con muy pocas excepciones. Un problema adicional que ha dificultado las investigaciones de los potenciales vectores ha sido la identificación de las larvas de *D. immitis* recuperadas a partir de mosquitos colectados a campo. En muchos casos, estas identificaciones tienen un carácter presuntivo (ej. Vezzani et al., 2006) y el desarrollo de técnicas moleculares específicas para larvas de filáridos ha permitido elevar el grado de certeza de muchas especies incriminadas como potenciales vectores (McCall et al., 2008). Además de la capacidad para desarrollar el parásito hasta el estadio infectante, otros factores ecológicos deben ser considerados para incriminar a una especie de mosquito en la transmisión, como ser su hábitat (ej. urbano, rural, silvestre), abundancia estacional, tamaño poblacional, longevidad, rango de vuelo, actividad circadiana y preferencia alimentaria (Ludlam et al., 1970; Ledesma y Harrington, 2011; Dantas-Torres y Otranto, 2013).

Tabla 1. Prevalencia de *Dirofilaria immitis* en distintas especies de mosquitos encontradas con infección natural en estudios de campo.

	% de mosquitos infectados	País	Referencia
<i>Aedes aegypti</i>	2,2*	Argentina	Vezzani et al. (2011b)
	0,2	Argentina	Vezzani et al. (2006)
<i>Aedes albopictus</i>	1,3	Taiwan	Wu et al. (1997)
	3,7	Taiwan	Lai et al. (2001)
	2,1*	EEUU	Licitra et al. (2010)
	1,6*	EEUU	Paras et al. (2014)
<i>Aedes polynesiensis</i> Marks	1,1 y 1,8*	Polinesia	Chambers et al. (2009)
<i>Aedes vexans</i> Meigen	0,4*	Turquía	Yildirim et al. (2011)
	2,2*	EEUU	Huang et al. (2013)
	1,9*	EEUU	McKay et al. (2013)
<i>Aedes melanimon</i> Dyar	4,6*	EEUU	Huang et al. (2013)
<i>Aedes scapularis</i>	1,8	Brasil	Labarthe et al. (1998)
<i>Aedes taeniorhynchus</i> Wiedemann	3	Brasil	Labarthe et al. (1998)

	% de mosquitos infectados	País	Referencia
	6,2	Mexico	Manrique-Saide <i>et al.</i> (2010)
<i>Anopheles crucians</i> Wiedemann	1,3*	EEUU	Licitra <i>et al.</i> (2010)
<i>Anopheles maculipennis</i> Meigen	10,5*	Italia	Cancrini <i>et al.</i> (2006)
<i>Anopheles punctipennis</i> Say	0,8*	EEUU	Licitra <i>et al.</i> (2010)
<i>Anopheles quadrimaculatus</i> Say	1,4*	EEUU	McKay <i>et al.</i> (2013)
<i>Culex pipiens</i>	0,3*	Italia	Cancrini <i>et al.</i> (2006)
	0,1*	Turquía	Yildirim <i>et al.</i> (2011)
	3,7	EEUU	Huang <i>et al.</i> (2013)
<i>Culex quinquefasciatus</i>	0,9	Brasil	Labarthe <i>et al.</i> (1998)
	4,3	Taiwan	Lai <i>et al.</i> (2001)
	4,3	Taiwan	Wu <i>et al.</i> (1997)
	2,1	EEUU	McKay <i>et al.</i> (2013)
<i>Culex pipiens</i> (complejo)	0,3	Argentina	Vezzani <i>et al.</i> (2006)
	0,7*	Argentina	Vezzani <i>et al.</i> (2011b)
<i>Culex declarator</i>	0,3	Brasil	Labarthe <i>et al.</i> (1998)
<i>Culex saltanensis</i>	5,9	Brasil	Labarthe <i>et al.</i> (1998)
<i>Culex tarsalis</i> Coquillett	1,9*	EEUU	Huang <i>et al.</i> (2013)
<i>Culiseta incidens</i> Thomson	2,8*	EEUU	Huang <i>et al.</i> (2013)
<i>Culiseta inornata</i> Williston	2,6*	EEUU	Huang <i>et al.</i> (2013)
<i>Psorophora columbiae</i> Dyar y Knab	1,7*	EEUU	Paras <i>et al.</i> (2014)
<i>Wyeomyia bourrouli</i> Lutz	2,3	Brasil	Labarthe <i>et al.</i> (1998)

* Prevalencia mínima asumiendo un solo individuo positivo por pool testeado mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR del inglés *polymerase chain reaction*).

