# UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA "ANTONIO NARRO" UNIDAD LAGUNA

División Regional de Ciencia Animal



"IDENTIFICACIÓN DEL PARASITO Dirofilaria immitis EN MUESTRAS DE SANGRE, POR MEDIO DE LA TECNICA DE KNOTT EN PERROS EN EL MUNICIPIO DE TORREÓN EN EL AÑO DE 1996"

POR:

**REY ROJO ROSALES** 

TESIS

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TITULO DE:

# MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO NOVIEMBRE DE 1997

# UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA "ANTONIO NARRO"

UNIDAD LAGUNA

# DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



IDENTIFICACIÓN DEL PARÁSITO *Dirofilaria immitis* EN MUESTRAS DE SANGRE, POR MEDIO DE LA TÉCNICA DE KNOTT EN PERROS EN EL MUNICIPIO DE TORREÓN, COAHUILA EN EL AÑO DE 1996.

# TESIS

QUE COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

# MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Presenta:

**REY ROJO ROSALES** 

Asesor principal: M.V.Z. MARÍA HORTENSIA CEPEDA ELIZALDE

Asesor colaborador: M.V.Z. ERNESTO MARTÍNEZ ARANDA

# UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA "ANTONIO NARRO"

Unidad Laguna

# DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

IDENTIFICACIÓN DEL PARÁSITO *Dirofilaria immitis* EN MUESTRAS DE SANGRE, POR MEDIO DE LA TÉCNICA DE KNOTT EN PERROS EN EL MUNICIPIO DE TORREÓN, COAHUILA EN EL AÑO DE 1996.

APROBADO POR EL COMITE DE TESIS

PRESIDENTE DEL JURADO

M.V.Z. MARÍA HORTENSIA CEPEDA ELIZALDE

COORDINADOR DE LA DIVISIÓN REGIONAL

DE CIENCIA ANIMAL

M.V.Z.\J\JAN JOSÉ MUÑÓZ VARELA.

# UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA "ANTONIO NARRO"

Unidad Laguna

# DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

IDENTIFICACIÓN DEL PARÁSITO *Dirofilaria immitis* EN MUESTRAS DE SANGRE, POR MEDIO DE LA TÉCNICA DEL MÉTODO MODIFICADO DE KNOTT, EN PERROS EN EL MUNICIPIO DE TORREÓN, COAHUILA EN EL AÑO DE 1996.

# APROBADO POR EL COMITÉ DE TESIS

M.V.Z. MARÍA HORTENSIA CEPEDA ELIZALDE.

PRESIDENTE

M.V.Z. FRANCISCO JAVIER CARRILLO MORALES

VOCAL

VOCAL

VOCAL

VOCAL SUPLENTE

HS FRANCISCO SANDOVAL ELÍAS.

#### AGRADACIMIENTO

#### A NUESTRO PADRE DIOS

Gracias Dios mio por haberme dado la oportunidad de llegar al final de este trabajo y porque con tus bendiciones y compañia, podre seguir con paso firme y triunfar en la vida, tanto espiritual como profesional.

#### A MIS PADRES

Sr. Telésforo Rojo Vizueth.
Sra. Dorotea Rosales Fuentes.
Por haberme dado la vida y por su
apoyo, y consejos que me brindaron,
logre salir adelante, con todo mi
cariño y respeto.

#### A MIS HERMANDS

Francisco, Pompilio, Ciriaco, Patricia, Angelina, Alfredo y Marcial, por el cariño que me han brindado.

A todas aquellas personas que colaboraron para la realización de este trabajo.

A mis amigos y compañeros de generación, por la amistad que me brindaron y por ese gran compañerismo durante mi carrera universitaria, a todos gracias.

# ÍNDICE

	Pagina
LISTA DE CUADROS Y FIGURAS	iv
RESUMEN	v
INTRODUCCION	vi
ANTECEDENTES Y JUSTIFICACION	viii
OBJETIVO	viii
I REVISION DE LITERATURA	1
1.1 Definición	1
1.2 Sinonimia	1
1.3 Distribución Geográfica	2
1.4 Clasificación Taxonómica	3
1.5 Morfología	4
1.6 Diferenciación de Dirofilaria immitis de Dipetalonema recond	ditum6
1.7 Ciclo Biológico	8
1.7.1 Ciclo Exógeno	9
1.7.2 Ciclo Endógeno	10
1.8 Filariasis Zoonótica Ciclo de Transmisión	12
1.9 Patogenia	14
1.10 Lesiones	16
1.11 Signos Clínicos	18
1.12 Diagnóstico	20

1.13 Inmunidad.	21
14 Tratamiento	23
1.14.1 Quimioterapia	24
1.15 Control y Profilaxis.	26
II MATERIALES Y METODOS	28
2.1 Distribución Geográfica	28
2.2 Toma de Muestra	9
2.3 Muestreo.	9
2.4 Materiales	0
2.5 Soluciones y Reactivos	)
2.6 Método Empleado	1
2.7 Método Estadístico	3
III RESULTADOS	Į.
IV CONCLUSIÓN Y RECOMENDACIONES	)
LITERATURA CITADA	1

Página

# ÍNDICE DE CUADROS Y FIGURAS

	Página
Gráfica 1 Prevalecía de <i>Dirofilaria immitis</i> por medio de la Técnica de Método Modificado de Knott en la Ciudad de Torreón, Coah	36
Gráfica 2 Prevalecía de <i>Dirofilaria immitis</i> en perros criollos y perros raza pura por medio de la Técnica de Método Modificado de Knott	.37
Gráfica 3 Número de muestras positivas y negativas de Dirofilaria immitis diagnosticadas por medio de la Técnica de Método Modificado de Knott	.38
Gráfica 4 Porcentaje de positividad al diagnóstico de Dirofilaria immitis en diferentes horarios por medio de la Técnica de Método Modificado de Knott	.39
Figura 1 Morfología de Dirofilaria immitis	5
Figura 2 Ciclo Biológico de <i>Dirofilaria immitis</i>	1
Figura 3 Filariasis Zoonótica (dirofilariasis pulmonar) Ciclo de Transmisión	3
Cuadro 1 Características Diferenciales de microfilarias Caninas Circulantes	

#### RESUMEN

Se obtuvieron 200 muestras de sangre de perros en la Ciudad de Torreón, Coah, para la identificación del parásito Dirofilaria immitis, las que se diagnosticaron por medio de la Técnica de Método Modificado de Knott. De las cuales resultaron 8 muestras positivas a microfilarias en sangre. Los horarios de tomas de muestra fueron de las 7:00-8:00 hrs. en el que se obtuvo un 3.33% de positividad. En el horario de 8:00-9:00 hrs. se obtuvo un 1.81% de positividad. En el horario de las 15:00-16:00 hrs. se obtuvo un 0.0% de positividad. En el horario de las 18:00-19:00 hrs. se obtuvo un 7.4% de positividad y en el horario de las 19:00-20:00 hrs. se obtuvo un 10.0% de positividad.

Los perros criollos fueron los más afectados con un 4% de positividad, en relación a los perros de raza pura con un 0.0% de positividad.

# INTRODUCCIÓN

La *Dirofilaria immitis* es una enfermedad de presencia mundial (Doxey, D. L, 1987), afectando en mayor escala a países con clima tropical, pero ahora también se ha diagnosticado en regiones con clima seco (Kirk, R. W., et al. 1994).

