



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

Facultad de Medicina Veterinaria
y Zootecnia

**FRECUENCIA ESTACIONAL DE Dirofilaria immitis EN
PERROS DE LA CIUDAD DE CHETUMAL, QUINTANA
ROO.**

T E S I S
Que para obtener el Título de
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
P r e s e n t a

José Patricio Rivero Medina

Asesores: CC. MVZ Antonio Acevedo H.
Ma. Teresa Quintero M.
Ricardo Navarro Fierro



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

C O N T E N I D O

	PAG.
RESUMEN	1
INTRODUCCION	2
HIPOTESIS	30
OBJETIVOS	30
MATERIAL Y METODOS	31
RESULTADOS	35
DISCUSION	39
CONCLUSION	42
LITERATURA CITADA	43

R E S U M E N

Se examinaron mediante la técnica de concentración en suero - 160 muestras de sangre de perros de la ciudad de Chetumal, para determinar la presencia de microfilarias de Dirofilaria immitis y Dipetalonema reconditum. La muestra fue clasificada - en cuatro categorías de acuerdo con la edad (0-6 meses, 7-12 meses, 13-24 meses y mayores de 24 meses), haciéndose la recolección en dos temporadas del año. (lluvias y secas).

Se encontró una frecuencia global para Dirofilaria immitis de 40% con infecciones en 50 de 120 perros y de 0.6% para Dipetalonema reconditum con infección de 1 de 160 perros. El análisis estadístico (LOGIT) de los resultados evidencia una frecuencia aumentada en relación con la edad: 7-12 meses, 20%; - 13-24 meses, 32%; mayores de 24 meses, 72%. Se detectó una -- elevada correlación entre la talla de los animales y la pre-- sencia de Dirofilaria immitis, perros de talla grande y media na (65%); perros de talla pequeña (5%). El factor estacional-- no demostró tener influencia significativa sobre la frecuen-- cia de la infección, siendo de 21% y 20% respectivamente para la temporada de lluvia y sequía. No se demostró influencia de terminada por el sexo o largo del pelo.

Se concluye que la ciudad de Chetumal es una zona enzoótica - de Dirofilaria immitis.

I N T R O D U C C I O N

La parasitosis cardiovascular del perro ha tenido en los últimos años una gran divulgación por parte de las publicaciones profesionales en Medicina Veterinaria, auge debido al aumento de casos diagnosticados y al mayor conocimiento de esta enfermedad.

El gusano del corazón del perro, Dirofilaria immitis (Leidy, 1856), Raimet y Henry, 1911; es un nemátodo filarioideo descrito por Leidy que lo encontró en el corazón de dos perros en Filadelfia. El perro es la principal especie afectada, aunque ha sido reportado en gato, zorro, lobo, coyote, hurón, mapache, oso, chacal, tigre, leopardo, rata almizclera, león marino (4) y foca (95). Se han descrito infecciones en caballos en Japón y E.U.A. (48,101).

Todas las razas de perros son igualmente susceptibles a la infección no habiendo evidencia de que el pelo largo proteja a los perros de la picadura de los mosquitos (15, 71, 29, 96). Sin embargo, existe una marcada diferencia dependiendo del riesgo de exposición. Se ha encontrado que en perros de trabajo y aquellos criados preferentemente en exteriores, la frecuencia de la infección es mayor que en los perros criados en interiores (29, 15, 73, 74, 22, 76, 85, 71). Se ha reportado que la infección es más común en machos que en hembras (90, 83, 71). Para Welch, esto puede ser debido a diferencias en las respuestas inmunitarias de machos y hembras. (96).

CARACTERISTICAS MORFOLOGICAS.

El parásito adulto es delgado, midiendo las hembras de 25 a 30 centímetros de longitud por 1. a 1.3 mm. de grosor y el macho de 12 a 18 cm. por 0.7 a 0.9 mm. con el extremo posterior fuertemente adelgazado, enrollado en espiral de varias vueltas. El extremo anterior de machos y hembras, es

tá provisto de una pequeña boca orbicular rodeada de seis papilas indistintas. En el extremo posterior, el macho posee varios pares de papilas caudales con espículas desiguales y gubernáculo; en la hembra, el extremo posterior es recto (54). Las hembras son ovíparas y producen microfilarias desprovistas de vaina y de aparato digestivo, que miden de 286 a -- 340 micras (promedio 314) de longitud y 6.1 a 7.2 micras (promedio 6.8), de grosor (4).