El contexto en América

Dirofilaria immitis es el responsable indiscutido tanto de la dirofilariasis canina como de la dirofilariasis pulmonar humana en América, y la gran mayoría de los registros en animales domésticos, silvestres y humanos corresponden a esta especie. Sin embargo, al menos otras 11 especies del género están bien documentadas en fauna silvestre del continente: *Dirofilaria freitasi* Machado de Mendonca, *Dirofilaria lutrae* Orihel y Beaver, *Dirofilaria cancrivori* Eberhard, *Dirofilaria acutuscula* Molin, *Dirofilaria macrodemos* Eberhard, *Dirofilaria panamensis* Eberhard, *Dirofilaria subdermata* Monnig, *D. tenius*, *D. ursi*, *D. striata* y *D. spectans* (Canestri Trotti *et al.*, 1997; Vicente *et al.*, 1997). Las últimas cuatro han sido encontradas además infectando al hombre: infección subcutánea por *D. tenius* y *D. ursi*, ocular por *D. striata*, y en arterias de la mano por *D. spectans* (Orihel y Eberhard, 1998; Dantas-Torres y Otranto, 2013). Sobre ninguno de estos parásitos existe información acerca de las especies de mosquito que actúan como vectores (*D. ursi* es transmitido por simúlidos), y probablemente el número de especies de *Dirofilaria* potencialmente zoonóticas está subestimado en el continente. Además de estas especies de reconocida validez, un estudio reciente de López *et al.* (2012) sugiere la presencia de una potencial nueva especie en caninos de Chile, a la cual describen morfológica y molecularmente cercana a *D. repens*.

La dirofilariasis pulmonar humana por *D. immitis* está documentada solo en seis países del continente. La mayoría de los casos (110) corresponden al sudeste de Estados Unidos donde las prevalencias caninas son muy elevadas (Theis, 2005). En Brasil, principalmente en Río de Janeiro, San Pablo y Florianópolis, existen otros 50 registros, y apenas unos pocos casos aislados están documentados en Costa Rica, Venezuela, Colombia y Argentina (Vezzani *et al.*, 2006; Simón *et al.*, 2012; Dantas-Torres y Otranto, 2013; Rojas *et al.*, 2015). Considerando que la dirofilariasis canina está distribuida en casi todos los países del continente y el carácter benigno de la infección en el hombre, es muy probable que el número de casos humanos y de países con registros esté ampliamente subestimado. Más aún, existen confirmaciones por técnicas moleculares de localizaciones extrapulmonares de *D. immitis* en el hombre, como ser ejemplares inmaduros en hígado y arteria testicular (McCall *et al.*, 2008). Estos casos probablemente son aún más difíciles de atribuir a *D. immitis* y pasan desapercibidos en regiones donde la enfermedad es desconocida hasta el momento.

Respecto a la dirofilariasis canina, la información existente hasta el 2006 en Sudamérica fue compilada en Labarthe y Guerrero (2005) y Vezzani *et al.* (2006). Básicamente, la infección en el perro está ampliamente distribuida y bien documentada durante las últimas décadas en Brasil, Argentina, Perú y

Colombia. Además, algunos registros históricos sugieren su presencia en Venezuela, Surinam, Guayana y Paraguay. Más recientemente, la dirofilariasis canina por *D. immitis* fue confirmada en Venezuela (Guilarte *et al.*, 2011), Bolivia (Bronson *et al.*, 2008) y Ecuador, tanto en el archipiélago de Galápagos como en territorio continental (Levy *et al.*, 2008; Olaya Martínez, 2015). Actualmente, Guyana Francesa, Uruguay y Chile siguen sin reportar la presencia de *D. immitis*. En Chile se han realizado varios estudios pero los resultados han sido negativos (Vezzani *et al.*, 2006; López *et al.*, 2012). Por su parte, Uruguay tiene las condiciones adecuadas para la presencia de *D. immitis*, principalmente temperatura, presencia de vectores potenciales y proximidad a regiones endémicas en países vecinos (Cuervo *et al.*, 2013a); sin embargo, tampoco hubo registros hasta el momento, ya sea por ausencia del parásito o de su búsqueda. Hacia el norte del continente, existen reportes prácticamente en todos los países del Caribe y América Central (Kozek *et al.*, 1995; Rojas *et al.*, 2015), México (Labarthe y Guerrero, 2005), Estados Unidos (Wang *et al.*, 2014) y Canadá (Klotins *et al.*, 2000). Al igual que lo descrito en distintas regiones de Europa, la prevalencia canina en América es extremadamente variable a nivel local. Por ejemplo, un estudio de gran magnitud realizado recientemente en Brasil describe rangos de prevalencia canina tan amplios y diversos entre localidades de una misma región como 2,1-31,8% en el sur, 2,8-62,2% en el sudeste, y 20-49,5% en el noreste (Labarthe *et al.*, 2014). De modo similar, los relevamientos realizados por el Consejo para los Parásitos de los Animales de Compañía (*Companion Animal Parasite Council* en inglés) muestran un mapa de Estados Unidos totalmente fragmentado en rangos de prevalencias tan disímiles como 0,3-0,4% y 5-100% (Wang *et al.*, 2014). Este escenario se repite en cada región donde existen suficientes datos para ser analizados espacialmente, sugiriendo que la prevalencia canina está fuertemente influenciada por diversos factores locales. Por ejemplo, en Estados Unidos, según Wang *et al.* (2014) los factores claves identificados son el ingreso medio de los pobladores, la temperatura anual, la elevación, la presencia de 3 especies de mosquitos vectores, y la interacción entre dichos factores.

