

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO**

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



**“DIAGNOSTICO DE *DIROFILARIA IMMITIS* POR LA TECNICA DE
INMUNOENSAYOLIGADO A ENZIMAS (ELISA) EN CANINOS DE LA CD. DE
MATAMOROS, COAHUILA; MEXICO.”**

TESIS

POR:

AURELIO DOMÍNGUEZ HERRERA

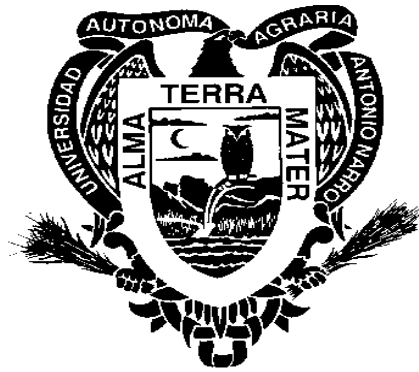
**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO
DE:**

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

TORREÓN, COAHUILA

SEPTIEMBRE DEL 2007

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL**



“DIAGNOSTICO DE *DIROFILARIA IMMITIS* POR LA TECNICA DE INMUNOENSAYOLIGADO A ENZIMAS (ELISA) EN CANINOS DE LA CD. DE MATAMOROS, COAHUILA; MEXICO.”

TESIS

POR:

AURELIO DOMÍNGUEZ HERRERA

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO
DE:**

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

ASESOR:

M.V.Z. CARLOS RAÚL RASCÓN DÍAZ

COLABORADOR:

M.V.Z. SILVESTRE MORENO AVALOS

TORREÓN, COAHUILA

SEPTIEMBRE DEL 2007

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO**

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

**“DIAGNOSTICO DE *DIROFILARIA IMMITIS* POR LA TECNICA DE
INMUNOENSAYOLIGADO A ENZIMAS (ELISA) EN CANINOS DE LA CD. DE
MATAMOROS, COAHUILA; MEXICO.”**

TESIS

APROBADO POR EL COMITÉ DE MONOGRAFÍA

PRESIDENTE DEL JURADO

M.V.Z. CARLOS RAÚL RASCÓN DÍAZ

COORDINADOR DE LA DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

M.C. JOSÉ LUIS FCO. SANDOVAL ELÍAS

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO**

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

**“DIAGNOSTICO DE *DIROFILARIA IMMITIS* POR LA TECNICA DE
INMUNOENSAYOLIGADO A ENZIMAS (ELISA) EN CANINOS DE LA CD. DE
MATAMOROS, COAHILA; MEXICO”**

**M.V.Z. CARLOS RAÚL RASCÓN DÍAZ
PRESIDENTE**

**M.V.Z. SILVESTRE MORENO AVALOS
VOCAL**

**M.V.Z. MANUEL L. HERNÁNDEZ VALENZUELA
VOCAL**

**I.Z. JORGE H. BORUNDA RAMOS
SUPLENTE**

AGRADECIMIENTOS

A Mis padres

**MAXIMINO R. DOMÍNGUEZ CRUZ.
ALICIA HERRERA SANCHEZ.**

Por tener esa confianza férrea en mí, por permitirme soñar e impulsarme en todo momento, Que nunca me dejaron solo, que con su apoyo y con sus consejos me supieron guiar por un buen camino en el que ahora me encuentro y me siento orgulloso, espero no defraudarlos, siempre les estaré agradecido.

Hace ya 5 años que nos aventuramos en este proyecto y cuando me refiero a que nos aventuramos, es porque ustedes siempre estuvieron a mi lado, han sido los pilares de mi vida; Por todo su amor, sacrificio y apoyo GRACIAS, LOS QUIERO MUCHO.

A mis hermanos.

Pascual, Salvador y Maximino, que con sus palabras me aconsejaron por el buen camino y que siempre estaban hay cunado yo los necesitaba, por brindarme todo el apoyo que estaba al alcance de sus manos, espero que se sientan orgulloso de mi y que nunca los valla a defraudar gracias hermanos.

DEDICATORIA

*Este trabajo va dedicado a todas aquellas personas que colaboraron de una u otra forma a que concluyera satisfactoriamente mis estudios; especialmente a un maestro, amigo y un padre para mí... Al MVZ **Carlos Raúl Rascón** mi asesor que sin su ayuda no hubiese sido posible la terminación de mi tesis, a su esposa, amiga y compañera Arly Rivas, a mis amigos Boone, Charly, Aarón, Enrique, Pepe, a todas esas personas que me apoyaron a lo largo de mi estancia en la Narro y otra cosa mas a mis amigos Carlos, Pedro, Javier, que desde Puebla me brindaban todo su apoyo solo les digo una cosa GRACIAS por regalarme su amistad.*

INDICE

	PAGINA
I. RESUMEN.....	1
II. INTRODUCCION.....	2
III. ANTECEDENTES.....	3
IV. DEFINICION.....	8
V. SINONIMIA.....	8
VI. DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA.....	8
VII. CLASIFICACION TAXONÓMICA.....	10
7.1 Etiología.....	10
VIII. MORFOLOGÍA.....	10
IX. CICLO BIOLÓGICO.....	11
X. EPIDEMIOLOGIA.....	13
10.1 Reservorios.....	13
10.2 vectores.....	13
10.3 factores ambientales.....	13
XI. PATOGENEA.....	14
XII. LESIONES.....	16
XIII. SEMIOLOGIA.....	17
XIV. DIAGNOSTICO.....	19
14.1 Identificación de dirofilariasis.....	19
14.2 Pruebas de inmunodiagnóstico.....	19
XV. INMUNIDAD.....	20
XVI. DIAGNOSTICO DIFERENCIAL.....	20

XVII. TRATAMIENTO	21
17.1 Tratamiento sintomático.....	22
17.2 Tratamiento Adulticida.....	22
17.3 Tratamiento Microfilacida.....	22
XVIII. PREVENCIÓN	23
XIX. ZONOSIS Y CICLO DE TRANSMISIÓN	24
XX. JUSTIFICACIÓN	25
XXI. OBJETIVOS	25
21.1 Objetivo general.....	25
21.2 Objetivo específico.....	25
XXII. MATERIAL Y MÉTODOS	25
XXIII. RESULTADOS	28
XXIV. DISCUSIÓN	29
XXV. LITERATURA CITADA	30

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. La incidencia de <i>Dirofilaria immitis</i> en casi todo el mundo.....	9
Figura 2. Ciclo biológico de <i>Dirofilaria immitis</i>	12
Figura 3. Presencia del parásito adulto en el corazón.....	17
Figura 4. Signos observados en radiografías.....	18
Figura 5. Tubo para muestra vial.....	26
Figura 6. Activación para muestra de resultados.....	26
Figura 7. Activación del dispositivo.....	26
Figura 8. Interpretación de resultados.....	27

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Comparación de las pruebas de qbc, fgs y od.....	4
Cuadro 2. Resultado de <i>dirofilaria immitis</i> en municipio del salvador, bahía....	6
Cuadro 3. Diagnostico diferencial detectado por el método de knott.....	20
Cuadro 4. Prevención de <i>dirofilaria immitis</i>	23
Cuadro 5. Resultados de caninos positivos.....	28

I. RESUMEN

En la presente investigación se muestrearon 30 caninos al azar provenientes de la Ciudad de Matamoros, Coahuila, México. Se tomaron muestras de sangre completa con anticoagulante (EDTA) para la identificación de antígenos del parásito *Dirofilaria immitis*, por medio del inmunoensayo ligado a enzimas (ELISA).

Los resultados obtenidos mostraron 7 animales seropositivos (23.3%) y 23 negativos (76.66%). También se analizaron otras variables como el sexo, edad y raza.

II. INTRODUCCIÓN.

La dirofilariosis es una parasitosis conocida desde 1856 por la Dra. Leidy, y es producida por el verme *Dirofilaria immitis* (Meneses y col., 2000). La *Dirofilaria immitis* es una enfermedad que tiene una distribución en casi todas las zonas templadas y calidas del mundo, en áreas de altas elevaciones y altitudes como Japón, Australia y norte de América, pero es de distribución cosmopolita. En México existe una prevalencia de 1.4 % hasta un 97 % dependiendo el lugar geográfico (Miranda y col., 2000).