LOCALIZACION

Los gusanos adultos se localizan principalmente en las arterias pulmonares y ventrículo derecho. Se ha mencionado también su presencia en vena cava y aurícula derecha, integrando el síndrome llamado de la vena cava. Ocasionalmente se le encuentra en localizaciones aberrantes como en el ojo - (9, 27), causando obstrucciones vasculares en arteria femoral (13) y arteria cerebral media (86), ventrículo cerebral (18), cavidades torácica y abdominal y en granulomas cutáneos (4, 55).

Otra filaria del perro de hallazgo común en nuestro continente es Dipetolonema reconditum (grassi, 1890), que habita en su estado adulto en el tejido subcutáneo del perro y aunque es relativamente inocua, es de interés su mención, ya que parte de su vida transcurre en el torrente sanguíneo - de este, por lo que es necesario hacer la diferenciación morfológica de - ambos parásitos para evitar errores en el diagnóstico. Su período prepa-- tente es de 65 días y su desarrollo en la pulga Ctenocephalides felis a - la fase infectante tarda 7 días (33).

DISTRIBUCION GEOGRAFICA DE D. immitis.

Por tratarse de un parásito de ciclo indirecto, la distribución de la dirofilariosis queda limitada a aquellas regiones que ofrecen las condiciones ecológicas favorables para el desarrollo de los hospederos intermedia

rios y éstas se encuentran en las zonas tropicales, subtropicales y templadas de ambos hemisferios. Sin embargo, esta delimitación no es exacta, ya que se han reportado casos en Alaska y Canadá, por lo que es probable que el padecimiento pueda existir potencialmente en buena parte del continente (98).

La enfermedad está ampliamente difundida en Europa austral, así como en África del norte y África tropical, Australia, La India, el Lejano Oriente, Sudamérica e Islas Caribeñas y del Pácifico (74). En los E.U.A. existen extensas zonas enzoóticas de la enfermedad que en los últimos años - han mostrado tendencia a extenderse e invadir zonas no afectadas. Al parecer, la infección de ser típica de regiones tropicales y subtropicales, se ha adaptado a regiones más templadas (73).

CICLO DE VIDA

Ciclo exógeno

El desarrollo del parásito en el cuerpo del mosquito ocurre después de la ingestión de microfilarias, que en minutos penetran al intestino para migrar a los túbulos de Malpighio en donde se convierten en Larva I, sufriendo un acortamiento y engrosamiento, para adquirir la forma llamada "salchichón", que tiene de 20 a 25 micras de ancho, y ligeramente más de 200-micras de largo,. En esta forma continúa creciendo a lo largo, pudiendo - alcanzar 500 micras. En esta etapa ya es posible diferenciar las estructuras del tracto alimentario y reproductivo. La Larva continúa creciendo -- después de mudar en dos ocasiones, convirtiéndose en Larva III infectante e inicia su migración hacia las partes bucales del mosquito. La larva infectiva mide entre 900 a 1000 micras de largo y 25 a 30 micras de ancho, apareciendo en las partes bucales aproximadamente a las dos semanas después de la ingestión de sangre, con variaciones de 10 días a 3 semanas de bido a factores de temperatura, humedad y especie de huésped (74).

Ciclo endógeno

Habiendo completado su desarrollo, las larvas infectivas, de aproximadamente 1 mm. de largo, migran hacia el aparato bucal del mosquito, el cual abandonarán mediante la ruptura de la proboscis mientras se alimenta de sangre, se ha demostrado experimentalmente que las larvas nunca escapan del mosquito durante la toma de su ración habitual de néctar (6).