Respecto de las especies de mosquitos incriminadas como vectores de *D. immitis*, la información en el continente es muy escasa en comparación con la existente para las poblaciones caninas infectadas. Solo hay datos publicados para Estados Unidos, Mé-

xico, Brasil y Argentina. Sin duda alguna, es en el primero de estos países donde se han desarrollado la mayor cantidad de investigaciones. Una extensa revisión de 28 estudios compilados por Ledesma y Harrington (2011) indica que al menos 24 especies de mosquitos han sido encontradas naturalmente infectadas con larvas 3 infectivas en el territorio estadounidense. Basándose en las abundancias poblacionales de los mosquitos en los estados con mayor prevalencia de dirofilariasis canina, estos autores sugieren como mejores vectores potenciales a *Aedes albopictus*, *Aedes canadensis* Theobald, *Aedes trivittatus* Coquillett, *Aedes vexans*, *Anopheles crucians*, *Anopheles punctipennis*, *Anopheles quadrimaculatus* y *Culex quinquefasciatus*. Posteriormente, otros autores detectaron en distintas regiones entre 7 y 15 especies naturalmente infectadas, señalando como mejores candidatos a *Culex pipiens* y *Culex tarsalis* en el oeste (Huang *et al.*, 2013), y a *Ae. vexans*, *An. quadrimaculatus*, *Ae. albopictus* y *Psorophora columbia* en el centro del país (McKay *et al.*, 2013; Paras *et al.*, 2014). En México, nueve especies fueron encontradas naturalmente infectadas con el parásito; *Aedes taeniorhynchus* Wiedemann, *An. crucians*, *Cx. quinquefasciatus*, *Aedes sollicitans* Walker, *Anopheles albimanus*, *Anopheles pseudopunctipennis*, *Culex coronator*, *Aedes aegypti*, y *Aedes scapularis* (Manrique-Saide *et al.*, 2008; 2010). Sin embargo, solo en las dos primeras se detectaron larvas infectantes en cabeza y de éstas, *Ae. taeniorhynchus* fue incriminado como el vector principal dada las elevadas tasas de infección observadas. La información disponible para Brasil fue compilada por Vezzani *et al.* (2006) y, hasta nuestro conocimiento, posteriormente solo se realizaron dos nuevas investigaciones (De Carvalho *et al.*, 2008; Ogawa *et al.*, 2013). Básicamente, en Brasil ocho especies fueron señaladas como potenciales vectores en distinto grado. De estas, *Ae. taeniorhynchus*, *Ae. scapularis*, y *Cx. quinquefasciatus* fueron encontradas naturalmente infectados con larvas 3; *Aedes fluviatilis*, *Ae. scapularis*, *Cx. quinquefasciatus*, y *Ae. aegypti* fueron infectados experimentalmente; mientras que *Culex declarator*, *Culex saltanensis*, y *Wyeomyia bourrouli* solo fueron hallados con larvas no infectivas. En resumen, a lo largo del continente americano existe un gran número de especies de distintos géneros que han sido incriminados como vectores, y la información disponible sugiere que el vector principal suele ser distinto a nivel local.

Situación en Argentina

El estado del conocimiento hasta 2006 sobre *D. immitis* en perros, fauna silvestre, humanos y mosquitos en Argentina fue compilada por Vezzani *et al.* (2006). Las publicaciones posteriores corresponden a Vezzani y Carbajo (2006), Notarnicola y Navone (2007), Rosa *et al.* (2008; 2010), Vezzani *et al.* (2011a; 2011b), Uhart *et al.* (2012), Cuervo *et al.* (2013a; 2013b; 2014; 2015) y Orozco *et al.* (2014).

El primer registro formal de *D. immitis* en el país corresponde a Mazza y Romaña en el norte de Santa Fe en 1931. A pesar que dicha identificación de la especie fue la única hasta 1983, varios autores describieron entre 1926 y 1950 microfilarias no identificadas (o identificadas erróneamente como *D. repens*) en perros de Salta, Jujuy, Tucumán y Buenos Aires. Algunas de estas descripciones fueron luego desestimadas y probablemente hayan sido ejemplares de *Acanthocheilonema reconditum* Grassi (transmitido por pulgas) o algún otro filárido silvestre desconocido. A partir de 1983, varios estudios estimaron las prevalencias de *D. immitis* en perros de Santa Fe, Corrientes, Buenos Aires, Formosa, Chaco, Misiones y Entre Ríos. Al igual que lo observado en otros países, los rangos de prevalencias difieren mucho entre provincias e incluso entre localidades de la misma provincia, siendo 8 % la estimación más plausible a nivel nacional, y 74 % el mayor valor observado para un ambiente rural en Formosa (Vezzani *et al.*, 2006).