En México se han reportado casos de Dirofilariasis en los animales domésticos (perros y gatos), lo cual puede representar un problema por estar en las zonas urbanas y presentar un riesgo para la Salud Pública. Se presentan casos en animales salvajes (coyotes, lobos, etc.)(Soulby, E. J. L, 1987), por ser también huéspedes definitivos del parásito y ser importantes reservorios.

El propósito de este trabajo de investigación es, probar la Técnica de Método Modificado de Knott para el diagnóstico de microfilarias presentes en torrente circulatorio del perro, indicando la prevalencia de dicho parásito por medio de esta prueba.

La importancia de este trabajo consiste en probar la Técnica de Método Modificado de Knott (Markell, V. J. 1990), como un auxiliar en el diagnóstico de filariasis.

# ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN

Existen antecedentes de la presencia de Dirofilaria en perros de la Comarca Lagunera, el presente estudio pretende demostrar la presencia de dicho parásito en la población canina en Torreón, Coah. por medio de la identificación hematológica del parásito, a través de la Técnica Metodo Modificado de Knott.

La justificación de este trabajo esta basada en el hecho de abordar el estudio de un tema de interés para la veterinaria y la Salud Pública. Con el diagnóstico de *Dirofilaria immitis* se pueden establecer programas de medicina preventiva, principalmente en los consultorios veterinarios.

# **OBJETIVO**

El objetivo de este trabajo es identificar el parásito *Dirofilaria immitis* en sangre de perros en la Ciudad de Torreón, Coah., por medio de la Técnica Método Modificado de Knott.

# CAPITULO I: REVISIÓN DE LITERATURA

# 1.1 DEFINICIÓN

La dirofilariasis es una infestación no contagiosa causada por la presencia y acción de *Dirofilaria immitis* en el corazón derecho y arteria pulmonar en perros y los cánidos, clínicamente se traduce en un síndrome de insuficiencia cardíaca, con manifestaciones cutáneas y nerviosas (Quiroz, R. H, 1988).

### 1.2 SINONIMIA

La dirofilariasis es conocida como enfermedad del gusano del corazón del perro (Kirk, R. W, 1994). Filariasis cardiopulmonar en perros o filariasis sanguinis (Quiroz, R. H, 1988).

# 1.3 DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA

La Dirofilaria immitis se encuentra comúnmente en países con clima tropical, pero puede estar presente en animales importados hacia países con clima templado (Doxey, D. L, 1987). La Dirofilariasis tiene una distribución cosmopolita (Kirk, R. W., et al. 1994).

En Estados Unidos de América la Dirofilariasis fué considerada durante mucho tiempo como la enfermedad de los perros a lo largo de la franja costera del Golfo de México, pero durante los últimos 20 años se ha comprobado un incremento de esa enfermedad en otras áreas (Sámano, G. R. F., et al, 1996).

El primer diagnóstico reportado en Torreón, Coah. en el cual se observó la presencia de *Dirofilaria immitis* fué en el año de 1992 y dice que desde 1988 se han estado observando gusanos en el corazón de perros sin que se le haya dado mayor importancia al problema (Cepeda, M. H., et al. 1995).

# 1.4 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

Se describe la clasificación taxonómica de la siguiente manera (Carrillo, M. F. J, 1993).

Reino:

Animal.

Phylum:

Nemathelminthes.

Clase:

Nematoda.

Orden:

Spirurida.

Superfamilia:

Filaroidea.

Familia:

Filaridae.

Género:

Dirofilaria.

Especie:

immitis.

# 1.5 MORFOLOGÍA

Los miembros del género Dirofilaria, se caracterizan por poseer una boca sin labios, papilas cefálicas poco notables, un esófago bipartido, y en el caso del macho, por poseer una cola cónica, sin punta, enrollada espiralmente (Grain., et al. 1974), además posee alas caudales, con 5 pares de papilas preanales pedunculares y 1 a 6 grandes papilas postanales. Las espículas son iguales y no tienen gubernáculos. El extremo posterior de la hembra es redondeado, la vulva esta a corta distancia del extremo posterior del esófago (Quiroz. R. H. 1988).

Los machos miden de 12 a 16 cm, y las hembras de 25 a 30 cm. son gusanos delgados y de color blanco. El esófago mide de 1.25 a 1.5 mm. posee tres o cuatro pares de pequeñas papilas cónicas próximas al extremo de la cola. La espícula izquierda mide de 0.324 a 0.375 mm, y es agujada. La derecha de 0.19 a 0.229 mm, y termina en forma roma. Las hembras son vivíparas, y las microfilarias pueden encontrarse en la sangre en cualquier momento, aunque hay una tendencia a la periodicidad, las microfilarias tienen una cola larga y delgada (Soulby, E. J. L, 1987), las microfilarias son larvas vermiformes que miden de 290 a 340 micrones (Kirk, N. R, 1985).

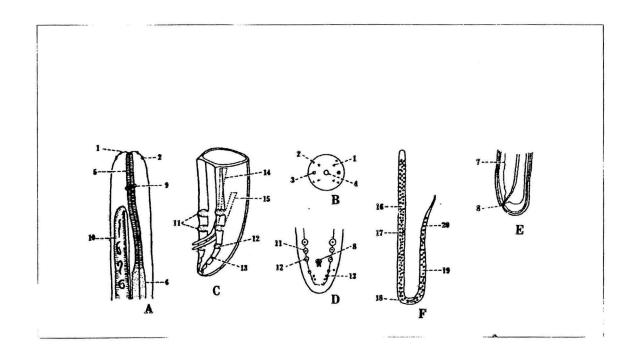


Figura ·1.- MORFOLOGÍA DE Dirofilaria immitis

A, extremo anterior de la hembra adulta; B, extremo cefálico del adulto; C, extremo caudal de la hembra; F, microfilaria sanguínea. 1, círculo interno de cefálicas; 2, círculo externo de papilas cefálicas; 3, anfide; 4,boca sin labios; 5, porción muscular del esófago; 6, porción glandular del esófago; 7, intestino; 8, ano; 9, anillo nervioso; 10, papila adanal; 13, papila postanal; 14, espícula larga; 15, espícula corta; 16, anillo nervioso de la microfilaria; 17, célula genital; 18, célula excretora; 19, poro anal; 20, célula caudal (Soulby, E. J. L, 1987).

# 1.6 DIFERENCIACION Dirofilaria immitis DE Dipetalonema reconditum

En los perros se presentan varios parásitos filaroides, pero de estos, el único de importancia que no es *Dirofilaria immitis* lo es *Dipetalonema reconditum* (Ramírez, R. J. C, 1991).

Este parásito se encuentra en el tejido subcutáneo de los perros y por lo general, no es patógeno. Su importancia radica en el hecho de que se presenta en las mismas áreas endémicas que *Dirofilaria immitis*, y la presencia de las microfilarias de *Dipetalonema reconditum* en la sangre periférica pueden hacer confuso el diagnóstico de la enfermedad por gusanos del corazón en el perro (Ramírez, R. J. C. 1991).