Una vez en la piel, penetran por la solución de continuidad hecha por el mosquito o quizás a través de alguna membrana mucosa. Independientemente de la vía de entrada, migran hacia el estrato muscular en donde se localizan para continuar su desarrollo en o sobre la membrana muscular o la subserosa de las venas. La larva crece muy rápidamente durante los siguientes dos o tres meses mudando dos veces, aproximadamente a los 15 y a los 60 días post-infección, convirtiéndose en larva V. Entre 10 y 12 semanas después de la infección, los gusanos inmaduros llegan al ventrículo derecho, midiendo los machos de 3 a 4.5 cm. y las hembras de 3.5 a 6 cm. de largo. Durante los dos o tres meses siguientes, los gusanos crecerán en el corazón derecho y vasos adyacentes hasta alcanzar su talla definitiva (74).

Una vez que las larvas V han llegado al corazón derecho, son impelidas hacia los vasos periféricos de la arteria pulmonar, donde permanecen de 4 a 5 semanas, al cabo de las cuales, retornan al corazón derecho donde acaban su desarrollo (32, 3).

El apareamiento ocurre probablemente antes que las hembras alcancen su plena madurez, pudiendo reconocerse huevecillos fertilizados a los cuatro meses post-infección. La aparición de microfilarias en la sangre, pone fin al período prepatente que hasta el momento no se ha reportado como menor de 6 meses posterior a la picadura infectante (74).

No se ha precisado con exactitud la longevidad de las microfilarias, ha--

biéndose estimado desde meses hasta años. Al parecer, las microfilarias - necesitan un período de algunos días o más de desarrollo fisiológico antes de ser infectivas para los mosquitos y después de 3 a 4 meses, pueden perder su capacidad para desarrollarse en los mismos (74).

Se conoce desde largo tiempo el carácter irregular de las microfilarias - en el torrente circulatorio y su estudio ha llevado a la evidencia de diversas formas de periodicidad. Existe una periodicidad diaria en donde la abundancia máxima se encuentra durante el crepúsculo y la noche, hasta -- aproximadamente las 10 de la mañana. Sin embargo, aún en pleno día, las - microfilarias jamás desaparecen completamente de la sangre por lo que en realidad se trata de una subperiodicidad nocturna (30, 73). Las microfilarias durante el día se localizan esencialmente en los pulmones (74).

Además de la periodicidad nictimeral, las microfilarias siguen una periodicidad mensual de acuerdo a las fases de la luna en la que la máxima concentración se observa en el plenilunio (30). Y una periodicidad estacional, habiéndose reportado de 8 a 30 veces más microfilarias en los meses calurosos (julio y agosto), que en los meses fríos (noviembre a febrero). (73)

Infección prenatal

Aún cuando es posible que una perra infectada en gestación pueda parir cachorros infectados, esto no ha sido reportado hasta la fecha. Sin embargo, las microfilarias de la madre si pueden pasar a circulación fetal en un - corto número y aunque no son infectantes pueden llevar a error en el diagnóstico si se interpreta que el animal tiene gusanos del corazón adultos. (74).

TRANSMISION

A partir de la demostración de Grassi en 1900, de que los mosquitos pueden servir de huéspedes intermediarios de Dirofilaria immitis, y a pesar-

de numerosos estudios en otros artrópodos, no se ha encontrado ningún otro vector hasta la fecha. Han sido involucradas más de 60 especies de mosquitos transmisores en todo el mundo, siendo los géneros más importantes: - Aedes, Anopheles y Culex y en segundo término Mansonia, Psorophora y Coquillettidia (59).

Existen algunos factores que limitan o invalidan la eficiencia de distintas especies de mosquitos como vectores de D. immitis. Se reportan factores genéticos asociados a estados refractarios en algunas cepas de mosquitos. Se ha encontrado que para Aedes aegypti la susceptibilidad a D. immitis está bajo control de un gen simple ligado al sexo, siendo la susceptibilidad recesiva al estado refractario. De esta manera parásitos de poca infectividad únicamente se pueden desarrollar en mosquitos de alta susceptibilidad (92, 64).

La temperatura es un parámetro de mucha importancia para el desarrollo larvario de las microfilarias en el cuerpo del mosquito, encontrándose que el grado del mismo está directamente relacionado con la temperatura, pudiendo se interrumpir el desarrollo a temperaturas bajas y reanudándose al aumentar ésta (24, 53).