Durante la última década, nuevos estudios han aportado información muy valiosa que permite ampliar la distribución geográfica del parásito hacia el noroeste, centro, y centro-oeste del país. El primero corresponde a Salta, donde se encontraron ocho perros positivos a *D. immitis* entre los 104 estudiados (Rosa *et al.*, 2008); solo existía en la provincia un registro aislado del parásito infectando a un coatí en 1926. El segundo estudio reporta un 2 % de prevalencia en Córdoba pero no informan el número de animales involucrados ni los detalles metodológicos (Rosa *et al.*, 2010). También próximo al centro del país, fue detectado un 58 % ($n = 107$) de prevalencia por serología en perros domésticos de ambientes rurales del sudeste de la provincia de Santiago del Estero (Orozco *et al.*, 2014). Cuervo *et al.* (2013b) confirmó mediante técnicas morfológicas y moleculares la presencia de *D. immitis* en las provincias de San Juan (caso humano sin historia de viaje) y Mendoza (caso canino), y en esta última detectó posteriormente una bajísima prevalencia canina ($3/850 = 0,3\%$). Sin embargo, en una localidad rural del norte de la provincia de Mendoza los mismos investigadores registraron mediante la técnica de Knott modificada una de las mayores prevalencias en el país

($33/64 = 51,6\%$; Cuervo *et al.*, 2014). Estos últimos estudios son de gran importancia ya que amplían considerablemente la distribución geográfica hacia el límite oeste del territorio, en una región árida. Los registros más al sur que existen de *D. immitis* en perros corresponden a los alrededores de La Plata y probablemente sea este el límite sur de distribución del parásito. Sin embargo, existe un registro aislado más al sur que corresponde a una infección en gato montés, *Leopardus geoffroyi* d'Orbigny y Gervais, en la provincia de La Pampa (Uhart *et al.*, 2012). Actualmente, la dirofilariasis canina se extiende en 11 provincias: Salta, Formosa, Chaco, Misiones, Corrientes, Entre Ríos, Santa Fe, Santiago del Estero, Córdoba, Mendoza y Buenos Aires. La presencia de *D. immitis* en San Juan y La Pampa debería ser confirmada mediante su búsqueda en perros. Además, dado el escenario de distribución conocido y los mapas teóricos elaborados (Vezzani y Carbajo, 2006; Cuervo *et al.*, 2013a; 2015), es muy probable que también este presente en Jujuy, Tucumán, Catamarca, La Rioja y San Luis.

Respecto de los factores claves que determinarían la prevalencia canina, el conjunto de valores registrados en el país parecería sugerir que las poblaciones caninas rurales son las que presentan mayor riesgo; los estudios en comunidades rurales de Mendoza, Formosa y Santiago del Estero registraron valores superiores al 50 %. A una escala de mayor detalle, un estudio que incluyó más de 19.000 muestras de sangre canina del Gran Buenos Aires sugirió que dentro del ambiente urbano, los niveles intermedios de urbanización son los que presentan la mayor prevalencia en el límite sur de distribución del parásito (Vezzani *et al.*, 2011a). En el mismo estudio, se observó que la prevalencia anual en la región sufrió una disminución del 3,90 % en 2001 a 1,17 % en 2006, y se analizaron algunos factores de riesgo asociados a la infección. Al igual que lo reportado en distintos países, la prevalencia canina mostró una gran heterogeneidad espacial, siendo positivas 32 localidades de las 65 evaluadas con valores de 0,2 % a 6,7 %.

Solo seis casos de dirofilariasis humana son conocidos en Argentina. Los cuatro casos pulmonares fueron atribuidos a *D. immitis* por técnicas histológicas y corresponden a las provincias de Buenos Aires y Corrientes. El quinto caso es de nódulos subcutáneos en tórax y cabeza, también en la provincia de Buenos Aires, pero la especie no fue identificada (Vezzani *et al.*, 2006). Finalmente, el caso más reciente, reportado por Cuervo *et al.* (2013b) en una zona rural de San Juan corresponde a tejido subcutáneo de la órbita ocular y fue confirmado por técni-

cas moleculares como *D. immitis*.

Al igual que con los casos humanos, la detección de *D. immitis* en fauna silvestre de nuestro país sigue siendo muy escasa y esporádica. A los siete ejemplares de coatí (*Nasua solitaria* Linnaeus) infectados en Salta y Formosa (Vezzani *et al.*, 2006) se suma el registro de un ejemplar de gato montés (*Leopardus geoffroyi*; n = 35) en Lihue Calel, La Pampa (Uhart *et al.*, 2012), y dos ejemplares de aguará guazú (*Chrysocyon brachyurus* Illiger; n = 3) en Santiago del Estero (Orozco *et al.*, 2014).

Ninguna otra especie del género ha sido confirmada hasta ahora en Argentina y de modo general está asumido que *D. immitis* es la única especie, al menos en perros. Sin embargo, en un estudio realizado en 2011-2013 en la ciudad de Neuquén se detectaron ocho perros microfilarémicos negativos a *D. immitis* por serología y PCR. En los estudios morfométricos de las microfilarias se obtuvo una media de 370 micras de largo y 7,1 micras de ancho, valores muy lejanos a *D. immitis*. Respecto de la especie a la que pertenecen las microfilarias de estos hallazgos, en los ensayos moleculares (PCR seguida de secuenciación) no se han obtenido homologías superiores al 97 % con otros filáridos hasta el momento (datos no publicados; Vezzani D, Moré G, Eiras DF). Más estudios son necesarios para avanzar sobre la identificación de este filárido del extremo norte de nuestra patagonia.