El parásito adulto se encuentra 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. Es una enfermedad que afecta principalmente a perros y gatos pero también puede afectar a lobos, zorros, coyotes, ratones tiene como hospedador al mosquito de los géneros *Aedes*, *Anopheles* *Culex*. Se le conoce como gusano del corazón y dirofilariasis cardiopulmonar del perro (Miranda y col., 2000).

La enfermedad se clasifica en cuatro clases:

1. enfermedad subclínica asintomática se puede observar leve pérdida de peso y agitación al ejercicio, las radiografías no muestran alteraciones.
2. enfermedad moderada, hay signos radiográficos ligero engrosamiento de la arteria pulmonar o aumento circunscrito de la densidad perivascular, anemia, pérdida del estado general, fatiga durante el ejercicio y tos.
3. enfermedad severa, pronóstico reservado. La radiografía muestra severos aumentos de tamaños de las arterias pulmonares y dilatación de la aurícula derecha, fatiga constante, tos persistente, presenta insuficiencia cardíaca, anemia grave, proteinuria.
4. síndrome de vena cava (Talavera y col., 2001).

A lo que concierne con la salud pública, a través de pruebas de inmunoensayo ligado a enzimas (ELISA), y mostrando la infección podremos aumentar la prevención y control evitando infecciones zoonóticas ya que esta infección causa enfermedades cutáneas y pulmonares en los seres humanos. Estudios realizados en Torreón muestran que la prevalencia de *Dirofilaria immitis* es alta, al respecto se han realizado estudios para la identificación de la microfilaria, sin embargo no se conoce realmente si los animales analizados presentan el gusano adulto. Por tal motivo, el objeto del presente trabajo es identificar antígenos del gusano adulto por la técnica de (ELISA).

El primer diagnóstico reportado en Torreón, Coah., en el cual se observó la presencia de *Dirofilaria immitis* fue en el año de 1992, sin embargo desde 1988 se han observado gusanos en el corazón de los perros si que se le haya dado mayor importancia al problema (Cepeda, 1995).

III. ANTECEDENTES.

En las ciudades de Culhuacán Edo de México, Huauchinango Puebla y Cunduacán Tabasco se llevó a cabo un estudio con el objetivo de comparar las pruebas cuantitativa buff coat (QBC), frotis grueso de sangre (FGS) y observación directa (OD), para detectar la infección canina por *Dirofilaria immitis*. Se trabajaron con 94 muestras sanguíneas colectadas de perros callejeros de diferentes razas y sexo (48 del centro de control canino de Culhuacán estado de México, 31 de Huauchinango Puebla y 15 de Cunduacán Tabasco), la edad de los perros osciló desde 1 hasta 10 años, de la vena cefálica de cada animal se obtuvieron 10 ml de sangre completa. Cada muestra fue examinada, usando un kit comercial para QBC, FGS y OD (prueba de Knott modificada), además de las pruebas anteriores en el caso particular de las muestras de Tabasco, también fueron analizadas por inmunofluorescencia indirecta y ELISA para detectar antígenos de *Dirofilaria immitis*. Los resultados fueron los siguientes (cuadro 1). (Bautista y col., 2001).

	Cuidad de mexico			Huachi., Puebla			Cunduacán Tabasco *				
	QBC	FGS	OD	QBS	FGS	OD	QBS	FGS	OD	IFI	ELISA
Positivos	0/48	0/48	0/48	12/31	10/13	2/31	11/15	9/15	5/15	10/15	11/15
Total (%)	(0)	(0)	(0)	(38.7)	(32.3)	(6.4)	(73.3)	(60)	(33.3)	(66.6)	(73.3)
Negativos	48/48	48/48	48/48	19/31	21/31	29/31	4/15	6/15	10/15	5/15	4/15
Total (%)	(100)	(100)	(100)	(61.3)	(67.7)	(93.6)	(26.6)	(40)	(66.6)	(33.3)	(26.6)

Cuadro 1.- comparación de las pruebas de QBS, FGS y OD para detectar infección por *Dirofilaria immitis* en muestras sanguíneas de 96 perros de tres áreas geográficas de México.

* En este municipio, edemas de las otras pruebas, también se evaluaron la prueba de IFI y ELISA (Bautista y col., 2001).

En el sureste de Italia se realizó un estudio de prevalencia y de análisis de riesgo de filariosis en perros. El estudio fue realizado por una campaña en la región sureste de Italia, en 51 municipios contiguos (2180 K2). En ellos encuentran lagos y pequeños ríos, en esos municipios fueron recolectados 351 muestras de sangre de perros, entre mayo de 1990 y junio del 2000. Los perros fueron seleccionados por veterinarios, estos fueron recolectando de 3-5 ml de sangre y depositadas en tubos para muestras con anticoagulante (EDTA), posteriormente fueron refrigeradas. Adicionalmente cada perro contaba con su registro (edad, sexo, peso, tipo de pelo y su labor zootécnica). Las muestras fueron enviadas a la Universidad de Nápoles para su estudio, utilizando la técnica de knott modificada. Los resultados proporcionados por la Universidad fueron los siguientes, de las 351 muestras, en 63 (17.9%) se detectaron microfilarias (cuadro 2) 68 de *Dipetalonema reconditum*, 7 de *D. Repens* y 2 de *Dirofilaria immitis* (Cringoli y col. 2001).

En los municipios del Salvador, Bahia y Lauro de Freitas en Brasil, se realizó un estudio para determinar la incidencia de *Dirofilaria immitis*, se utilizaron 613 muestras de sangre de caninos con edades de 6 meses a 14 años, siendo 307 muestras de machos y 306 de hembras criados en los municipios ya mencionados, fueron atendidos en los hospitales de medicina

veterinaria de la Universidad Federal de Bahía desde febrero de 1990 hasta septiembre de 1996, se le retiro a cada canino 3 ml de sangre y posteriormente fueron recolectadas en tubos con anticoagulante (EDTA). Las muestras de cada animal fueron analizadas en el laboratorio de diagnostico de parasitología animal del hospital de la Universidad Federal de Bahía, por la técnica directa para verificar la presencia de microfilarias, por medio de sus movimientos ondulares y por la técnica de KNOTT, para identificar y diferenciar de las microfilarias de *Dirofilaria immitis*. Para los resultados los caninos fueron agrupados de acuerdo con la edad, sexo, raza y tipo de pelo. Los resultados fueron los siguientes de 613 muestras de sangre examinada 64 (10.4%) fueron positivas a microfilarias de *Dirofilaria immitis* (cuadro 2). (Almeida y col. 2001).

Factor	No de muestras analizadas	Positivos (%)	Negativos (%)
Edad (años)			
0-2	181	14 (7.7)	167 (92.3)
2-4	165	21 (12.7)	144 (87.3)
4-6	104	9 (8.7)	95 (91.3)
6-8	56	8 (14.3)	48 (85.7)
8-10	55	8 (14.5)	47 (85.5)
+ 10	52	4 (7.7)	48 (92.3)
Sexo			
Macho	307	36 (11.7)	271 (88.3)
Hembra	306	28 (9.2)	278 (90.8)
Características del pelo			
Pelo mediano	135	16 (11.7)	119 (88.1)
Pelo corto	173	30 (17.3)	143 (82.7)
Pelo color claro	171	18 (10.5)	153 (89.5)
Pelo color oscuro	442	46 (10.4)	396 (89.6)
Razas			
Bóxer	23	5(21.7)	18 (78.3)
Cocker Spaniel	29	2 (6.9)	27 (93.1)
Doberman	48	6 (12.5)	42 (87.5)
Dogo Alemán	26	8 (27.4)	21 (72.4)
Fila Brasileiro	49	7 (13.3)	42 (85.7)
Pastor	90	12 (13.3)	78 (86.7)
Rottweiler	13	2 (15.4)	11 (84.6)
Pequines	16	2 (12.5)	14 (87.5)
Pincher	11	2 (18.2)	9 (81.8)
Otros	116	1 (0.9) **	115 (99.1)

Beagle, Fox terrier, Labrador, Yorkshiere, Weimaraner, ** Samoyedo

Cuadro 2.- resultados de Dirofilariasis en los municipios del salvador, Bahía y Lauro de Freitas en Brasil (Almeida y col., 2001).