Los adultos de *Dipetalonema reconditum* son gusanos delgados que miden hasta 24 mm. de largo. Los gusanos se presentan en los tejidos subcutáneo y conectivo y en especial los miembros y el lomo (Ramírez, R. J. C, 1991).

El ciclo biológico del *Dipetalonema reconditum* es similar al del *Dirofilaria immitis* excepto que los huéspedes artrópodos intermediarios son las pulgas (*Ctenocephalis felis*) y piojos (*Trichodectes canis*) (Ramírez, R. J. C, 1991).

Las infestaciones por este parásito son de poco significado patógeno (Ramírez R. J. C, 1991).

Cuadro 1

CARACTERÍSTICAS DIFERENCIALES DE MICROFILARIAS CANINAS			
CIRCULANTES			
	Dirofilaria inmitis	Dipetalonema reconditum	
Longitud	286 - 340	258 - 292	
Anchura	6.1 - 7.2	4.7 - 5.8	
Forma del extremo anterior	Acuminado	Romo con gancho cefálico	
Forma del extremo posterior	Recto, cola puntiaguda	Recto en botón con gancho	
Tinción con fosfatasa ácida	Tinción de dos zonas: poro anal y secretor	2/3 del cuerpo se tiñen	

# 1.7 CICLO BIOLÓGICO

Las Dirofilarias viven especialmente en el ventrículo derecho y en la arteria pulmonar (Neva, A. P, 1986).

Las microfilarias de *Dirofilaria immitis* pueden ser encontradas en los glomérulos y el tejido conectivo intersticial del riñón del perro (Dos Santos, J. A, 1982), y viven especialmente en el ventrículo derecho y en la arteria pulmonar, rara vez en abscesos, patas, nódulos interdigitales, cámara anterior del ojo y cavidad abdominal (Quiroz, R. H, 1988).

Las hembra de *Dirofilaria immitis* son vivíparas, y las microfilarias pueden encontrarse en la sangre en cualquier momento, aunque hay tendencia a la periodicidad (Trigo, F. 1992). Las larvas o microfilarias pasan a la sangre y circulan viviendo durante semanas en el ventrículo derecho. Los hospedadores intermediarios son los mosquitos hematófagos, tales como *Anopheles Culex pipiens, Culex fatigans, Aedes aegypti, Aedes pambaensis, Aedes geniculatus*, Aquadrimaculatus, Myzorhynchus y Taenorhynchus, que son los encargados de diseminar la enfermedad (Soulby, E. J. L, 1987).

# 1.7.1 Ciclo Exógeno

Los mosquitos ingieren las microfilarias junto con la sangre, llega al estómago del insecto y posteriormente pasan a los túbulos de Malpigio en donde se convierten en larva I, al cuarto día pasan al estado de larva II que tiene forma semejante a una "salchicha" y del noveno a décimo día llegan al estado de larva III, que es la forma más alargada, y que mide 500 micras de largo, posteriormente las microfilarias emigran por la cavidad torácica, entran en los espacios cefálicos o en la cavidad en el labio en donde alcanzan el estado de microfilaria metacíclica o infestante, entonces miden de 800 a 900 micras (Ribero, M. P., 1980).

El tiempo de desarrollo en los mosquitos varía según el clima entre 8 y 17 días y la especie de mosquito, los mosquitos son susceptibles a las microfilarias y gran número de ellos muere (Soulby, E. J. L, 1987).

# 1.7.2 Ciclo Endógeno

La infestación del perro ocurre en el momento en que el mosquito se alimenta del huésped definitivo, pues las microfilarias son inoculadas en la piel. Hay crecimiento y migración intermedia por varios tejidos, la larva crece muy rápidamente durante los siguientes dos o tres meses los gusanos inmaduros llegan al ventrículo derecho, durante los dos o tres meses crecen los gusanos en el corazón (Ribero M. P. J. 1980). Se establecen en un lapso de tiempo de 85 a 120 días, midiendo 3 a 11 cm. dos meses después, alcanzan su madurez sexual y las microfilarias aparecen en la sangre. El periodo latente parece ser de 5 años (Quiroz, R. H, 1988). La microfilaria circulante, puede sobrevivir hasta dos años y puede haber transmisión transplacentaria, encontrándose microfilarias en los cachorros recién nacidos (Soulby, E. J. L, 1987).

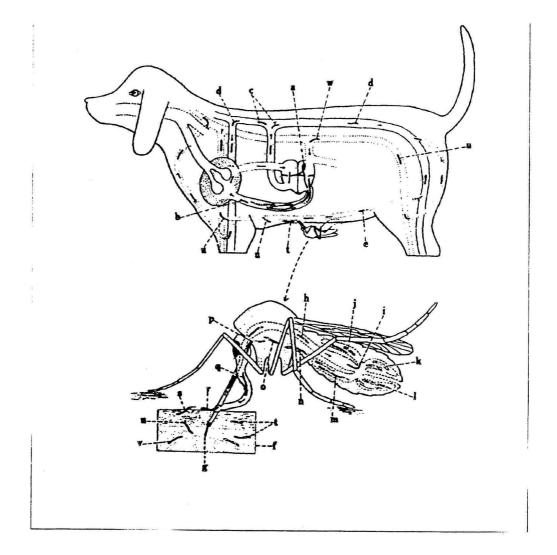


Figura · 2

# CICLO BIOLÓGICO DE Dirofilaria immitis

a, Dirofilaria adulta en el corazón derecho y arteria pulmonar; b, c, d, Microfilaria circulando en la sangre; e, Microfilaria en sangre periférica de donde la toman los mosquitos y pulgas al alimentarse; f, piel de perro; g, Microfilaria succionada por el mosco; h, Microfilarias en el estómago del mosco; i, Microfilaria entra en los tubos de Malpigio; j, Microfilaria que se prepara para la primera muda adoptando la forma de salchicha; k, segunda larva en forma de salchicha; l, segunda muda; n, larva infestante escapando de los tubos de Malpigio; o, larva emigra a través del tórax; p, q, larva entra en el labio inferior; r, larva escapa del labio hacia la piel; s, larva entra en la piel; t, larva en tejido subcutáneo (también músculo y tejido adiposo); u, la larva entra en los vasos periféricos después de 85 a 129 días después de la infección; v, la larva entra en la circulación general; w, larva en corazón (Soulby, E. J. L, 1987).

# 1.8 FILARIASIS ZOONÓTICA CICLO DE TRANSMISIÓN

El reservorio de *Dirofilaria immitis* es el perro y la transmisión se realiza por mosquitos; el hombre se infecta de modo accidental (Kirk, R. W., et al. 1994). Después de que una persona es inoculada por un mosquito con larvas del tercer estadio, la mayoría de las larvas mueren en el tejido conjuntivo subcutáneo, Sin embargo, alguna puede escaparse del tejido subcutáneo, sobre todo en infecciones repetidas, seguir con su desarrollo y migran hacia los pulmones, el hombre es un huésped accidental de las filarias zoonóticas (Acha, N. P, 1986).

En Europa y Asia se han producido parasitaciones de *Dirofilaria immitis*, la filiaría del corazón de los perros, encontrado en los pulmones y el corazón del hombre. Algunos se han encontrado vivos en autopsias, más a menudo, se han observado primero como nódulos pulmonares aislados (lesiones en moneda) y su verdadera naturaleza no se ha descubierto hasta la intervención quirúrgica (Markell, V. J, 1990).