Los aspectos relacionados con las especies de mosquitos que actúan como vectores de *D. immitis* en Argentina son sin duda los menos explorados. Durante la década del 40, en una serie de experimentos se logró infectar y sostener el desarrollo del parásito hasta larvas 3 en *Mansonia titillans*, *Ae. albifasciatus* y *Psorophora cyanescens*. Luego, en los 90' varios estudios de campo en áreas naturales de la provincia de Buenos Aires (Punta Lara)

encontraron ejemplares de *Ae. albifasciatus*, *Ae. crinifer*, *Culex dolosus* y *Psorophora ferox* con larvas pertenecientes a la familia Onchocercidae en el hemocole; *Ae. crinifer* también en túbulos de Malpighi. Este último podría pertenecer presuntamente a *D. immitis* o a alguna especie de *Dirofilaria* silvestre (Vezzani *et al.*, 2006). Otra búsqueda más reciente de mosquitos infectados en Quilmes y La Plata arrojó resultados negativos entre los 412 ejemplares de *Ae. albifasciatus*, *Cx. pipiens*, *Psorophora albigena*, *Ae. aegypti* y *Ae. crinifer* estudiados (Notarnicola y Navone, 2007). Hasta el presente, solo *Ae. aegypti* y *Cx. pipiens* s.l. han sido encontrados infectados naturalmente con *D. immitis*, pero en muy bajos porcentajes (Tabla 1) y solo con larvas no infectivas en los túbulos de Malpighi (Vezzani *et al.* 2006, 2011b). Entre ambos estudios se colectaron y examinaron 2.833 ejemplares de 20 especies de mosquitos en ambientes urbanos del Gran Buenos Aires, estando representado el 70 % de las capturas por *Ae. aegypti*, *Cx. pipiens* y *Ae. albifasciatus*. En otras palabras, las especies señaladas como vectores fueron simplemente las más abundantes a nivel local. Esto podría sugerir, como fue mencionado para otros países de América, que las especies implicadas en la transmisión difieran a lo largo y ancho de la Argentina, e incluso de la provincia de Buenos Aires si se incluyesen los ambientes rurales en futuros estudio.

De la información compilada para otros países del continente surge que, de 43 especies de mosquitos incriminadas como vectores por haberse encontrado naturalmente infectadas por *D. immitis*, hay 12 que se encuentran en Argentina y podrían considerarse *a priori* como potenciales vectores en nuestro país. Además, se sumarían a dicha lista aquellas infectadas experimentalmente en Brasil y Argentina (Tabla 2).

Tabla 2. Potenciales vectores de *Dirofilaria immitis* en Argentina en base a la información compilada para América; ver referencias en la sección "contexto en América".

	Estados Unidos	México	Brasil	Argentina
<i>Aedes aegypti</i>		L1-2	EX	L1-2
<i>Aedes albopictus</i>	L3			
<i>Aedes scapularis</i>		L1-2	L3, EX	
<i>Aedes fluviatilis</i>			EX	
<i>Aedes albifasciatus</i>				EX
<i>Aedes crinifer</i>				L1-2*
<i>Culex pipiens</i>	L3			L1-2**
<i>Culex quinquefasciatus</i>	L3	L1-2	L3, EX	L1-2**
<i>Culex saltanensis</i>			L1-2	
<i>Culex coronator</i>		L1-2		
<i>Psorophora ferox</i>	L3			
<i>Psorophora ciliata</i>	L3			
<i>Psorophora cyanescens</i>	L3			EX
<i>Anopheles pseudopunctipennis</i>		L1-2		
<i>Mansonia titillans</i>				EX

L1-2: solo se hallaron estadios no infectivos de *D. immitis*.

L3: se hallaron estadios infectivos de *D. immitis*.

EX: infección experimental.

* *Dirofilaria* sp. en túbulos de Malpighi.

** No se diferenciaron *Cx. pipiens* y *Cx. quinquefasciatus*.

Consideraciones finales y direcciones futuras

La dirofilariasis en Argentina es endémica al menos en 11 provincias y espacialmente muy heterogénea. Si bien es cierto que es uno de los pocos países del continente donde se han realizado estudios relacionados tanto con la prevalencia canina como con los casos humanos, en fauna silvestre y sobre sus vectores, también resulta evidente que dichos datos están fragmentados y presentan grandes vacíos de información en varios de sus aspectos ecoepidemiológicos. Tanto los valores de prevalencia canina como las especies de mosquitos que actúan como vectores varían localmente a través de todo el continente. En este sentido, todo estudio a nivel local aporta información valiosa para la construcción del rompecabezas que parecería ser la dirofilariasis. Sin embargo, son necesarias investigaciones de mayor amplitud y que abarquen distintas regiones climáticas así como también incluyendo ambientes urbanos, rurales y silvestres, tanto para el estudio de la infección en el perro como de los mosquitos que transmiten el parásito.

Una de las mayores dificultades que presenta la temática en toda América es la identificación de los filáridos, particularmente en humanos y mosquitos. En muchos casos humanos la identificación es presuntiva en base a la localización del parásito, pero existe suficiente evidencia acumulada sobre localizaciones ectópicas que permite cuestionar la validez de dichos registros si no se comprueban mediante metodologías más específicas. Respecto de las espe-

cies de mosquitos involucradas en la transmisión, la identificación de un filárido en los túbulos de Malpighi permite tener la certeza de que se trata de una especie del género *Dirofilaria*. Sin embargo, para identificar cualquiera de los estadios del parásito en el vector es imprescindible el uso de técnicas moleculares.