En la capital del estado de Pernambuco al Noreste de Brasil se estudio un área de 209 Kilómetros cuadrados para determinar la incidencia de *Dirofilaria immitis*. Los estudios fueron realizados con 611 perros mayores de un año de edad a partir de agosto de 1996 hasta febrero de 1998, las muestras sanguíneas fueron colectadas en tubos con EDTA, todos los perros fueron sacrificados, administrando por vía intravenosa barbitúricos para posteriormente realizar la necropsia. La sangre fue examinada por la técnica de KNOTT modificada para demostrar la evidencia de microfilarias. También fue analizada la sangre por la técnica de ELISA. Los resultados fueron los siguientes: De un total de 611 muestras 40 (6.6%) fueron positivos a *Dipetalonema reconditum* y 4 (0.7%) positivos a *Dirofilaria immitis*. En los exámenes de necropsia fueron identificados 14 perros con parásitos adultos (Cámara y col. 1999).

En la zona sur de la ciudad de México (Xochimilco) se realizo un estudio para determinar la presencia de *Dirofilaria immitis* en perros. Se realizo el muestreo con 100 perros de diferentes clínicas veterinarias de Xochimilco. A cada ejemplar se le tomaron algunos datos como referencia (edad, nombre, color, tamaño de pelo y talla), se obtuvo por cada ejemplar 3 ml de sangre, para inmediatamente transferirlos a los tubos de vacutainer, con anticoagulante y sin anticoagulante. Las muestras se conservaron en refrigeración hasta su evaluación en el laboratorio del departamento de diagnostico clinico de la UNAM. Se emplearon las técnicas de Difil-test, ELISA y concentración en tubo capilar, empleando en el caso de Difil-test y el de ELISA estuches comerciales de diagnostico y siguiendo las especificaciones del fabricante, dando como resultado de los 100 perros (60 machos y 40 hembras) que ninguno fue positivo a *Dirofilaria immitis*. Conclusión con respecto a los resultados, es que esto podría deberse a propietarios que de cierta manera cuidan a sus mascotas (Miranda y col. 2000).

IV. DEFINICIÓN.

La *Dirofilaria* es una infección causada por la presencia de nematodos del genero *Dirofilaria immitis*, dañando el lado derecho del corazón y las arterias pulmonares provocando grandes problemas de circulación e interfiriendo el paso normal de sangre en perros y otros caninos (Miranda y col., 2000; Gomez y col., 1999; Garcia y col., 2000).

V. SINONIMIAS

La dirofilariasis es conocida como enfermedad del gusano del corazón del perro, y filariasis cardiopulmonar en perros (Bautista y col., 2001; Riache y col., 2001).

VI. DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA

Tiene una distribución cosmopolita, la dirofilariasis ha sido denunciada en casi todo las zonas templadas y calidas del mundo. Pero también es común en muchas áreas de altas elevaciones y latitudes, incluyendo Japón, algunas partes de Australia, Norte América y Europa. En Estados Unidos de Norte América en el Sudeste en la costa del Atlántico, en el río missisipi, Nueva Jersey y Texas. Pero el parasito se esta adaptando a zonas de clima continental, en la que su transmisión se limita a las estaciones templadas y calidas. Los vectores necesitan zonas encharcadas para el desarrollo de sus larvas, por lo que la dirofilariasis se limita en su distribución a zonas con humedad constante (Cuencas de ríos, áreas con abundante vegetación, cultivos de riego). En México existe una prevalencia que va del 1.4% hasta 97% dependiendo el lugar geográfico (Miranda y col., 2000; Gómez y col., 1999: García y col., 2000).

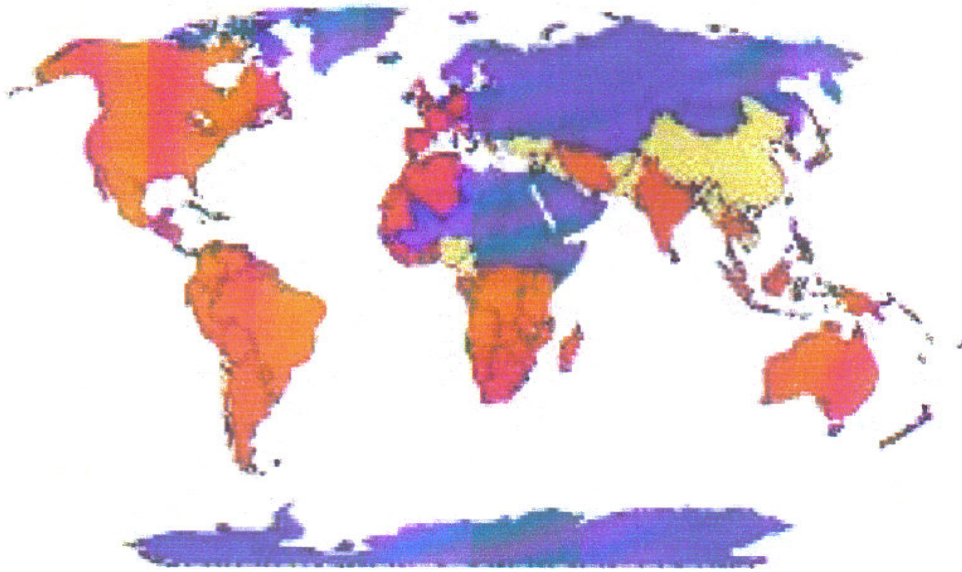


Fig. 2 La incidencia de *Dirofilaria Immitis* en casi todo el Mundo.

- La distribución del parásito ocurre en estas áreas mostradas en rojo.
- Probablemente el parásito ocurra en áreas mostradas en amarillo.
- El parásito no está presente en áreas mostradas en azul.

(Imagen original de la Compañía de Cirugía Animal de Singapur, 2002).

VII. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

Se describe la clasificación taxonómica de la siguiente manera (Acevedo y col., 1988).

Reino:	Animal.
Sub reino:	Metazoarios.
Phylum:	Nelmathelmintes.
Clase:	Nematoda.
Orden:	Spirurida.
Superfamilia:	Filaroide.
Familia:	Filariode.
Genero:	<i>Dirofilaria</i> .
Especie:	<i>Immitis</i> .

7.1 Etiología

La dirofilariasis es una enfermedad parasitaria transmitida por diferentes especies de culícidos (*Aedes*, *Anopheles* y *Culex*) y causada por *Dirofilaria immitis* (Riache y col., 2001; Owen y col., 2000).

VIII. MORFOLOGÍA:

Dirofilaria immitis es un onchocercidae delgado, de color blanco, boca pequeña y con labios, cápsula bucal rudimentaria sin faringe y esófago. Los machos se distinguen de las hembras por su menor tamaño y por su extremo posterior termina en espiral. Miden de 120 – 200 mm de longitud 0.7 – 0.9 mm

de ancho, presentan aletas caudales pequeñas. Las hembras miden de 250 – 310 mm de longitud 1.0 – 1.3 mm de anchura, el extremo caudal es redondo y no está enrollado en espiral. Las hembras son ovovíparas y eliminan a la circulación larva (microfilarias) de 218 – 340 μm por 4.5 – 7.3 μm (Gómez y col., 1999).

IX. CICLO BIOLÓGICO

En el ciclo biológico interviene un mosquito culícido, que ingiere las microfilarias al alimentarse, las cuales pasan desde el intestino medio a los tubos de Malpighi, donde mudan y alcanzan la fase infestante (L1, L2. L3). La L3 emigra hasta las piezas bucales, donde permanecen hasta ser depositadas, justo con la hemolinfa, en la piel, cuando el mosquito se alimenta de nuevo (Gómez y col., 1999; Nayar y col., 1999).