Se ha descrito el infarto pulmonar como efecto secundario de la presencia de Dirofilaria en la arteria pulmonar o en cualquier otra localización en el pulmón, la transmisión de Dirofilaria se produce, sin duda, a través de los

mismos mosquitos que infectan a sus hospedadores habituales (Markell, V. J, 1990).

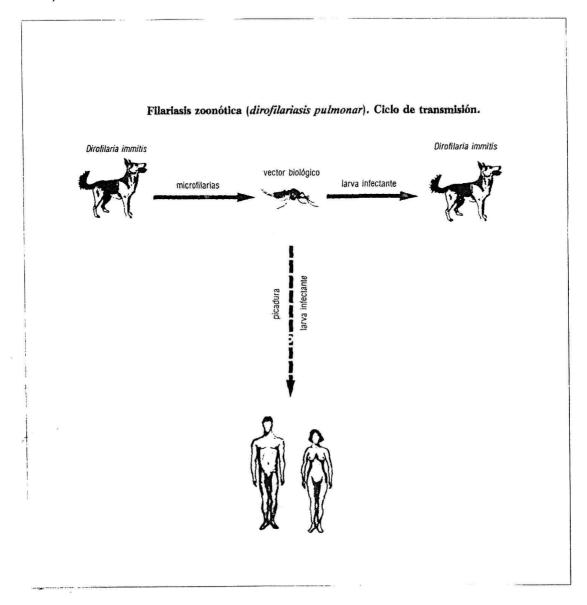


Figura ·3

El perro infestado con *Dirofilaria immitis*, las Microfilarias en sangre periférica de donde la toman los mosquitos vectores biológicos, el hombre es un huésped accidental por la picadura del mosco transmitiéndoles las larvas (Acha, N. P, 1986).

### 1.9 PATOGENIA

El parásito adulto ejerce importante acción mecánica por obstrucción, principalmente en el lado derecho del corazón y en la arteria pulmonar interfiriendo con el paso normal de la sangre y el cierre de las válvulas. Otras veces diferentes estados evolutivos son arrastrados por la corriente sanguínea provocando problema de embolia en pulmón, cerebro y otros tejidos. Los vermes a través de sus movimientos ejercen una acción irritativa sobre el endotelio de los vasos dando lugar a endoarteritis y endocarditis con hipertrofia compensadora. La naturaleza de la endoarteritis se considera como una hipersensibilidad debida a la acción mecánica e irritativa del parásito (Quiroz, R. H, 1988). Muchos perros pueden estar infestados con *Dirofilaria immitis* sin presentar ningún otro signo clínico de infestación que las microfilarias en sangre (Soulby, E. J. L, 1987).

La presencia del parásito adulto en el corazón da como consecuencia incompetencia de la válvula tricúspide y semilunar, con un incremento de la resistencia de la sístole. Este factor, más la hipertensión pulmonar inducida por la esclerosis de la arteria pulmonar, causan deterioro de la contracción miocárdica. El trabajo del corazón está aumentado pero hay un desequilibrio entre el trabajo y el daño cardíaco. El mecanismo compensatorio es la

hipertrofia, el volumen adicional de sangre produce congestión, como consecuencia hay incremento en el tamaño del hígado, bazo y pulmones con ascitis (Quiroz, R. H, 1988).

Los parásitos de *Dirofilaria immitis* se encuentran en localizaciones aberrantes como son vena cava, ojos, cerebro, aorta y ventrículo izquierdo; además se pueden ver en cortes tisulares de pulmón, hígado o riñones en donde hay degeneración del epitelio, endotelio y membrana basal, pero no daño tubular (Quiroz, R. H, 1988).

#### 1.10 LESIONES

La dirofilariasis es una enfermedad del corazón producida por *Dirofilaria immitis* que afecta el ventrículo derecho y la arteria pulmonar, ocasionalmente se puede encontrar en la cavidad abdominal, bronquiolos, cerebro, (González, M. C. A, 1996), en la cámara anterior de los ojos (Kirk, R. W., et al. 1994), y otros tejidos, la forma larvaria se llama microfilaria y se encuentra en la sangre circulando libremente (González, M. C. A, 1996).

Las lesiones que ocasionan los parásito adultos pueden describirse como una fibrosis difusa interalveolar de los pulmones; en los vasos sanguíneos producen extensas arteriosclerosis, junto con formación de trombos y émbolos a consecuencia de las lesiones vasculares (Neva, A., et al. 1985). En perros muy parasitados se desarrolla insuficiencia cardíaca congestiva derecha, (Kirk, R. W., et al. 1994), con la consecuente congestión hepática y ascitis, además puede desarrollarse glomerulonefritis, debido a la deposición de complejo inmunitario (Neva, A., et al. 1985).

Histológicamente las arteriolas de los pulmones tienen trombosis por microfilarias y los alvéolos están ocupados por un fluido edematoso; hay fibrosis en el tejido interalveolar. Otras lesiones son la congestión pasiva del hígado y riñones con aumento de tamaño y cianosis en el bazo (Quiroz, R. H, 1988).

También se han observado lesiones como ruptura espontanea de grandes vasos como la vena safena, y en la necropsia se puede encontrar congestión pulmonar, dilatación del ventrículo derecho e hígado congestionado así como la presencia de gusanos en el corazón derecho y arteria pulmonar (Cepeda, M. H., et al. 1995).

# 1.11 SIGNOS CLINICOS

Cuando el número de parásitos es pequeño, la infestación transcurre de modo asintomático (Kirk, R. W., et al. 1994). En las dirofilariasis de larga duración, los signos más prominentes consisten en tos crónica (Neva, A., et al. 1986), pérdida de vitalidad y en las formas graves, manifestaciones de insuficiencia cardíaca (Kirk, R. W., et al. 1994). La congestión pasiva crónica que se desarrolla en varios órganos puede producir ascitis, las trombosis pueden ocasionar infartos pulmonares con muerte súbita. El síndrome hepático agudo (síndrome de la vena cava posterior) consiste en la obstrucción de la vena cava posterior por un gran número de parásitos adultos que maduraron simultáneamente, con la consiguiente congestión aguda del hígado y riñones, hemoglobinuria y muerte en 24 a 72 horas (Neva, A., et al. 1986). Es común una tos silbante profunda, y puede verse hemoptisis, los perros afectados tienen poca fuerza y pueden presentar una respiración caracterizada por el hecho de que la caja torácica permanece expandida y hay un efecto respiratorio extra. La emaciación se desarrolla gradualmente (Soulby, E. J. L, 1987). En los perros con Dirofilaria immitis se presenta el síndrome de la vena cava (Sasaki, Y., et al. 1988), o en el síndrome de fallo hepático, hay anorexia, debilidad intensa y una orina oscura, negruzca (Soulby, E. J. L, 1987), que contiene hemoglobina (Kirk, R. W., et al. 1994) y bilirrubina (Soulby, E. J. L,

1987). Comúnmente la forma adulta del *Dirofilaria immitis* ha sido encontrada en la cámara anterior del ojo de los perros, produciendo queratitis (Hoskins, J. D, 1993).

Los parásitos producen uveítis. Endoftalmitis potencial se ha informado de *Dirofilaria immitis* en cámara anterior del ojo (Hoskins, J. D, 1993).