Entre las principales prioridades respecto a futuras investigaciones de la dirofilariasis en Argentina se destacan:

- confirmar la presencia del parásito en San Juan y La Pampa mediante su búsqueda en la población canina,
- evaluar su presencia en Jujuy, Tucumán, Catamarca, La Rioja y San Luis, donde presumiblemente debería estar presente,
- realizar un relevamiento de alcance nacional que permita estimar prevalencias provinciales con tamaños muestrales apropiados,
- diseñar estudios ecológicos que permitan comparar dentro de una misma región los valores de prevalencia canina y las especies vectores en ambientes urbanos, rurales y silvestres,
- determinar las especies de mosquitos involucradas en la transmisión en distintas zonas endémicas,
- buscar en fauna silvestre tanto a *D. immitis* como otras especies del género *Dirofilaria* desconocidas y establecer sus potenciales zoonóticos.

Bibliografía

1. Anderson RC. 2000. Nematode parasites of vertebrates: their development and transmission, 2º ed. CAB international.
2. Bronson E, Emmons LH, Murray S, Dubovi EJ, Deem SL. 2008. Serosurvey of pathogens in domestic dogs on the border of Noël Kempff Mercado National Park, Bolivia. *J Zoo Wildl Med.* 39: 28-36.
3. Cancrini G, Magi M, Gabrielli S, Arispici M, Tolari F, Dell'Omodarme M, Prati MC. 2006. Natural vectors of dirofilariasis in rural and urban areas of the Tuscan Region, Central Italy. *J Med Entomol.* 43: 574-579.
4. Canestri Trotti G, Pampiglione S, Rivasi F. 1997. The species of the genus *Dirofilaria* Railliet & Henry, 1911. *Parassitologia.* 39: 369-374.
5. Chambers EW, McClintock SK, Avery MF, King JD, Bradley MH, Schmaedick MA, Lammie PJ, Burkot TR. 2009. Xenomonitoring of *Wuchereria bancrofti* and *Dirofilaria immitis* infections in mosquitoes from American Samoa: trapping considerations and a comparison of polymerase chain reaction assays with dissection. *Am J Trop Med Hyg.* 80: 774-781.
6. Chapman AD. 2009. Numbers of Living Species in Australia and the World. 2º Ed. Australian Biodiversity Information Services, Toowoomba, Australia.
7. Cuervo PF, Cataldo S, Rodríguez MB, Fantozzi C, Pedrosa A, Lencinas P, Mera y Sierra R. 2014. Dirofilariasis canina en zona árida de la provincia de Mendoza, Argentina. III Congreso Panamericano de Zoonosis, La Plata, 4 al 6 de junio de 2014.
8. Cuervo PF, Fantozzi MC, Di Cataldo S, Cringoli G, Mera y Sierra R, Rinaldi L. 2013a. Analysis of climate and extrinsic incubation of *Dirofilaria immitis* in southern South America. *Geospat Health.* 8: 175-181.
9. Cuervo PF, Mera y Sierra R, Waisman V, Gerbeno L, Sidoti L, Albonico F, Mariconti M, Mortarino M, Pepe P, Cringoli G, Genchi C, Rinaldi L. 2013b. Detection of *Dirofilaria immitis* in mid-western arid Argentina. *Acta Parasitol.* 58: 612-614.
10. Cuervo PF, Rinaldi L, Cringoli G. 2015. Modeling the extrinsic incubation of *Dirofilaria immitis* in South America based on monthly and continuous climatic data. *Vet Parasitol.* 209: 70-75.
11. Dantas-Torres F, Otranto D. 2013. Dirofilariosis in the Americas: a more virulent *Dirofilaria immitis*? *Parasit Vectors.* 6: 288.
12. De Carvalho GA, Alves LC, Maia RT, Andrade CFS, Ramos RAN, Faustino RAG. 2008. Vector competence of *Culex quinquefasciatus* Say, 1823 exposed to different densities of microfilariae of *Dirofilaria immitis* (Leidy, 1856). *Rev Bras Entomol.* 52: 658-662.
13. Furtado AP, Melo FTV, Giese EG, Santos JN. 2010. Morphological redescription of *Dirofilaria immitis*. *J Parasitol.* 96: 499-504.
14. Genchi C, Bandi, C, Kramer L, Epis S. 2014. *Dirofilaria* infections in humans and other zoonotic filarioses. En: *Helminth Infections and Their Impact on Global Public Health*, (Ed. F Bruschi). Springer-Verlag Wien.
15. Guilarte DV, Gomez Martinez E, El-Hen F, Guzmán R, Blondell D, Tulio Diaz M, Santiago J. 2011. Diagnóstico de *Dirofilaria immitis* en el