Mulhern, investigando tres diferentes cepas de Culex salinarius, encontró diferencias en hábitos alimenticios, así como en la habilidad de transmitir la infección puesto que sólo una cepa fue capaz de hacerlo (67). Igualmente hay diferencias entre diversas especies de un mismo género en su habilidad como transmisores de larvas infectantes, al igual que entre especies diferentes (82, 91, 21).

Las microfilarias ingeridas, pueden ser factores causantes de patología en los mosquitos, e incluso provocar su muerte, de hecho, una especie altamente susceptible resulta un pobre transmisor ya que los daños que provocan las larvas al entrar en las células de túbulos de Malpighio y posteriormen-

te al abandonar estos, les provoca una muerte prematura (102, 40).

Han sido descritas reacciones de defensa inmunitaria en especies Aedes contra formas juveniles en desarrollo de D. immitis, caracterizados por melanización y encapsulación. Las microfilarias son la forma más frecuentemente afectada, la etapa de "salchichón" en segundo lugar y la segunda y tercera etapa en grado menor, sin embargo, nunca son encapsuladas todas las larvas en un sólo mosquito (2, 57, 23).

Existen en fin, factores biológicos y ecológicos que invalidan la eficiencia de un vector dado y si se toma en cuenta que en la naturaleza los mosquitos atrapados en áreas altamente enzoóticas únicamente muestran 1 ó 2 larvas infectivas y raramente 5 en las porciones bucales, se concluye que es necesaria una gran cantidad de mosquitos para que se puedan tener áreas con incidencia elevada en D. immitis (73).

SIGNOS CLINICOS

Los signos clínicos de la dirofilariosis clásica son aquellos de la insuficiencia cardíaca compensada primero y posteriormente descompensada con ésta en diversos órganos y tejidos, resultando en disnea, tos seca productiva, a la auscultación se escuchan estertores crepitantes finos, oliguria, insuficiencia hepática, edemas subcutáneos en miembros posteriores principalmente y ascitis en período terminal. Se pueden presentar fenómenos nerviosos de carácter indirecto como resultado de la insuficiencia cardíaca - tales como la anemia cerebral de esfuerzo, con pérdida súbita de la conciencia o fenómenos de congestión pasiva con producción de edema cerebral dando alteraciones del estado de conciencia (30).

De modo directo, la localización de filarias en los centros nerviosos, pueden dar distintas manifestaciones según su localización y número. Ha sido descrita la obstrucción de la arteria cerebral media derecha, desarrollándose signos clínicos de hemiplegia y parálisis facial parcial (88). Se ha en

contrado en un gato, un caso de hidrocefalia con síntomas nerviosos provocada por la localización en el ventrículo cerebral derecho de una filar^{ia} inmadura (18). Luttgen, describe un caso de parálisis posterior causada por la presencia de D. immitis en el espacio epidural toracolumbar (60)

Existe un síndrome cutáneo que se presenta por la embolización de capilares dérmicos por las microfilarias, formando lesiones pseudoeczematosas - que interesan las regiones de piel fina y a menudo la base de las orejas, caracterizándose por alopecia y prurito (30). Se ha asociado a las microfilarias con una enfermedad cutánea caracterizada por nódulos multifocales pruriginosos con tendencia a ulcerarse (87).

Síndrome de la vena cava

Este síndrome es el resultado de la presencia de una gran cantidad de vermes en la vena cava y aurícula derecha. Se caracteriza por su aparición - repentina con alteraciones generales como debilidad, anorexia y problemas relacionados con insuficiencia hepatorenal aguda como la uremia, bilirubinuria y especialmente hemoglobinuria, considerada como patognomónica para este síndrome y la cual conduce rápidamente a la anemia; igualmente hay - manifestaciones bioquímicas de insuficiencia hepática como el aumento de las transaminasas pirúvica y oxaloacética y disminución en la eliminación de la bromo-sulfo-phtaleína. Este síndrome es pues diferente al síndrome cardiorrespiratorio típico por su carácter súbito y agudo, evolución rápida hacia la muerte y ausencia de dominancia de signos cardiorrespiratorios (30).

Formas aberrantes.