El desarrollo completo en el vector requiere de 2 semanas a temperatura ambiente superior a 16 °C, en los trópicos o en la época de verano, el proceso solo tarda 8-10 días. Las larvas infestantes pueden sobrevivir en el mosquito a temperaturas extremas, factor de gran importancia epidemiológica (Gómez y col., 1999).

Las larvas adheridas a la piel y protegidas por la hemolinfa del mosquito penetra a través de la solución de continuidades producida por la picadura del mosquito, mudan a los 3-4 días a la L4 y realizan una emigración subcutánea torácica. Después de 50 – 70 días mudan por cuarta y última vez a L5 0 preadultos (Fig 3). Estos vermes tienen una gran movilidad y capacidad de penetración en los distintos tejidos antes de su asentamiento definitivo en la arteria pulmonar. Por ello, son frecuentes las localizaciones ectópicas (bazo, cámara anterior del ojo, arterias del cerebro, arterias de las extremidades posteriores). Entre los 70 – 110 días pos infección se encuentra en la musculatura esquelética. Los parásitos, que miden 2 – 3 cm, llegan al corazón por la circulación venosa y pasan a las arterias pulmonares, donde se asientan definitivamente. Cuando la infección es muy elevada, también puede

localizarse en el ventrículo y la aurícula derecha, vena cava y hepática. Después de 3 meses, aproximadamente, alcanza la madures sexual. La prepotencia dura como mínimo 6 meses. Los adultos pueden vivir de 5 a 7 años (Gómez y col., 1999).

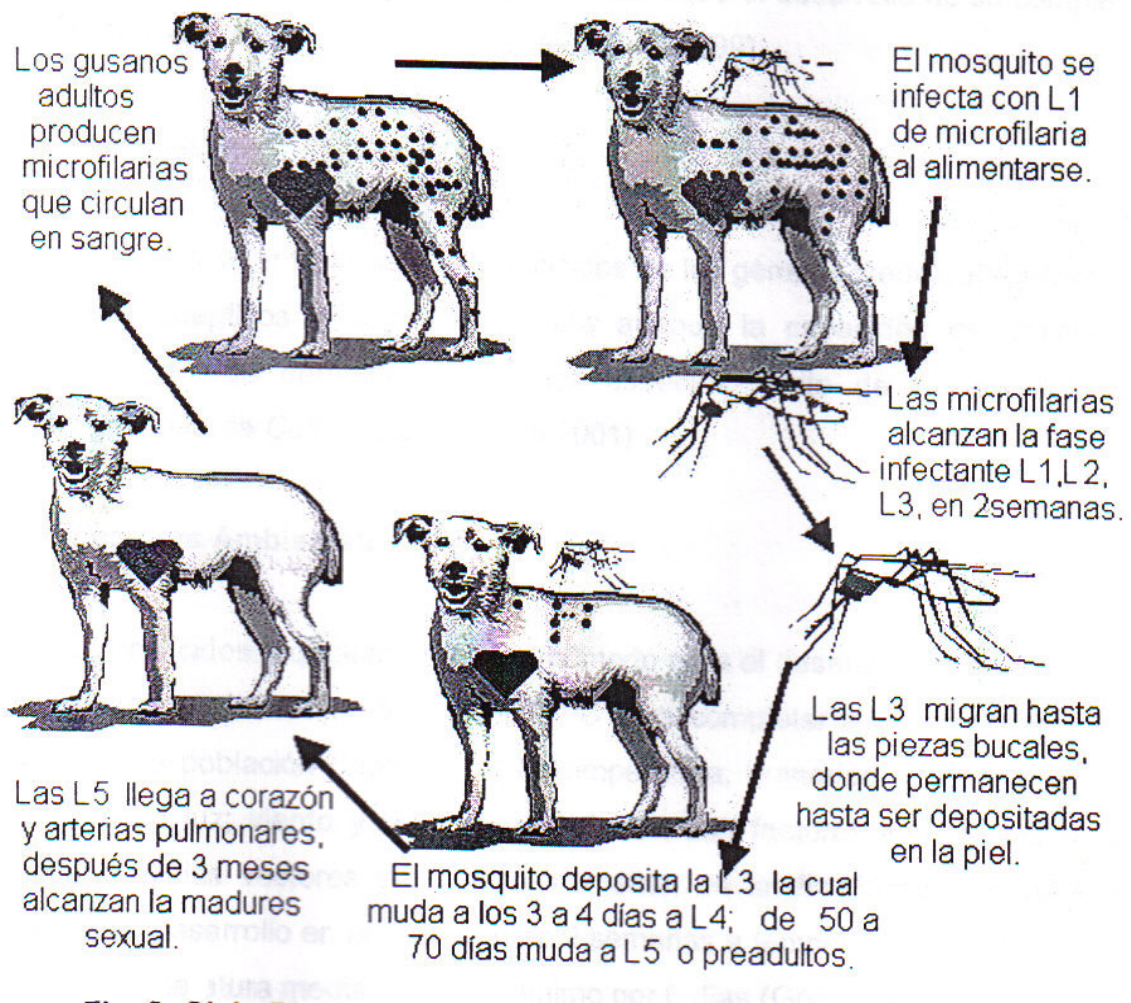


fig. 3 ciclo biológico de *Dirofilaria immitis* (Imagen original de la Campaña de Cirugía Animal de Singapore, 2002).

X. EPIDEMIOLOGIA

10.1 Reservorios.

El principal hospedador definitivo y reservorio de la dirofilaria es el perro, aunque también puede tener un papel importante en la transmisión otros cánidos, principalmente lobos, zorros y coyotes (Miranda y col., 2000).

Otros hospedadores definitivos alternativos son los felinos, principalmente el gato, los mustélidos (el hurón) y el león marino de California, en los que hay desarrollo completo del parásito. El hombre, algunos felinos silvestres, el oso y el mapache son hospedadores accidentales, en los que el desarrollo no se completa y la infección cursa sin microfilarias (Gómez y col., 2001).

10.2 Vectores.

Al menos setenta especies de culícidos de los géneros *Aedes*, *Anopheles* y *Culex* son receptivos a *Dirofilaria immitis* aunque la capacidad de transmitirla solamente ha sido demostrada en diez especies: siete de *Aedes*, dos de *Anopheles* y uno de *Culex* (Riache y col., 2001).

10.3 Factores Ambientales.

Los culícidos requieren un medio húmedo para el desarrollo de sus larvas y temperatura medias superiores a los 14 °C para completar su ciclo biológico. El tamaño de la población depende de la temperatura, humedad relativa, lluvias e intensidad de luz; viento y la intensidad de la luz son factores importantes en la dispersión de los vectores y consecuentemente, en la dirofilariasis. El parásito completa su desarrollo en el mosquito en 2 semanas a temperaturas de 14 a 16 °C y una temperatura media de 25°C mínimo por 6 días (Gómez y col., 1999).

XI. PATOGENIA

La patogenia de la enfermedad y la gravedad es atribuible a los vermes adultos que ejercen importante acción mecánica por obstrucción, principalmente en el corazón derecho y en la arteria pulmonar inferior con el paso normal de la sangre y el cierre normal de las válvulas (Miranda y col., 2000).

La alteración más significativa es la hipertensión pulmonar, debido a las alteraciones del endotelio de los vasos dando lugar a endarteritis y endocarditis son hipertrofia compensadora. La pared deja de ser lisa y blanca y presenta aspecto rugoso y tonalidad púrpura, a causa de la proliferación de la íntima, se produce endarteritis pulmonar, aterosclerosis o hiperplasia que presentan todos los perros con dirofilariasis, a consecuencia de la respuesta de la arteria a la presencia del parásito, en la enteritis. Las células endoteliales de la íntima están engrosadas y las uniones intercelulares ensanchadas y con aspecto surcado ya a los 3 días de la implantación del parásito (Gómez y col., 1999; Seavers y col., 1998).