- municipio Sucre, estado Sucre, Venezuela. Bol Dir Malariol San Amb. 51: 51-58.
16. Huang S, Smith DJ, Molaei G, Andreadis TG, Larsen SE, Lucchesi EF. 2013 Prevalence of *Dirofilaria immitis* (Spirurida: Onchocercidae) infection in *Aedes*, *Culex*, and *Culiseta* mosquitoes from North San Joaquin Valley, CA. J Med Entomol. 50: 1315-1323.
 17. Klotins KC, Martin SW, Bonnett BN, Peregrine AS. 2000. Canine heartworm testing in Canada: Are we being effective? Can Vet J. 41: 929-937.
 18. Kozek WJ, Vazquez AE, Gonzalez C, Iguina J, Sanchez E, de Jesus F, Cardona CJ, Gomez C, Seneriz R, Diaz-Umpierre J. 1995. Prevalence of canine filariae in Puerto Rico and the Caribbean. En: Proceedings of the Heartworm Symposium '95 (Eds. D Soll y DH Knight). American Heartworm Society, Batavia, Illinois.
 19. Labarthe N, Guerrero J. 2005. Epidemiology of heartworm: What is happening in South America and Mexico? Vet Parasitol. 133: 149-156.
 20. Labarthe N, Serrão M, Melo Y, Oliveira S, Lourenço de Oliveira R. 1998. Potential vectors of *Dirofilaria immitis* (Leidy, 1856) in Itacoatiara, oceanic region of Niterói Municipality, State of Rio de Janeiro, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz. 93: 425-432.
 21. Labarthe NV, Paiva JP, Reifur L, Mendes de Almeida F, Merlo A, Pinto CJ, Juliani PS, Almeida MA, Alves LC. 2014. Updated canine infection rates for *Dirofilaria immitis* in areas of Brazil previously identified as having a high incidence of heartworm-infected dogs. Parasit Vectors. 7: 493.
 22. Lai CH, Tung K, Ooi HK, Wang JS. 2001. Susceptibility of mosquitoes in central Taiwan to natural infections of *Dirofilaria immitis*. Med Vet Entomol. 15: 64-67.
 23. Ledesma N, Harrington L. 2011. Mosquito vectors of dog heartworm in the United States: vector status and factors influencing transmission efficiency. Top Companion Anim Med. 26: 178-185.
 24. Levy JK, Crawford PC, Lappin MR, Dubovi EJ, Levy MG, Alleman R, Tucker SJ, Clifford EL. 2008. Infectious diseases of dogs and cats on Isabela Island, Galápagos. J Vet Intern Med. 22: 60-65.
 25. Licitra B, Chambers EW, Kelly R, Burkot TR. 2010. Detection of *Dirofilaria immitis* (Nematoda: Filarioidea) by polymerase chain reaction in *Aedes albopictus*, *Anopheles punctipennis*, and *Anopheles crucians* (Diptera: Culicidae) from Georgia, USA. J Med Entomol. 47: 634-638.
 26. López J, Valiente-Echeverría F, Carrasco M, Mercado R, Abarca K. 2012. Morphological and molecular identification of canine filariae in a semi-rural district of the metropolitan region in Chile. Rev Chilena Infectol. 29: 248-289.
 27. Ludlam KW, Jachowski JrMS, Otto GF. 1970. Potential vectors of *Dirofilaria immitis*. J Am Vet Med Assoc. 157: 1354-1359.
 28. Manrique-Saide P, Bolio-González M, Sauri-Arceo C, Dzib-Florez S, Zapata-Peniche A. 2008. *Ochlerotatus taeniorhynchus*: A probable vector of *Dirofilaria immitis* in coastal areas of Yucatan, Mexico. J Med Entomol. 45: 169-171.
 29. Manrique-Saide P, Escobedo-Ortegón J, Bolio-González M, Sauri-Arceo C, Dzib-Florez S, Guillermo-May G, Ceh-Pavía E, Lenhart A. 2010. Incrimination of the mosquito, *Aedes taeniorhynchus*, as the primary vector of heartworm, *Dirofilaria immitis*, in coastal Yucatan, Mexico. Med Vet Entomol. 24: 456-460.
 30. McCall JW, Genchi C, Kramer LH, Guerrero J, Venco L. 2008. Heartworm disease in animals and humans. Adv Parasitol. 66: 193-285.
 31. McKay T, Bianco T, Rhodes L, Barnett S. 2013. Prevalence of *Dirofilaria immitis* (Nematoda: Filarioidea) in mosquitoes from Northeast Arkansas, the United States. J Med Entomol. 50: 871-878.
 32. Notarnicola J, Navone G. 2007. Dirofilariosis canina: microfilaremia en perros de la ribera del Río de la Plata, Argentina. Rev Vet. 18: 95-100.
 33. Ogawa GM, Neves da Cruz E, Cunha PNA, Camargo LMA. 2013. Canine heartworm disease in Porto Velho: first record, distribution map and occurrence of positive mosquitoes. Rev Bras Parasitol Vet. 22: 559-564.
 34. Olaya Martínez E. 2015. Diagnóstico hematológico y caracterización de patógenos transmitidos por vectores en caninos de la ciudad de Guayaquil, Ecuador. Tesis de la carrera de Especialización en diagnóstico de laboratorio veterinario, FCV, UNLP, La Plata.