# 1.12 DIAGNÓSTICO

El diagnóstico de la filariasis canina se efectúa mediante reconocimiento de las microfilarias en la sangre, por medio de la Técnica de Gota Gruesa, en el caso de Dirofilaria immitis la muestra de sangre debe obtenerse con preferencia en las horas nocturnas, cuando la microfilarias llegan al máximo (Neva, A., et al. 1986). Es necesario diferenciar: Dirofilaria immitis de Dipetalonema repens y Dipetalonema reconditum (Ramírez, R. J. C. 1991), también se basa en los signos clínicos y con la técnica de Knott (Courthery, C. H., et al. 1995), además de los signos históricos y clínicos (Kirk, N. R. 1985), complementandose con el uso de radiografía, (Rawlings, C. A, 1993), angiografía, electrocardiografía y patología clínica (Kirk, N. R. 1985). La detección de Antígeno específico de Dirofilaria immitis en sangre, nos puede ayudar con la prueba de ELISA. Otra prueba para detectar parásitos es la técnica de Sedimentación Combinada. La técnica de MIFC detecta parásitos en sangre y la identificación del parásito por su morfología en la actividad de Acido Fosfatasa (Deplazes., et al. 1995).

Otra técnica la detección del gusano de corazón por medio de la reacción en cadena polimerasa (House., et al. 1995).

### 1.13 INMUNIDAD

Los perros cuando son inyectados con microfilarias vivas de *Dirofilaria immitis* muestran que la inmunidad o hipersensibilidad se desarrolla contra los antígenos de las microfilarias, pero sin demostrar protección contra la fase infestante. Este estado específico de inmunidad "Dirofilariasis oculta" o (Dirofilariasis sin microfilarias circulantes) obviamente no es benéfico para el perro; como consecuencia patológica esta comprendida la reacción celular de los constantes asaltos de numerosas microfilarias atrapadas principalmente en el pulmón (Quiroz, R. H, 1988). Una explicación alternativa es de que los animales infestados con *Dirofilaria immitis* desarrollan una inmunidad adquirida pero presentan fiebre persistente, las cuales incluyen disfunciones neoplásicas e inmunitarias (Greene, C. E., et al. 1990).

Por concepto, la respuesta inmune se obtendría cuando la biomasa del gusano (adultos más todas las etapas larvarias) excede el nivel umbral crítico, como consecuencia, la inmunidad adquirida debe dirigirse principalmente contra las nuevas etapas larvarias del parásito, más que para infecciones adultas establecidas, puesto que las *Dirofilaria immitis* maduras sobrevivirían por largos períodos por huéspedes inmunológicamente reactivos.

No es claro el papel de los anticuerpos en la inmunidad de la infección por *Dirofilaria immitis*. La transferencia pasiva de resistencia con suero inmune para la infección de *Dirofilaria immitis* no ha sido demostrada. Sin embargo, perros infestados con *Dirofilaria immitis*, producen anticuerpos detectables (Kirk, N. R, 1985).

### 1.14 TRATAMIENTO

Antes del tratamiento, deben investigarse las funciones cardíaca, hepática, renal y pulmonar, ya que estas afectan a las prognosis (Soulby, E. J. L, 1987).

Como adulticida, la Tiacetarsamida se administra por vía endovenosa, en dosis de 0.1 ml/0.45 kg. dos veces al día durante tres días (Soulby, E. J. L, 1987). Como la Tiacetarsamida es potencialmente nefrotóxica y hepatotóxica debe detenerse el tratamiento si aparecen signos de toxicidad (Raynaud, J. P, 1992). Durante un mes de tratamiento se requiere de reposo y cuidados para contrarrestar los efectos de embolia provocados por los gusanos muertos en los pulmones ya que pueden causar tromboembolismo si se matan todos los gusanos cuando los perros contienen una elevada parasitosis (Rawlings, C. A, 1993).

Para eliminar las microfilarias se administra diariamente, durante 7 días, Yoduro de Ditiazanina, 2mg/0.45 kg. si aún persisten las microfilarias, puede aumentarse la dosis a 5 mg/0.45 kg. de peso. No debe usarse Yoduro de Ditiazanina si hay enfermedad hepatorrenal (Soulby, E. J. L, 1987).

Los signos principales y las lesiones son el resultado de la presencia de gusanos adultos en el corazón y los vasos adyacentes y por tanto, el tratamiento se dirige hacia la extracción de los gusanos de esos lugares (Kirk, N. R, 1985).

# 1.14.1 Quimioterapia

La recomendación normal es usar un adulticida, seguido de una o más dosis de microfilaricida, repitiendo el tratamiento si es necesario hasta que se obtiene una serie de frotis sanguíneos negativos (Kirk, N. R, 1985).

El Levamisol es efectivo tanto en las formas adultas como en las microfilarias de *Dirofilaria immitis*, pero causa una fricción respiratoria en los animales a los ocho días después de la aplicación (Viswanatha, B. K, 1986). La dosis de Levamisol diaria es de 10-15 mg/kg. de peso intramuscular, 2.5 mg/kg. de peso oral diario durante 14 días (Kirk, N. R, 1985). Para los parásitos adultos se administra en dosis de 22 mg/kg. tres veces al día durante 14 a 21 días (Rawlings, C. A., et al. 1990). La Arsenamida en dosis de 1 mg/kg. de peso durante 15 días mata al parásito adulto pero no ejerce efecto sobre las larvas (Beuria, M. K., et al. 1995).

El Trimelarsen o Melarsony es un compuesto arsenical que se puede utilizar por otras vías distintas de la endovenosa y produce efecto sobre los adultos de *Dirofilaria immitis* en dosis de 5 mg/kg. de peso por dos días consecutivos destruye 80% de los adultos (Quiroz, R. H, 1988). Pueden causar vómito crónico en perros con una infestación elevada de gusanos adultos (Rawlings, C. A., et al. 1993).

La Medetomidine fue probada en 10 perros infestados con *Dirofilaria immitis* y en 10 no infestados, la droga se administró 30 mg/kg. de peso I.V. y 40 mg/kg. de peso I.M. en una sola dosis, observándose un incremento significativo en la presión arterial, seguida de un decremento en la presión sanguínea, en general la respuesta clínica que fue observada con efectos cardiopulmonares en perros positivos fue similar en los perros negativos (Venugopalan, C. S, 1994).

### 1.15 CONTROL Y PROFILAXIS

Las medidas de control son difíciles, sobre todo en áreas endémicas, los animales mantenidos en el interior de las casas al atardecer y durante la noche, presentan menor incidencia de infestación (Soulby, E. J. L, 1987).

El tratamiento profiláctico es eficaz, en áreas endémicas, debe utilizarse cada seis meses y monitorear los perros en busca de infestación (Soulby, E. J. L, 1987).

El Mebendazol, 80 mg/kg., diario durante 30 días, es eficaz y constituye un posible agente profiláctico (Soulby, E. J. L, 1987).