Además de las localizaciones en sistema nervioso, han sido descritas multitud de localizaciones aberrantes que no se manifiestan clínicamente y que únicamente son hallazgos de necropsia: corazón izquierda, aorta, arteria ilíaca, femoral, popítea, testicular y médula osea. Sin embargo, en

ocasiones producen una sintomatología de difícil diagnóstico como la ya - descrita en el síndrome nervioso. Se ha reportado un caso de claudicación posterior asociado a la oclusión de la arteria femoral por gusanos adultos de D. immitis (13). Una de las formas aberrantes más comunes, son las que ocurren en el ojo principalmente en la cámara anterior (9, 27, 74).

PATOGENIA.

Los procesos patológicos asociados a la presencia de gusanos adultos, se - inician con endoarteritis de la arteria pulmonar y sus ramas, y parece ser el resultado de la actividad metabólica de los vermes adultos, no siendo - necesario el contacto directo para producir lesiones en vasos distantes -- (33). La endoarteritis progresa en un engrosamiento rugoso y vellosos de la capa íntima, de tal manera que casi puede obstruir el lumen de sus ramas. El endotelio dañado, provoca la formación continua de émbolos que obstru-- yen las arteriolas y ramas más finas de la arteria pulmonar. Por otra par - te los gusanos muertos naturalmente o aquellos muertos por tratamiento for - man émbolos verminosos aún en las ramas más gruesas de la arteria pulmonar (58). Desde el punto de vista histológico, las proyecciones del lumen con - sisten en un engrosamiento de la íntima causado por proliferación del múscu - lo liso y tejido elástico de la media (85).

Se ha encontrado una relación directa entre la gravedad de las lesiones y el número de vermes presentes (93, 68, 94); así por lo general, en perros ligeramente afectados, las lesiones involucran solamente la porción distal de una arteria lobar. Los que tienen infecciones moderadas presentan lesio - nes en 2 ó 3 arterias lobares y sus ramas primarias. En perros severamente infectados, las lesiones involucran varias arterias lobares y sus ramas pri - marias y secundarias (58).

Por lo mencionado, se observa que la obstrucción de la arteria pulmonar es un hecho frecuente en dirofilariosis canina, sin embargo, el infarto pulmo - nar no es común. Esto se explica por el desarrollo de circulación colateral

a cargo de la arteria bronquial hacia las áreas isquémicas periféricas de los lóbulos (58). Recientemente se ha puesto en evidencia la eventual participación, junto con la arteria bronquial de las ramas esofagianas de la arteria gástrica izquierda, en el desarrollo de la circulación colateral-pulmonar (94). Se ha determinado mediante estudios angiográficos, que la aparición de la circulación colateral pulmonar ocurre durante el primer año de la infección.

El engrosamiento de la íntima aunado a la falta de elasticidad, resulta en aumento de la presión en la arteria pulmonar principal, el corazón derecho y la vena cava. La presencia física de parásitos adultos no juega un papel importante en la génesis de hipertensión al obstruir el libre flujo de la sangre (80).

Además de las alteraciones hemodinámicas que ocurren en el pulmón, se presentan cambios patológicos en los elementos no vasculares de éste. Se asocia a la dirofilariosis con neumonía intersticial que se atribuye a un proceso alérgico por la migración parasitaria. Como respuesta a la resistencia disminuida en el pulmón con perfusión inadecuada, se puede presentar consolidación alveolar. En los casos poco frecuentes de obstrucción de la arteria lobar, se observa edema alveolar regional. La suma de unidades capilares obstruidas, la fibrosis obstructiva de pequeñas arterias pulmonares, la presencia de parásitos adultos, la endoarteritis de la arteria pulmonar, la obstrucción de la arteria lobar y las complicaciones neumónicas dan como resultado un aumento en la resistencia vascular pulmonar que al ser compensada por el corazón mediante una mayor presión (hipertensión pulmonar), provoca gasto cardíaco aumentado del ventrículo derecho, hipertrofia e insuficiencia (78).