 35. Orihel T, Eberhard M. 1998. Zoonotic filariasis. Clin Microb Rev. 11: 366-381.
 36. Orozco MM, Ceballos LA, Pino MC, Gürtler RE. 2014. Local threats and potential infectious hazards to maned wolves (*Chrysocyon brachyurus*) in the southeastern Argentine Chaco. Mammalia. 78: 339-349.
 37. Pampiglione S, Rivasi F, Gustinelli A. 2009. Dirofilarial human cases in the Old World, attributed to *Dirofilaria immitis*: a critical analysis. Histopathology. 54: 192-204.
 38. Paras KL, O'Brien VA, Reiskind MH. 2014. Comparison of the vector potential of different mosquito species for the transmission of heartworm, *Dirofilaria immitis*, in rural and urban areas in and surrounding Stillwater, Oklahoma, U.S.A. Med Vet Entomol. 28: 60-67.
 39. Rojas A, Rojas D, Montenegro VM, Baneth G. 2015. Detection of *Dirofilaria immitis* and other arthropod-borne filarioids by an HRM real-time qPCR, blood-concentrating techniques and a serological assay in dogs from Costa Rica. Parasit Vectors. 8: 170.
 40. Rosa A, Ribicich M, Cardillo N, Betti A, Hallú R. 2008. Dirofilariosis canina en la ciudad de Salta y sus alrededores, Argentina. Estudio preliminar. Rev Med Vet (B Aires). 89: 99-103.
 41. Rosa A, Ribicich M, Cardillo N, Betti A. 2010. Dirofilariosis canina. Diagnóstico, prevalencia y tratamiento. En: Jornadas de la Asociación Argentina de Parasitología Veterinaria; Buenos Aires, 18 al 20 de mayo de 2010.
 42. Sano Y, Aoki M, Takahashi H, Miura M, Komatsu M, Abe Y, Kakino J, Itagaki T. 2005. The first record of *Dirofilaria immitis* infection in a Humboldt Penguin, *Spheniscus humboldti*. J Parasitol. 91: 1235-1237.
 43. Simón F, Morchón R, Gonzalez-Miguel J, Marcos-Atxutegi C, Siles-Lucas M. 2009. What is new about animal and human dirofilariosis? Trends Parasitol. 25: 404-409.
 44. Simón F, Siles-Lucas M, Morchón R, González-Miguel J, Mellado I, Carretón E, Montoya-Alonso JA. 2012. Human and animal dirofilariosis: the emergence of a zoonotic mosaic. Clin Microbiol Rev. 25: 507-543.
 45. Taylor E. 1960. The development of *Dirofilaria immitis* in the mosquito *Aedes aegypti*. J Helminthol. 34: 27-38.
 46. Theis J. 2005. Public health aspects of dirofilariosis in the United States. Vet Parasitol. 133: 157-180.
 47. To KK, Wong SS, Poon RW, Trendell-Smith NJ, Ngan AH, Lam JW, Tang TH, AhChong AK, Kan JC, Chan KH, Yuen KY. 2012. A novel *Dirofilaria* species causing human and canine infections in Hong Kong. J Clin Microbiol. 50: 3534-3541.
 48. Uhart MM, Rago MV, Marull CA, Ferreyra HV, Pereira JA. 2012. Exposure to selected pathogens in Geoffroy's cats and domestic carnivores from central Argentina. J Wildl Dis. 48: 899-909.
 49. Vezzani D, Carbajo AE, Fontanarrosa MF, Scodellaro CF, Basabe J, Cangiano G, Eiras DF. 2011a. Epidemiology of canine heartworm in its southern distribution limit in South America: Risk factors, inter-annual trend and spatial patterns. Vet Parasitol. 176: 240-249.
 50. Vezzani D, Carbajo AE. 2006. Spatial and temporal transmission risk of *Dirofilaria immitis* in Argentina. Int J Parasitol. 26: 1463-1472.
 51. Vezzani D, Eiras DF, Wisnivesky C. 2006. Dirofilariosis in Argentina: Historical review and first report of *Dirofilaria immitis* in a natural mosquito population. Vet Parasitol. 136: 259-273.
 52. Vezzani D, Mesplet M, Eiras DF, Fontanarrosa MF, Schnittger L. 2011b. PCR detection of *Dirofilaria immitis* in *Aedes aegypti* and *Culex pipiens* from urban temperate Argentina. Parasitol Res. 108: 985-989.
 53. Vicente JJ, Rodrigues HO, Gomes DC, Pinto RM. 1997. Nematóides do Brasil. Parte V: nematóides de mamíferos. Rev Bras Zool. 14: 1-452.
 54. Wang D, Bowman DD, Brown HE, Harrington LC, Kaufman PE, McKay T, Nelson CT, Sharp JL, Lund R. 2014. Factors influencing U.S. canine heartworm (*Dirofilaria immitis*) prevalence. Parasit Vectors. 7: 264.
 55. Wu CC, Chen CC, Fan PC. 1997. Natural infection of mosquitoes with *Dirofilaria immitis* in northern Taiwan. J Chinese Soc Vet Sci. 23: 12-20.
 56. Yildirim A, Inci A, Duzlu O, Biskin Z, Ica A, Sahin I. 2011. *Aedes vexans* and *Culex pipiens* as the potential vectors of *Dirofilaria immitis* in Central Turkey. Vet Parasitol. 178: 143-147.