La terapia con Ivermectina, debe iniciarse cuatro semanas posteriores al tratamiento adulticida, la dosis recomendada es de 0.05 mg/kg. una vez por mes por vía oral. Si se desea puede ser administrada por vía subcutánea en dosis de 2 a 4 mg./kg. una vez al mes, aún y cuando esta vía no es recomendada, no se debe administrar en perros de raza Collie o Antiguo Pastor Inglés o bien, mezclas con estas razas ya que puede ocasionar muerte. Se puede mezclar 1 ml. de Ivermectina en 9 ml. de Propylen Glicol para ser administrada por vía oral, a dosis de 1 ml./20 kg. de peso, posteriormente al

tratamiento con Ivermectina. De hecho la Ivermectina es el medicamento de elección para la prevención de la microfilaremia (Cantú, R. J, 1994).

La Dietilcarbamizina es una droga utilizada en la prevención de la infección principalmente del parásito adulto, su uso ha sido de gran eficacia principalmente en zonas endémicas en donde se acostumbra utilizar todos los cachorros a partir de los seis meses de edad, se puede instituir el tratamiento preventivo con Dietilcarbamizina administrada por vía oral en razón de 2.5 a 3.0 mg/kg. sin embargo es recomendable que durante el programa preventivo se llevan a cabo pruebas preventivas anuales (Cantú, R. J. 1994).

En el caso que durante estas pruebas el animal sea identificado como positivo, deberá de suspenderse el tratamiento con Dietilcarbamizina e iniciarse la terapia con Tiacetarsamida (Cantú, R. J., 1992).

La Medetomidine fue probada y evaluada en perros enfermos con gusanos de corazón. La dosis recomendada en la práctica es de 2.2 mg/kg. de peso I.M para la prevención de los parásitos (Raynaud, J. P, 1992).

### **CAPITULO II: MATERIALES Y METODOS**

## 2.1 UBICACIÓN GEOGRÁFICA

El lugar en donde se realizó la investigación fué en la Ciudad de Torreón, Coah., en el Municipio de Torreón se tiene un porcentaje territorial que representa el 0.76% de la superficie total del Estado. Con colindancias al Norte con el Estado de Durango y con los Municipios de Matamoros y Viesca; al Este con el Municipio de Viesca; al Sur con el Estado de Durango y al Oeste con el Estado de Durango. Ubicado en las Coordenadas geográficas extremas al Norte 25° 41', al Sur 24° 41' de latitud, al Este 102° 57' y al Oeste 103° 31' Longitud (INEGI, 1994).

#### 2.2 TOMA DE MUESTRAS

La toma de muestras se inició en el mes de Septiembre de 1996 y se concluyó en Enero de 1997. El horario de toma de muestras que fue 7:00 - 9:00 hrs., 15:00 - 16:00 hrs., 18:00 - 19:00 hrs. y 19:00 - 20:00 hrs., las muestras

obtenidas se analizaron en la Unidad de Diagnóstico, de la Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro" Unidad Laguna.

#### 2.3 MUESTREO

El número de perros muestreados fué de 200 los cuales se eligieron al azar dentro de los hogares de la Ciudad de Torreón, Coah. y en el Centro Antirrábico de la Jurisdicción No.6 de la Secretaría de Salubridad y Asistencia (SSA).

El número de muestras se determinó tomando en cuenta los lineamientos de la Organización Mundial de la Salud (OMS), en cuanto a que la población canina representa una relación de 1:10, es decir un perro por cada diez habitantes. Según el Instituto Nacional de Estadística Geográfica e Informática, el censo poblacional de la Ciudad de Torreón, Coah. del año 1990, fué de 464,825 mil habitantes (INEGI, 1994). Tomando como referencia este dato, podemos decir que las muestras examinadas fueron 200 lo que represente un 0.43% de la población canina total, considerando una muestra por cada perro.

#### 2.4 MATERIALES

- \* Un microscopio con platina móvil y lámpara.
- \* 200 jeringas desechables de 3 cm.
- \* 200 portaobjetos.
- \* Una liga torniquete.
- \* Un lazo para bozal.
- \* Un paquete de algodón.
- \* 50 tubos Vacutainer con anticoagulante de 5 ml.
- \* 20 tubos Vacutainer sin anticoagulante de 10 ml.
- \* aplicadores de madera.
- \* centrifuga.
- \* pipeta de 10 ml.
- \* sujetador.

### 2.5 SOLUCIONES Y REACTIVOS

- \* Formol al 2%
- \* Agua simple
- \* Tinción de Writht
- \* Tinción de GIEMSA

## 2.6 MÉTODO EMPLEADO

### Método Modificado de Knott para Concentración de Microfilarias.

Esta técnica hemoliza los glóbulos rojos y concentra leucocitos y microfilarias.

- 1.- Obtener 1 ml de sangre por punción venosa, y llevarla directamente a un tubo de centrifuga conteniendo 10 ml de formol al 2%. Mezclarlo muy bien.
- 2. Centrifugar a 1500 rpm un minuto.
- 3. Decantar el sobrenadante, remover con aplicadores de madera el sedimento y llevar a uno o varios portas, depositando cantidades aproximadas a las de una gota gruesa Dejar secar completamente.
- 4. Teñir con colorante de GIEMSA o con Wright.

#### FORMA DE HACER UN FROTIS.

Se colocó una gota de sangre en un extremo del porta. Cada gota del tamaño aproximado de una gota gruesa.

Se levanta el extremo del porta más alejado de la gota de sangre, colocándolo sobre un dedo, mientras su mano reposa sobre una mesa u otra superficie firme. Se toma un segundo porta para extender, y se pone uno de sus extremos sobre el primer porta. Se levanta la mano hasta que el segundo porta forme un ángulo con el primero aproximadamente 30°. No apretar los portas, sino dejar que la gravedad establezca el contacto entre ambos. Se lleva hacia atrás el dedo que sujeta, para ello se desliza el porta hacia atrás, hacia la gota de sangre, y se comienza a difundir la sangre hacia los extremos. Antes de que la sangre consiga alcanzar los extremos del porta superior, se mueve el dedo que lo sujeta hacia delante, con un movimiento lento y constante, de modo que la gota se extienda formando una delgada película. Lo ideal, es que la sangre no alcance los extremos del porta (Markell, V.J. 1990).

Se observaron al microscopio las muestras, tomando en cuenta los siguientes puntos:

- 1) Se utilizó un microscopio con platina móvil.
- 2) Se examinó la muestra con aumento menor 10/0.22 y si existía duda, se utilizó un aumento mayor 40/0.65.
- 3. La preparación, debía ser completa y sistemáticamente examinada.
- 4. Se estandarizó el procedimiento para comparar los resultados obtenidos.

## 2.7 MÉTODO ESTADÍSTICO

Se determina la prevalencia por área de acuerdo a las definiciones generales del grupo Salud Animal de la O.I.E. Utilizando la siguiente formula:

ptia = ait/at

Donde:

ptia = Prevalencia momentánea

ait = Número de animales enfermos existentes en un momento dado.

at = Número total de animales existentes en el mismo momento (Anuario de Sanidad Animal, 1985).

### **CAPITULO III: RESULTADOS**

- 1.- De 200 muestras sanguineas de caninos analizadas, por la técnica de Método Modificado de Knott 8 resultaron como positivas al diagnóstico de Dirofilaria immitis (gráfica 1). El trabajo realizado demostró que la prevalencia es de un 4% del total de las muestras analizadas por medio de esta técnica.
- 2.- De las 200 muestras analizadas, 146 fueron realizadas en perros criollos y 54 en perros de raza pura, obteniéndose una prevalencia en perros criollos de un 4.0% de positividad y en razas puras de 0.0% de positividad al parásito (gráfica 2).
- 3.- En el horario de las 7:00 a las 8:00 hrs. se tomaron 90 muestras y se encontraron 3 muestras positivas lo que indica un 3.33% de positividad.