A medida que el ventrículo derecho se dilata e hipertrofia, se inicia la secuencia que conducirá finalmente a la insuficiencia cardíaca, ya que la hipertrofia de las células del miocardio, produce cambios ultraestructurales que disminuyen la función eléctrica y mecánica de las células, por lo que cuando el volumen diastólico es tan elevado (dilatación ventricular)-

que las células de la pared libre del ventrículo no pueden desarrollar mayor tensión, éste empieza a ser insuficiente (78)

La insuficiencia cardíaca derecha, provoca un aumento sistémico en la presión venosa y congestión pasiva en pulmones, hígado, bazo y riñones. El líquido intersticial es absorbido hacia los capilares en menor medida del que difunde de ellos y aunque el flujo linfático puede aumentar, es insuficiente para prevenir la acumulación extravascular de fluido, desarrollándose ascitis, hidrotórax, hidropericardio y edema. La deficiente perfusión de los riñones, provoca la retención de sal y agua, aumentando aún más el volumen sanguíneo (78).

Síndrome de la vena cava.

La patogenia consiste en el desarrollo de insuficiencia hepática y renal con dilatación de la aurícula derecha por la presencia de gran número de vermes en ella y en vena cava y un número menor en ventrículo derecho y arteria pulmonar. Afecta generalmente a perros jóvenes aunque ocasionalmente puede ocurrir en perros mayores en zonas enzoóticas. Actualmente se accepta que es en resultado de la maduración de un gran número de vermes posterior a una exposición masiva en un corto período de tiempo y en un individuo que por otra parte ha tenido poco o ningún contacto previo y así haya desarrollado poca o ninguna inmunidad (29).

Asociada a este último síndrome, ha sido reportada hemoglobinuria, considerándose patognomónica para la presencia de vermes adultos en vena cava, al parecer su etiología se debe a severa congestión hepática producida por émbolos verminosos en el hígado (42).

Hallazgos patológicos recientes.

El uso reciente del microscopio electrónico de barrido (M.E.B.) y el microscopio electrónico de transmisión en la investigación de la patogenia de la dirofilariosis, junto con las ya bien documentadas lesiones observa

das al microscopio óptico, han permitido un considerable avance en la compresión de los cambios en la estructura vascular que ocurren como respuesta a un estímulo específico y que se pueden presentar en esta y otras afecciones.

El M.E.B., además de dar una imagen tridimensional del objeto, permite el escrutinio de grandes áreas de la superficie luminal, aumentando así las posibilidades de localizar lesiones vasculares aisladas.

Las lesiones características observadas al M.E.B., consisten en la formación de grandes elevaciones a manera de vellosidades y crestas o arrugas dirigidas hacia el lumen de los vasos y que varían en tamaño y en forma - desde pequeñas crestas y elevaciones semejantes a domos o discos, hasta - proliferaciones de formas complejas. Las elevaciones se encuentran cubiertas de endotelio, estando sus células orientadas en algunas partes en un patrón circular, con la elevación como centro del círculo, en vez de estar lo paralelo al eje longitudinal del vaso (68, 85).

Aprovechando las ventajas del M.E.B., se ha demostrado por primera vez la presencia de lesiones en las venas pulmonares, cualitativamente similares, aunque más escasas que las encontradas en las arterias pulmonares, sugiriendo que el daño físico causado por la presencia del nemátodo no es de importancia para la formación de las lesiones vasculares (85).

Patología asociada a las microfilarias.

No es sino hasta recientemente que se han considerado a las microfilarias como agentes patógenos, asociándolas con glomerulonefritis que se manifiesta por proteinuria grave (5). Shirota, encontró una frecuente asociación de nefritis intersticial con dirofilariosis, hallando relación directa entre el número de adultos presentes y la incidencia (89).

Aikawa en 1981, mediante el microscopio electrónico encontró una disposi-

ción de partículas electrodenudas ordenadamente distribuidas en la membrana basal glomerular, que mediante técnicas de microscopía inmunofluorescente, fueron relacionadas con intensos depósitos de IgG en patrones lineales. Además reporta que las microfilarias presentes en los capilares glomerulares se unen a endotelio mediante delgadas bandas citoplasmáticas, por medio de las cuales se depositaría antígeno del verme con la posterior reacción antígeno-anticuerpo. Concluye sugiriendo que la glomerulopatía vista en perros infectados de D. immitis, es causada por la formación *in situ* de complejos inmunes en la membrana basal glomerular (1).