A la superficie de este endotelio alterado se adhieren macrófagos y neutrófilos que penetran en las uniones intercelulares. Esta alteración provoca la activación y adhesión de las plaquetas y aumento de la permeabilidad del endotelio lo que permite el paso de albumina y líquidos plasmáticos, hacia el espacio perivascular, provocando edematización en las arterias. Cuando se presentan lesiones vasculares y abundante infiltración de células de células plasmáticas y eosinófilas, está presente la neumonitis intersticial. En otros casos no se presentan signos de hipertensión pulmonar, la presión sanguínea se mantiene elevada y aparecen signos de hipertensión el animal puede sufrir insuficiencia cardíaca (Gómez y col., 1999; Quiroz., 1999; Trigo., 1998).

La falla congestiva derecha del corazón, se presenta en infecciones masivas y animales sometidos al ejercicio. La presencia del parásito adulto en

el, con un incremento de la resistencia de la sístole. Este factor, mas la hipertensión pulmonar inducida por la esclerosis de la arteria pulmonar, causan deterioro de la contracción miocárdica. El trabajo del corazón esta aumentado pero hay un desequilibrio entre el trabajo y el daño cardiaco (Gomez y col., 1999).

El mecanismo compensatorio es la hipertrofia, el volumen adicional de sangre produce congestión. Como consecuencia hay incremento en el tamaño de hígado con ascitis además de congestión de bazo y pulmones. La falla hepatica o síndrome de la vena cava, su presenta en animales muy jóvenes (menos de 3 años) y corresponde a la presencia de mas de 100 vermes adultos, los signos mas importantes se deben a las alteraciones hepáticas. La presencia del parasito en el atrio derecho, vena caudal y en ocasiones venas hepáticas provoca obstrucción del flujo sanguineo, principalmente en torno a la válvula tricúspide. La presión venosa central se eleva considerablemente y al higado sufre una fuerte congestión y dilatación de los sinusoides (Gómez y col., 1999; Quiroz., 1999).

La disfunción hepática es apreciable por la elevación de todos las enzimas hepáticas y de bilirrubina en sangre. El hígado no puede esterificar el colesterol, los glóbulos rojos son muy frágiles y se rompen al contacto con los vermes. La hemólisis es constante y el hígado no metaboliza toda la hemoglobulina por la que se produce hemoglobinemia y hemoglobinuria. Los riñones presentan importantes alteraciones, derivadas fundamentalmente de la forma de inmunocomplejos. Casi todos los perros presentan glomerulonefritis membranosa por engrosamiento de la membrana basal de los capilares glomerulares. Esta glomeropatía es debida a la adhesión de los complejos inmunitarios, en los que están implicados los antígenos circulantes solubles de los parásitos adultos y de las microfilarias, las Inmunoglobulinas G (IgG) e Inmunoglobulinas M (IgM) y el complemento (C) la glomerulonefritis puede dar paso a una nefritis grave con proteinuria (Gómez y col., 1999; Quiroz., 1999; Trigo., 1998).

XII. LESIONES

La dirofilariasis afecta principalmente el lado derecho del corazón y la arteria pulmonar provocando graves problemas de circulación e interfiriendo con el paso normal de la sangre y cierre de las válvulas cardíacas (Fig. 4), los perros con dirofilariasis oculta suelen presentar lesiones renales, afectando otros órganos como: hígado, bazo, cámara anterior del ojo y arterias del cerebro (Miranda y col., 1999; Trigo., 1998).

Las lesiones que se observan al principio hay dilatación del corazón con endocarditis del lado derecho, en la hipertensión pulmonar que producen los parásitos adultos, hay una fibrosis difusa ínter alveolar de los pulmones; en los vasos sanguíneos causan extensa arteriosclerosis, en arterias pequeñas tienen hipertrofia y engrosamiento endotelial y edemas arteriales en el parénquima pulmonar suelen presentar infiltración de células plasmáticas y eosinófilos, fibrosis de la íntima y engrosamiento de la túnica media, algunos bronquiolos presentan hipertrofia muscular, fibrosis intersticial y hemosiderosis pulmonar (Trigo., 1998).

En la neumonitis intersticial hay lesiones vasculares, parénquima pulmonar de bronquiólos. En la endarteritis, los vermes provocan trombos y émbolos a consecuencia de las lesiones vasculares, en perros muy parasitados se presenta insuficiencia cardíaca congestiva derecha, con la consecuente congestión hepática provocando edemas periféricos superficiales y ascitis además puede desarrollarse glomerulonefritis, debido a la deposición de complejo inmunitario (Gómez., 1999; Trigo., 1998).

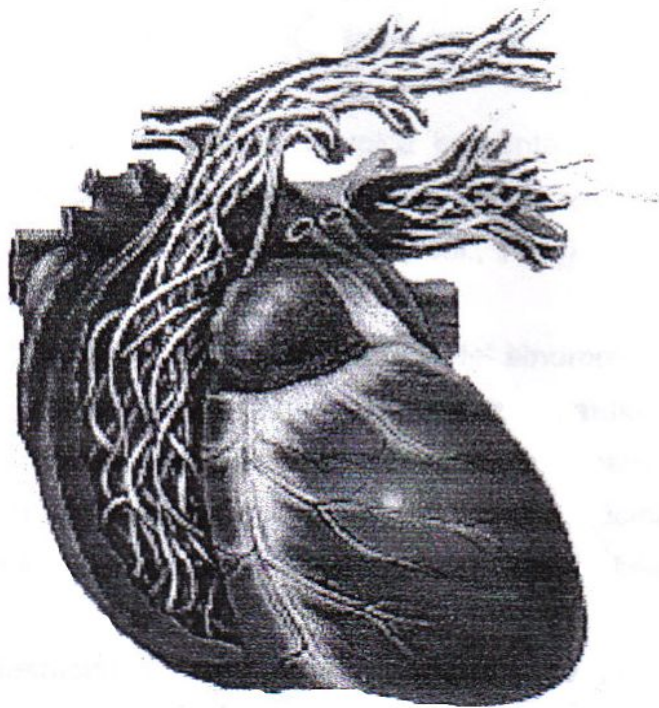


Fig. 4 presencia del parasito adulto en el Corazón.
(Imagen original de la Campaña de Cirugía Animal de Singapore, 2002).

Histológicamente la íntima tiene un aspecto villiforme, las arterias de los pulmones tiene trombosis por microfilarias y los alvéolos están ocupados por un fluido edematoso; hay fibrosis en el tejido ínter alveolar, hay congestión pasiva de hígado y riñones, con aumento de tamaño y cianosis en el bazo (Gómez y col., 1999; Quiroz., 1999; Seavers y col., 1998).

XIII. SEMIOLOGÍA

Los signos de hipertensión pulmonar mas frecuente son tos, disnea y epistaxis, enfermedad arterial pulmonar grave y complicaciones tromboembólicas (Gomez y col., 1999; Calvert., 1996; Samano y col., 1996).

Los animales con neumonitis alérgica presentan signos de enfermedad crónica, la tos es seca e intermitente la disnea va asociada a crepitaciones (Gomez y col., 1999; Calvert., 1996; Samano y col., 1996).

La forma mas frecuente de presentación del síndrome de vena cava es la aparición brusca de un choque cardiaco con taquicardia, disnea y colapso, asociados a una hemoglobinuria masiva. En el examen cardiovascular de estos perros se aprecia un pulso yugular sistolico, soplo de insuficiencia tricuspidal y, a veces, taquicardia supra ventricular (gómez y col., 1999; Calvert., 1996).

Las manifestaciones en la existencia del síndrome nefrótico son hipoalbuminemia, ascitis, edema, hipercolesterolemia e hiperazoemia variable (Calvert., 1996).

Los signos radiográficos típicos de la enfermedad incluye agrandamiento del ventrículo derecho, dilatación de la arteria pulmonar principal en el borde craneal izquierdo de la silueta cardiaca ventrodorsal, dilatación de las arterias pulmonares y obstrucción de las arterias pulmonares (fig. 5) (Gómez y col., 1999; Calvert., 1996).



Fig. 5 Signos Observados en Radiografías (Talavera y col., 2001).

Los signos radiográficos típicos de la enfermedad incluyen agrandamiento del corazón derecho (Gómez y col., 1999; calvert., 1996).