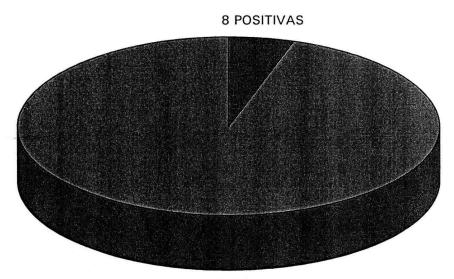
En el horario de las 8:00 a las 9:00 hrs. se tomaron 55 muestras y se encontró 1 muestra positiva lo que indica un 1.81% de positividad.

En el horario de las 15:00 a las 16:00 hrs. se tomaron 11 muestras y se encontraron 0 muestras positivas lo que indica un 0.0% de positividad.

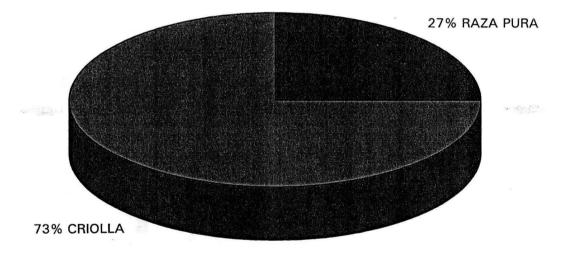
En el horario de las 18:00 a las 19:00 hrs. se tomaron 27 muestras y se encontraron 2 muestras positivas lo que indica un 7.40% de positividad.

En el horario de las 19:00 a las 20:00 hrs. se tomaron 20 muestras y se encontraron 2 muestras positivas lo que indica un 10% de positividad.(gráficas 3,4) a *Dorofilaria immitis* en este horario.

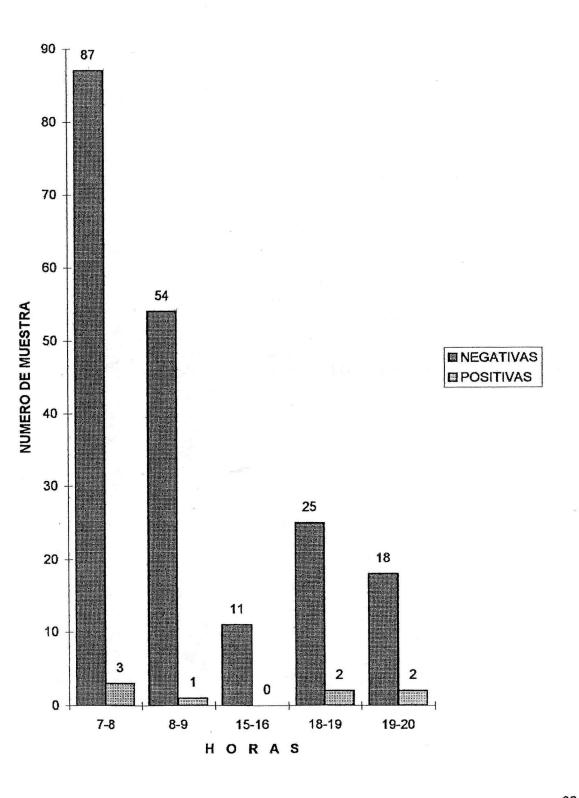
GRAFICA 1. Prevalencia de Dirofilaria immitis por medio de la Técnica Método Modificado de Knott en la Cd. de Torreón, Coah.



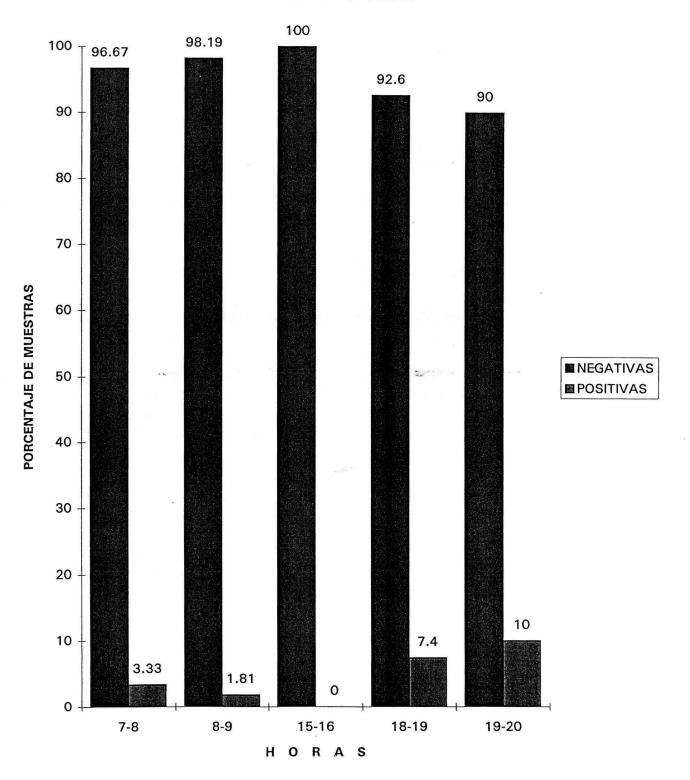
GRAFICA 2. Prevalencia de Dirofilaria immitis en perros criollos y perros de raza pura por medio del Método Modificado de Knott.



GRAFICA 3. Número de muestras positivas y negativas de Dirofilaria immitis diagnosticadas por medio de la Técnica Método Modificado de Knott.



GRAFICA 4. Porcentaje de positividad al diagnóstico de Dirofilaria immitis en diferentes horarios por medio de la Técnica Método Modificado de Knott.



# **CONCLUSIÓN Y RECOMENDACIONES**

El empleo de la técnica de Método Modificado de Knott sirve para la identificación del parásito de *Dirofilaria immitis* en perros y puede ser empleada como una técnica diagnóstica para la identificación de microfilarias en sangre.

Es conveniente, realizar más trabajos que contrasten su valor diagnóstico con relación a otras técnicas.

Sería interesante el realizar estudios de positividad en humanos para determinar la Prevalencia del parásito y su distribución epidemiológica.

Informar a los clínicos de la gravedad de esta enfermedad que muchas veces se confunde con otras enfermedades

### LITERATURA CITADA

- Acha, N. P., Szyfres, B. 1986. Zoonósis Enfermedades Transmisibles Comunes al Hombre y a los Animales. 2a, Edición. Ed. Panamericana de la Salud. pp. 989.
- Anuario de sanidad animal. 1985. FAO-WHO-OIE. Colección FAO: Producción y sanidad animal No 25. pp. 240.
- Ashler, A. S., Santa, B. 1995. Dirofilarial haematuria in dogs and its therapy.

  Journal of the Remount and Veterinary Corps. 72: 10. pp. 1073.
- Beuria, M. K., Das, M. K. 1995. Chemocherapy reduced arsenamida an filaial. J Med Veterinary. 69,3. pp.257.
- Carrillo, M. F. J. 1993. Manual de Prácticas de Parasitología y Enfermedades Parasitarias. 1a, Edición. Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro". pp. 152.