Se ha involucrado a las microfilarias de Dirofilaria immitis como responsables de estados de shock graves y hasta fatales por reacciones secundarias a drogas anticolinérgicas (antihelmínticos), de otro modo seguras. El fenómeno no depende de sensibilidad previa (35). De manera similar han sido conocidas por largo tiempo las reacciones adversas e incluso mortales de tipo shock que se han presentado en perros con microfilarias circulantes y medicados con Dietilcarbamazina, siendo la causa de la muerte shock hipovolémico asociado a coagulación intravascular diseminada (75).

DIAGNOSTICO

Se puede hacer un diagnóstico tentativo en base a consideraciones clínicas y epizootiológicas. Pero es confirmado especialmente, con la puesta en evidencia de las microfilarias sanguíneas.

Examen sanguíneo para la detección de microfilarias.

Este sigue siendo el método más práctico y sencillo para el diagnóstico de la dirofilariosis, aún cuando es una prueba cualitativa, pues la producción de microfilarias depende de la edad de los parásitos y el estado inmunitario del huésped y su número no es indicativo de la gravedad de las lesiones o el monto de la carga parasitaria.

Se han ensayado numerosos métodos de detección de microfilarias en sangre periférica, siendo el más elemental, la observación microscópica de una - preparación fresca en gota gruesa de sangre con anticoagulante o bien de suero. En vista de haberse demostrado en nuestro continente la presencia de Dipetalonema reconditum, se deberá hacer diagnóstico diferencial con este verme mediante la observación de las características morfológicas de las microfilarias. En una preparación reciente las microfilarias de D. immitis son generalmente numerosas y se mueven activamente ondulando en un solo sitio. Las microfilarias de D. reconditum en cambio, son invariablemente escasas y aún cuando pueden ondular en un solo sitio por períodos cortos, finalmente progresarán a través del campo microscópico, saliéndose del mismo (74).

Además de diferencias de movilidad, presentan diferencias morfológicas, - siendo las microfilarias de D. immitis más largas y anchas que las de D. reconditum; sin embargo, en razón de que las medidas de las 2 microfilarias se pueden superponer, no se considera su medición como un procedimiento confiable de diferenciación (74).

El análisis del sedimento de muestras centrifugadas a las cuales se les ha adicionado una sustancia para lizar los glóbulos rojos (ácido acético, formalina, saponina), constituye uno de los métodos más seguros para la detección de microfilarias, pues concentra en un pequeño volumen las microfilarias existentes con lo que aumenta la posibilidad de encontrarlas en caso de infecciones leves.

La técnica de concentración más sencilla y ampliamente usada es la técnica modificada de Knott. Mediante la cual se mata, extiende, fija y tiñe - las microfilarias, teniendo la ventaja adicional de que el examen microscópico puede ser diferido por semanas o meses (74). Hasta el presente parece ser la prueba más confiable y consistente para la demostración de microfilarias de D. immitis y D. reconditum (46).

Otra característica morfológica que puede ser detectada mediante tinciones

supravitales como el azul de cresilo brillante, es la distribución; peculiar para cada especie de las 4 células R primordiales que en D. immitis, siguen una distribución 1-2-1 y en D. reconditum una distribución 1-3. -- Igualmente se destacan mediante estas tinciones el anillo nervioso, el poro excretor y el poro anal primordial, así como el gancho cefálico en D. reconditum (69). Sin embargo para efectos prácticos es suficiente tomar en cuenta para hacer una diferenciación eficiente, una cuantas características que se detallan en el Cuadro 2, en el capítulo de Material y Métodos.

El método de la fosfatasa ácida o Naftol As-TR fosfato es uno de los métodos más específicos para la diferenciación de microfilarias de D. immitis y de D. reconditum entre otras, al destacar la distribución de la fosfatasa ácida en determinadas estructuras de su organismo, principalmente en el complejo de células excretoras (46), pudiendo también ser utilizado para la identificación de filarias durante su desarrollo en el cuerpo del mosquito (72).

Diagnóstico radiológico.