XIV. DIAGNÓSTICO

El diagnóstico de la infección por *Dirofilarias* depende de la presencia de microfilarias en sangre periférica, del examen por inmunodiagnóstico positivos en caninos con datos clínicos o radiográficos que coincidan con la enfermedad, o de ambos casos (Calvert., 1996; Rodríguez y col., 1994).

14.1 Identificación de las Microfilarias

La detección de las microfilarias se realiza en sangre con anticoagulante. Puede intentarse en fresco en una extensión o una gota gruesa, o en preparaciones en seco teñidas con Giemsa (Bautista y col., 2001; Gómez y col., 1999).

La técnica modificada de Knott (metodo de sedimentación) y la filtración a través de membranas de policarbonato de 3 a 5 μm de diámetro de poros son los métodos mas adecuados. El primero tiene una sensibilidad superior al 90% para el diagnóstico de microfilarias (Almeida y col., 2001; Cringoli y col., 2001; Cámara y col., 2001; Gómez y col., 1999).

14.2 Pruebas de inmunodiagnóstico

El inmunodiagnóstico se recomienda en animales con signos clínicos que sugieren la enfermedad, pero con un diagnóstico de filaremia negativo. Se pueden detectar anticuerpos (Ac) o antígenos (Ag) específicos del parásito adulto en ambos casos, mediante pruebas comerciales basadas en el inmunoensayo ligado a enzimas (ELISA) o la aglutinación principalmente (Peribáñez y col., 2001; Miranda y col., 2000; Gómez y col., 1999; Labarthe y col., 1997).

Las pruebas de inmunodiagnóstico son de elección en perros que reciben terapéutica preventiva en forma crónica con ivermectina. Y se recomienda también en caninos que no reciben preventivos (Calvert, 1996).

XV. INMUNIDAD

Los perros cuando son inyectados con microfilarias vivas de *Dirofilarias 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 está comprendida la reacción celular de los constantes asaltos de numerosas microfilarias irradiadas con 20 kilorads o más logrando que no se establezca el parásito en su fase patente en el corazón. La respuesta inmune de estos animales es bastante significativa en la confrontación con lervas normales. El tiempo en que las larvas mueren es el periodo requerido para que aparezca una inmunidad efectiva en el perro coincide con el periodo crítico, de dos y medio a tres meses post infección, cuando muda el cuarto estado larvario y la migración de los adultos jóvenes tiene lugar en el corazón. Estos muestran que los metabolitos de las larvas, fluidos de la muda o la enzima, o ambos, durante la fase de migración, son los inmunógenos funcionales (Gómez y col., 1999; Quiroz., 1999; Hayasaki y col., 2001).

XVI. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

La identificación de las microfilarias se ha basado en datos morfológicos (longitud, anchura entorno al anillo, localización y disposición del poro excretor, poro anal y espacio cefálico), no son fáciles de observar, ni son parámetros

claramente diferenciales de las microfilarias de otras especies del canino (Cuadro 3) (Gómez y col., 1999; Baneth y col., 2002).

ESPECIE	LONGITUD (um)	ANCHURA (um)	OTRAS CARACTERÍSTICAS
D. immitis	306.8 (218-340)	5.9 (4.5-7.3)	Extremo anterior cónico, posterior recto.
D. repens	345.3 (200-360)	6.42 (5-8)	Extremo anterior cónico, posterior recto y largo.
Dip. Reconditum	262.0 (240-293)	4.54 (3.5-6.5)	Extremo anterior globoso, posterior en gancho.
Dip. Dracunculoides	263.5 (145-233)	5.04 (5-6.4)	Cuerpo interno muy patente.

Cuadro 3.- se presentan las características morfológicas de las microfilarias de las cuatro especies de filarias del perro, detectadas por el método de KNOTT modificado (Gómez y col., 1999; Rodríguez y col., 1994).

XVII. TRATAMIENTO.

No existe ningún fármaco simultáneamente eficaz frente a los adultos y estadios larvarios, por lo que es necesario un tratamiento secuencial con diferentes fármacos (adulticida y microfilaricida). Los medicamentos adulticida son hepato y nefrotóxicos, siendo necesarios conocer la funcionalidad de estos órganos antes de su administración. El reposo y empleo de ácido acetil salicílico antes y durante el tratamiento adulticida son aconsejables para evitar complicaciones tromboembólicas. El tratamiento debe evitarse en caso de falla cardíaco congestivo, síndrome de la vena cava, neumonitis alérgica, cirrosis hepática y neuropatía con proteinuria (Gómez y col., 1999).

17.1 Tratamiento sintomático.

Si el canino muestra signos de enfermedad vascular o hipertensión pulmonar grave, se recomienda el tratamiento previo con ácido acetil salicílico a una dosis de 5mg/Kg/pv durante 7 a 14 días, hasta por 3 a 4 semanas postratamiento adulticida (Gómez y col., 1999).

Si muestra signos de insuficiencia cardíaca congestiva, se administrarán diuréticos como la furosemida a razón de 3 a 5 mg/Kg/pv cada 8 horas. También puede administrarse vasodilatadores (Gómez y col., 1999).

17.2 Tratamiento adulticida.

Tiacetarsamida Sódica, a dosis de 2.2 mg/Kg/pv, IV, cada 12 horas durante 2 días seguidos. Conviene dar alimento 30 minutos antes de cada inyección. Si se extravasa es muy irritante y toxico y provoca periflebitis y necrosis de los tejidos blandos, que pueden evitarse aplicaciones en el área de extravasación un diluyente isotónico e inyección en la zona afectada de dexametasona (Gómez y col., 1999; Calvert, 1996).

Dicloruro de Melarsomina, a una dosis de 2.5mg/Kg/pv, dos aplicaciones con un intervalo de 24 horas, deberá administrar intramuscular profunda en los músculos lumbares epaxiales, únicamente. Las aplicaciones pueden causar reacciones secundarias como vómito, letargo y anorexia (Gómez y col., 1999).

Los dos fármacos provienen del grupo arsenical y sus modos de acción de estos dos fármacos son desconocidos, presumiblemente debido al efecto del arsénico (Gómez y col., 1999).

17.3 Tratamiento microfilacida.

Se debe aplicar 4 a 6 semanas después del adulticida, para no añadir posibles complicaciones a los procesos de embolización de los fragmentos de

adultos para la formación de microgranulomas, que también se forman en el hígado y puede potenciar hepatotoxicidad derivada del arcenical. Aunque existe varios fármacos con actividad microfílica, en la actualidad solamente se suelen emplear ivermectina y mibemicina (Gómez y col., 1999; Calvert, 1996).

La ivermectina es eficaz frente a las microfilarias en circulación sanguínea y en útero a las dosis de 50 mg/Kg/pv, subcutánea o Via oral. Los efectos adversos son infrecuentes y parecen ser debidos a la muerte de gran cantidad de microfilarias, rescicon generalizada que se manifiesta con depresión y anorexia o hipertensión y choque (Gómez y col., 1999; Calvert, 1996).

Milbemicina es un microfilaricida a las dosis de 0.5 mg/Kg/pv. Los efectos secundarios son debidos a la muerte de gran cantidad de microfilarias. Puede apreciarse colapso circulatorio 6 a 8 horas postratamiento. Puede presentarse también anorexia y letargo a las 24 horas de la aplicación. (Gómez y col., 1999; Calvert, 1996).

XVIII. PREVENCIÓN.

El tratamiento preventivo se debe realizar desde el comienzo de la época de vuelo de los mosquitos vectores hasta 1 a 2 meses después de su desaparición. En este periodo pueden ser muy diferentes unas zonas a otras, en la actualidad se encuentran una amplia selección de tratamiento preventivos (cuadro 4) (Gómez y col., 1999).

ANTIHELMÍNTICOS	DOSIS	INTERVALOS	PRESENTACIÓN
Dietilcarbamicin	5.5-6.5 mg/Kg	Diaria	Tabletas
Ivermectina	6-12 mg/Kg	Mensual	Tabletas, parenteral (SC)
Milbemicina	0.5-1 mg/Kg	Mensual	Tabletas
Moxidectina	3 mcg/Kg	Semestral	Parenteral (SC)
Selamectina	6 mg/Kg	Mensual	Ampolletas tópicas

Cuadro 4.- antihelmínticos aplicados en caninos para la prevención de *Dirofilaria immitis* (Blagburn, 2002; Genchi y col., 2001; Gómez y col., 1999).