- Carlisles, C. H., Dillon, R. 1993. Radiographic thoracic changes induce by RM340 (adulticide for *Dirofilaria immitis*). Veterinary Radiology and Ultrasound. 34:6. pp. 457.
- Cantú, R. J. 1992. Dirofilariasis Canina. Boletín Informativo de Médicos Especialistas en Pequeñas Especies. Producido por ACVAMM, Asociación de Clínicas Veterinarias del Area Metropolitana de Monterrey y Nuevo León A.C. año 6, No.71. pp. 19.
- Cepeda E., M. H., Delgado, G. R. 1995. Infección por Gusano del Corazón Canino en Torreón, Coah. Memorias del IV Congreso de la Sociedad Mexicana de Patólogos Veterinarios. A. C. Toluca, Estado de México. pp. 59.
- Comiskey, N., Wesson, D.M. 1995. Dirofilaria (Filaroidea, Onchocercidae)

  Infection in Aedes Albopictus (Diptera, Culicidae) Collected in

  Louisina. Journal of Medical Ectomology 32: 5. pp. 734-737.
- Courtner, C. H., Zeng, Q. Y. 1995. Sensitivity and specificity of two hertworm antigeno tests. Veterinary Med/Dep 1995, 20;5. pp. 15-17.

- Correa, A. S., Pérez, T. C. 1996. Texto de Patología. 2da. edición, Ed. Fournier, México. pp. 1502.
- Deplazes, F., Gusssetti, E., Wunderlin, H., Bucklar, J., Skaaggs, K. 1995.

  Infections with Endoparasites in Stray and Unwanted Dog in Southern

  Switzerland. Schweizer Archiv Fur Tierherilkunde. 137:5 pp.172-179.
- Dos Santos, J. A. 1982. Patología Especial de los Animales Domésticos. 2da. edición. Ed. Interamericana México. pp. 840.
- Doxey, D. L. 1987. Patología Clínica y Procedimientos de Diagnósticos en Veterinaria. Ed. Interamericana. México. pp. 790.
- González, M. C. A., González, M. M. J. 1996. Estudio Epidemiológico de Dirofilaria immitis. Memorias del V Congreso de la Sociedad Mexicana de Patólogos Veterinarios. A. C. Querétaro, Qro. pp.1.
- Grain., Faust. 1974. Parasitólogia Clínica. Ed. Salvat. Barcelona (España). pp. 493.

- Greene, C. E. 1990. Enfermedades Infecciosas perros y gatos. 1a. edición. Ed. Interamericana, México. pp. 1020.
- Hoskins, J. D. 1993. Pediatría Veterinaria perros y gatos. Ed. Interamericana, México. pp. 565.
- House, J., Hill, O. 1995. Polymerase Chain reaction bsed method for the detection of canine heartworm in mosquitoes and vertebrate hosts. J Med Entomol. 1995, 32, 6. pp. 869-869.
- I.N.E.G.I. Torreón Estado de Coahuila Cuaderno Estadístico Municipal. Edición. 1994. pp. 280.
- I.N.E.G.I. Torreón Estado de Coahuila. XI Censo General de Población y Vivienda. 1990. pp. 230.
- Kirk, N. R. 1985. Terapéutica Veterinaria, Práctica Clínica en Especies Pequeñas. 2da. edición. Ed. CECSA, México. pp. 1492.
- Kirk, R. W., Kelly, D. J. 1994. Terapéutica Veterinaria de Pequeños Animales.

  1a. edición. Ed. Interamericana de España. pp. 1381.

- Markell, V. J. 1990. Parasitología Médica. 1ra edición, Ed. Interamericana. pp. 395.
- Neva, A. P., Boris, S. 1986. Zoonósis y Enfermedades Transmisibles Comunes al Hombre y a los Animales. 2da. edición. Ed. Organización Panamericana de la Salud Washington D. C. pp. 850.
- O.M.S. Diagnóstico de la salud de animales en las Américas. No. 452.
- Quiroz, R. H. 1988. Parasitología y Enfermedades Parasitarias en los Animales Domésticos. 7a. edición Ed. Interamericana, México. pp. 741.
- Ramírez de la R., J. C. 1991. Enfermedad del Gusano del Corazón Canino en La Ciudad de Alamo, Ver. TESIS. Universidad Veracruzana. pp. 63.
- Rawlings, C. A., Calvet, C., Dillon, R., Hribernirk, T.1993 Answers to typical questions on hertworm problems. Compendiumon Continuing Education for the Practicing Veterinarian. 15: 5, pp. 711-724.
- Rawlings, C. A., Raynaud, J. P., Lewis, R. E., Duncan, J. R. 1993 Pulmonary thomboembolism and hypertension after thiacertarsamide vs

melarsoline dihydro-chloride treatment of *Dirofilaria immitis* infection in dogs. America Journal of Veterinary Research. 54:6. pp. 920-925.

- Rawlings, C. A., Tonelli, Q., Lewis, R. E., Duncan, J. R., 1993. Semicualitative test for *Dirofilaria immitis* as a predictor of thromboembolic complications associated with hertworm treatment in dogs. America Journal of Veterinary Research. 54: 6. pp. 914-919.
- Raynaud, J. P. 1992. Thiacetarsamide (adulticide) versus melarsomine (RM 340) developed as a macrofilaricide to cure canine heartworm infection in dogs, Annales de Recherches Veterinaires. 23: 1, pp. 1-25.
- Ribero, M. P. J. 1980. Frecuencia Estacional de *Dirofilaria immitis* en perros de la Ciudad de Chetumal, Quintana Roo. TESIS. Universidad Nacional Autónoma de México. pp.70.
- Sámano, G. R. F., González, A. 1996. Frecuencia de *Dirofilaria immitis* en Perros de Seis Ciudades de México. TESIS. Universidad Nacional Autónoma de México. pp. 109.

- Sasaki, Y., Kitagawa, H., Ishihara, K., Mori, M. 1988 Clinical aplication Dirofilaria immitis infection in dog: pathological findings following administration. Japanese Journal of Veterinary science. 50;5. pp. 977-984.
- Soulby, E. J. L. 1987. Parasitología y Enfermedades Parasitarias en los Animales Domésticos. 7a. edición. Ed. Interamericana, México. pp. 823.
- Tosa, N., Morimatsu, M., Miyoshi, F., Uchida, E. 1993 Niyama Purification and identification of a serum protein increased by anthelmintic drugs for *Dirofilaria immitis* in dogs. Journal of Veterinary Medical Science. 55: 1, pp. 27-31.
- Trigo, F. 1992. Patología Sistémica Veterinaria. 2da. Edición. ED. Interamericana, pp. 286.
- Venugopalan, C. S., Holmes, E. P., Fucci, V., Keefe, T. J. 1994.
  Cardiopulmonary effects of medetomidine in hearthworm infected and noninfecte dogs. America Journal of Verterinary Research. 55:8, pp. 1148-1152.

Viswanatha, B. K., Vijayan, N., Khullar, D. 1986 *Dirofilaria immitis* infection in dog, Journal of the Remoun Veterinary Corps. 25: 2, pp. 99-103.