Los perros de la raza Collie y otros pastores que son sensibles a la ivermectina a una dosis recomendada como segura, han mostrado no tener reacciones adversas cuando se tratan con la Moxidectina (Genchi y col., 2001).

Algunos de estos productos como el Dietilcarbamicin, Ivermectina, Milbemicina y la Selamectina, además de ser preventivos contra la *Dirafilaria immitis*, actual contra otros parásitos como: *Toxocara canis*, *Ancilostoma caninum*, *Unitaria stenocephala*, entre otros (Blagburn, 2002).

XIX. ZONOSIS Y CICLO DE TRANSMISIÓN

El reservorio principal de *Dirofilaria immitis* es el perro y la transmisión se realiza por mosquitos infectados en general las de especies Aedes que salen por la tarde, Culex que salen en la mañana y Anopheles y donde el hombre solo se infecta de modo accidental. Después que una persona es inoculada por un mosquito con larvas del tercer estadio, la mayoría de ellas mueren en el tejido subcutáneo y embolizan hacia el pulmón con liberación de anfitígenos produciendo, endarteritis y del consecuente infarto pulmonar distal, lo que explica que las lesiones sean en su mayoría subpleurales, sin embargo alguno puede escaparse del tejido subcutáneo sobre todo en las infestaciones repetidas, siguiendo su desarrollo y emigrando hacia arterias pulmonares, donde puede formar un nido trombotico que causa oclusión vascular, coagulación, necrosis y fibrosis. No causa filaremia en humanos. Los síntomas son: dolor retroesternal durante un mes, tos, hemoptisis, fiebre, malestar y escalofríos. La eosinofilia es poco frecuente. Se observa una lesión nodular y circunscrita (forma moneda) de 1 a 4 cm de diámetro que se identifica en radiografía del tórax (Riache y col., 2000; Meneses y col., 2000; Parker y col., 2000; Meter y col., 2000).

En Estados Unidos de Norteamérica se han reportado 118 casos de dirofilariasis pulmonar en humanos por *Dirofilaria immitis*, hasta el 2002, la mayoría provenientes del sureste, 20 de Australia y 10 casos de Japón (Meneses y col., 2000; Blagburn., 2002).

XX. JUSTIFICACIÓN

Es muy importante el conocimiento de la prevalencia de la enfermedad en caninos del municipio de Matamoros, Coahuila México, ya que ha habido reportes en otros países sobre la transmisión del agente etiológico hacia el humano, de tal manera que la utilidad de la presente investigación radica en monitoreo un grupo de perros para determinar el riesgo que pueda ocurrir de contagio tanto para los perros y gatos como para el hombre.

XXI. OBJETIVOS

21.1 Objetivo general.

Detectar la presencia de antígenos de *Dirofilaria Immitis* en caninos en la ciudad de Matamoros, Coahuila Mex.

21.2 Objetivo específico.

Diagnosticar por el método de Inmunoensayo ligado a enzimas (ELISA), antígenos de *Dirofilaria immitis*, causantes de la enfermedad filariasis canina.

XXII. MATERIAL Y METODOS.

Se trabajo con 30 muestras de sangre completa extraída de 30 caninos diferentes, al azar. El procedimiento fue de la siguiente manera, se tomo una muestra sanguínea del tubo vacutainer con anticoagulante EDTA utilizado la pipeta suministrada y se le agregaron 2 gotas de muestras (sangre completa) al tubo para la muestra (vial), se agregaron 5 gotas de conjugado (Ag/Ac) al

tubo para muestra que contiene la sangre, manteniendo el frasco del conjugado en posición vertical para un goteo preciso, se tapó el tubo de la muestra, suavemente invirtiendo de 3 a 5 veces (Fig. 6). Se mezcló bien.



Se colocó el dispositivo sobre una superficie plana, posteriormente se agregó el contenido completo del tubo al pozo para la muestra, a continuación la muestra pasó por la ventana de resultados y llegó al círculo de activación en aproximadamente 30 segundos a 2 minutos (puede quedar un poco de muestra en el pozo para la muestra, pero no se altera el resultado) (Fig. 7).



Cuando apareció el color por primera vez en el círculo de activación se oprimió firmemente el activador hasta que quedara el ras con el cuerpo de dispositivos. Algunas muestras podrían no fluir al círculo de activación en 2 minutos y, por lo tanto, el círculo podría no tornarse de color en 2 minutos. En este caso se oprime el activador después de que la mezcla haya fluido por la ventana de resultados (Fig. 8).



Por ultimo se espero el resultado alrededor de un tiempo de 8 a 10 minutos y se interpreto el resultado final (Fig. 9), comprobándolo con la hoja de resultado que cita el proveedor del producto.



XXIII. RESULTADOS.

De las 30 muestras de sangre recolectadas al azar de diferentes caninos de la Ciudad de Matamoros, Coahuila México, 7 (23.3 %) fueron seropositivos a antígenos de *Dirofilaria Immitis* y 23 (76.66) negativas, en el cuadro 5 se cita el sexo, edad y raza de los caninos muestreados.

Factor		No	No casos positivos (%)
Sexo	Total	30	7 (23.3)
	Macho	11	4 (36.36)
	Femenino	19	3 (15.78)
Edad	0-2	14	0 (0.0)
	2-4	10	5 (50.0)
	4-6	2	0 (0.0)
	6-8	1	1 (100.0)
	8-10	1	1 (100.0)
	10-12	1	0 (0.0)
	12-	1	0 (0.0)
Raza	Pitt Bull Terrier	3	1 (33.33)
	Labrador	4	1 (25.0)
	Dálmata	1	0 (0.0)
	Pastor Australiano	3	0 (0.0)
	Poodle	2	1 (50.0)
	Boxer	1	0 (0.0)
	Rottweiler	5	1 (20.0)
	Pastor Alemán	4	1 (25.0)
	Cruzas	7	2 (28.57)

Cuadro 5.- caninos positivos a antígenos de *Dirofilaria immitis* en la Ciudad de Matamoros, Coahuila, México.

XXIV.DISCUSIÓN

De acuerdo a Miranda y col. (2000), la prevalencia de la *Dirofilariasis* canina depende de la densidad de mosquitos del género *Culex*, *Anopheles* y *Aedes*, transmisores de la enfermedad de acuerdo al número de picadura que ellos puedan efectuar, los parásitos adultos debido a su localización en el lado derecho del corazón provocan problemas circulatorios. Esta enfermedad puede ser asintomática, se presenta con mayor frecuencia en machos que hembras con una relación 4:1. La conclusión de este trabajo indica que los caninos muestreados no presentaron ningún signo ya que se puede encontrar parásitos adultos y pueden pasar desapercibidos durante años. El empleo de la técnica de Inmunoensayo ligado a enzimas de (ELISA) sirve para identificar antígenos del parásito de *Dirofilaria immitis* en perros y debe ser empleada como una técnica de diagnóstico. Es necesario dar a conocer la gran importancia de zoonosis que pueda presentarse en lugares endémicos. De acuerdo al cuadro 5, se concluye que la edad de 2 a 4 años es de alto riesgo para adquirir la enfermedad, esto probablemente está relacionado al vigor de los mismos, también encontramos en el mismo cuadro que en las razas criollas hay más positivas y esto se puede atribuir a que la mayoría de estas mascotas duermen a la intemperie. Es conveniente, realizar más trabajos que contrasten su valor diagnóstico con relación a otras técnicas.

Sería interesante realizar estudios de positividad humana en México para determinar la prevalencia del parásito y su distribución epidemiológica.

LITERATURA CITADA.

1. Acevedo A., Romero E., Quintero T., Manual de practicas de parasitologia y enfermedades parasitarias. 1ª Ed. Universidad Nacional Autonoma de Mexico, DF. p: 160-163.
2. Almeida M., Barros M., Santos E., Ayres M., Guimarae J., Gondim L., 2001. Parasitum of dogs with microfilarie *Dirofilaria immitis* influence of breed, sex and age. Departamento de Medicina Veterinaria Preventiva.
3. Associati3n Medical Veterinary American., 1997. Heartworm Disease, A Deadly Threat to Your Dog. p: 1-2.
4. Avila A., 1993. identificaci3n de las especies de mosquitos (D6iptera: Culicidae) en la Comarca Lagunera. Tesis. Universidad Autonoma Agraria Antonio Narro Unidad Laguna. p: 43 .
5. Baneth G., Valansky Z., Anug Y., Favia G., Bain O., Goldstein R., Harrus S., 2002. *Dirofilaria repens* infection in dog: Diagnosis and treatment with melarsone and doramectin. School of Veterinery, Rehovot, Israel. Veterinary Perasitology. 105: 173-178.
6. Bautista C., Arroyo M., Velasco O., Canto L., 2001. Comparaci3n de las pruebas quantitative buffy cat, frotis grueso de sangre y observaci3n directa para el diagn3stico de la infecci3n por *Dirofilaria immitis* en perros de 3 zonas geogr3ficas de M6xico. Departamento de parasitolog6a, Instituto Politecnico Nacional. Veterinaria M6xico. 32 (2):153-155.
7. Blagburn B.,2002. Emerging issues heartworm disease. Dvm in focus. A supplement to Dvm newmagazine. P: 48-52

8. Calvert., 1996. Dirofilariasis, sistema cardiaco pulmonary en annual clinico de pequeñas especies. Brichard S., Sherding R., Edit. McGraw-Hill Interamericana México. Secc. 6. cap. 10. p. 579-586.
9. Camara L., Vaina L., Aparecida M., Wilson J., Wolmer N., Sanchez M., 1999. Survey of Heartworm in the city of Recife, Pernambuco, Brazil. Departamento de Medicina Veterinaria, Universal Federal Rural de Pernambuco. Brazil. 94 (5): 587-590.
10. Cepeda H., Delgado GR., 1995. Infeccion por gusano del corazon canino en Toraon Coahuila. Memorias del IV congreso de la Sociedad Mexicana de Patologos Veterinarios. Toluca, Estado de México. P. 59.
11. Compañía de Cirugía Animal de Singapore. 2002. Tópicos de salud. <http://comvet.com/>.
12. Compañía de Cirugía Animal de Singapore. 2002. Tópicos de salud. <http://www.biosci.ohio-state.edu/-parasite/distributios/dirofilaria>.
13. Cringoli G., Rinalde V., Capella G., 2001. A prevalence survey and risk análisis of filariosis in dogs from the Mt. Vesuvius area of southern Italy.. Veterinary parasitology. Vol. 102: 243-252.
14. Garcia L., Ruelas R., Vazquez J., Farias R., 2000. Hallazgos anatomopatologicos de Dirofilaria canina, en el estado de Colima. Memorias del IX Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Patologos Veterinarios. Gomez Palacio, Durango. P: 39-40.
15. Genchi C., Kramer L., Mortalito M., Genchi M., Venco L., 2002. Eficacia Della moxidectina in formulacione iniettable nella profilassi Della filariosi cardiopulmonare (*Dirofilaria immitis*) del canino. Suplemento a Veterinaria Anno. 16 (1): 21-24.

16. Genchi C., Poglayen G., Kramer L., Venco L., Agostini A., 2001. Efficacy of moxidectin for the prevention of adult heartworm (*Dirofilaria immitis*) infection in dogs. *Suplemento a Veterinaria Anno*. 43: 139-140.
17. Gomez M., Rojo A., Guerrero J., 1999. Filariatosis parasitosis sistematica en Parasitologia Veterinaria. Cordero C. Edit. McGraw-Hill Interamericana, Zaragoza, España. Cap. 36 p. 679-693.
18. Hayasaki M., 2001. Immunological Analisis of agglutination in *Dirofilaria immitis* Microfilarie. *Jurnal. Veterinary. Medical. Scd.* 63 (8): 903-905.
19. Labarthe N., Almosny N., Guerrero J., Duque A., 1997. Description of the ocurrente of canine dirofilariasis in the stante of Rio de Janeiro. Brazil. *Memorias de Instituto Oswaldo Cruz.* 92 (1): 47-57.
20. Mapas de Mexico de los Estados, regions y ciudades principales de mexico destacando elevación y fronteras por Expedia inc. 2000. Mapa de Coahuila <http://www.mapasde mexico.net/Coahuila-state.shtml>.
21. Meneses A., Perez C., Morales A., Martinez A., Manchedo Y., 2000. incidencia de *Dirofilaria immitis* en perros de la zonas costeras. Comparación de dos tecnicas. Centro de Bioactivos Quimicos, Universidad Central de la Villas, Santa Clara, Cuba. P: 1-5.
22. Miranda L., Reyes F., Nuñez L., Hernandez J., 2000. Determinación de Dirofilariasis en Xochimilco. Clinica Privada Naval Militar. D.F. Mexico. *Rev AMMVEPE.* 11(1): 12-15.
23. Nayar J., Knight W., 1999. Aedes albopict (Diptera, Culicidae) an experimental and natural Host of *Dirofilaria immitis* (Filaroidea: onchocercidae) in Florida, U.S.A., Florida Medical Entomology Laboratory, Universal of Florida. *Journal of Medical Entomology.* 36 (4): 441-448.

24. Owen J., Slocombe D., 2001. Heartworm in dog in Atlantic Canada in 2000. Department of Pathobiology, Ontario Veterinary College, University of Guelph, Ontario. Canada. P: 1-3.
25. Parker B., 2000. Enstity and distribution of *Dirofilaria immitis* (Nematoda: filarioidea) Third-Stage Larvae in *Aedes sollicitans* and *Aedes Taeniorhynchus* (Diptera; culicidae). Departamet of Entomology, North Carolina State University. Raleigh, NC. Journal Medical Entomology. 37 (5): 695-700.
26. Peribañez M., Lucientes J., Arce S., Morales M., Castillo J., Gracia M., 2001. Histochemical Differetation of *Dirofilaria immitis*, *Dirofilaria repens* and *Acanthocheilonema dracunculoides microfilariae* by staining with a comercial Kit, Leucognost-SP, Veterinary Parasitology. Vol . 102: 173-175.
27. Peter J., Skidmore M., Dooley D., Witt L., 2000. Human extrapulmonary *Dirofilaria immitis* in Texas. Departament of Medicine, Division of Infectious Diseases, Huston, Texas: Southern Medical Journal. 93 (10): 173-175.
28. Quiroz H., 1999. parasitologia y enfermedades parasitarias de animales domesticos. 1ª ed. Edit Limusa. México. P. 876.
29. Riache R., Godoy D., Del Cuarto O., 2001. *Dirofilaria immitis* pulmonar. Facultad de Medicina, Correinetes, Argentina. Revista de Medicina (Ba. As.) 59: 218.
30. Rodríguez I., Domínguez J., Solis F., Cob L., 1994. Prevalencia de *Dirofilaria immitis* en perros callejeros de la ciudad de Mérida, Yucatán, México. Veterinaria Mexico. 25 (2) 145-148.
31. Samano R., Najera R., Herrera D., Quiroz E., 1996. Frecuencia de *Dirofilaria immitis* en perros de seis ciudades de México. Veterinaria México. 27 (1): 107-109.

32. Seavers A., 1998. Cutaneous Síndrome Possibly Casued by heartworn infection in dog. Oak Flants Veterinary Clinic, New South Wales. Aust. Vet. 76 (1): 18-20.
33. Talavera J., Fernandez M., Agut A., 2001. Valvulopatía mitral adquirida crónica en el perro: correlación entre estadio clínico funcional (isachc) y signos radiográficos torácicos. <http://www.avepa.org/cientifica/21-02/orig03-b.htm>.
34. Trigo F., 1998. Patología Sistemica veterinaria. 3ª ed. Edit McGraw-Hill Interamericana. Mexico. P: 28-246.