Los estudios radiológicos constituyen un medio valioso en el diagnóstico-diferencial de la dirofilariosis al permitirnos visualizar los cambios patológicos, cardíacos, pulmonares y vasculares, proporcionando una base para el pronóstico ya que con frecuencia los signos clínicos no son indicativos del grado de estos cambios.

En el estadio temprano de la enfermedad, en perros asintomáticos con cargas parasitarias bajas, o en infecciones severas en perros jóvenes, no se observan cambios radiológicos (29).

Los signos pulmonares avanzados, por ser característicos se consideran patognomónicos de la enfermedad y son invaluable para el diagnóstico en ca

so de dirofilariosis oculta. En tomas laterales principalmente se denotan densidades a manera de parches diseminados en el campo pulmonar y particularmente en los lóbulos diafragmáticos. Estos parches son más densos, menos difusos y más circunscritos que los del edema pulmonar y semejan densidades causadas por neoplasia. Las arterias pulmonares en la zona del hilio y media del pulmón tienen 3 ó 4 veces su diámetro normal y aparecen como bandas adyacentes a los bronquios lúcidos. Un hallazgo característico es el "podado" de las arterias causado por tromboembolismo. En casos avanzados existe tortuosidad de las arterias pulmonares. La oclusión arterial por gusanos desprendidos se caracteriza por la terminación abrupta de algunas arterias a medida que alcanzan la periferia del pulmón. Las áreas locales de atelectasia aparecen como opacidades mal definidas que son menos densas que las áreas de infartación y están asociadas a obstrucción arterial. La fibrosis pulmonar aparece como densidades intersticiales nodulares o lineales (29, 74, 78). La determinación de la talla normal de los vasos pulmonares, se puede efectuar tomando como referencia la arteria y vena lobar craneal y la cuarta costilla en una toma lateral, normalmente la arteria y vena deben ser del mismo diámetro de la cuarta costilla (78).

En tomas laterales del corazón y grandes vasos, se presenta hipertrofia del ventrículo derecho que va de ligera a moderada. El cono arterioso agrandado y la dilatación de la arteria pulmonar, desplazan cranealmente el borde cardíaco derecho, haciendo desaparecer la cintura craneal. El diámetro craneocaudal aumenta, pero la distancia ápico-basilar no lo hace en la proporción encontrada en la insuficiencia izquierda (29).

En radiografías dorsoventrales, el borde cardíaco derecho es redondeado y se proyecta hacia la pared torácica derecha más de lo normal, tomando la figura de una "D" invertida. El segmento de la arteria pulmonar puede estar notablemente agrandado, apareciendo como una protuberancia semicircular a la 1 ó 2 horas del reloj en la silueta cardíaca. El ápice frecuentemente se desvía hacia la izquierda a causa de la hipertrofia ventricular-

derecha (29).

Diagnóstico angiocardiógráfico

La angiocardiógrafa es una técnica muy útil para el diagnóstico y pronóstico de la dirofilariosis pues permite una visualización muy exacta de los cambios patológicos del corazón y arterias pulmonares. Mediante esta técnica es posible que los gusanos adultos puedan ser reconocidos como "defectos de llenado" en el corazón derecho y arterias pulmonares, con el aspecto de líneas lúcidas. En caso de infecciones leves o excesiva dilatación de las arterias pulmonares, los gusanos pueden no ser detectados -- (93).

Los cambios patológicos más consistentes en los angiocardiógramas son: obstrucción arterial, dilatación preclusiva, arborización irregular, "podado de las ramas periféricas y pérdida del aguzamiento normal de las arterias. En casos muy severos, los márgenes de los vasos periféricos tienen una apariencia aserrada (58).

Los cambios en corazón y grandes vasos no son notorios sino hasta que --- la enfermedad tiene cierto grado de avance y se caracteriza por hipertrofia del ventrículo derecho y dilatación de la silueta cardíaca. Si coexiste con insuficiencia tricúspidiana, se denota por la marcada regurgitación del medio de contraste hacia la aurícula dilatada y la vena cava caudal, (29).

Se ha demostrado mediante la angiocardiógrafa la presencia de lesiones - aún antes del período de patencia por lo que han enfatizado su utilidad - como medio de diagnóstico precoz (41).

Diagnóstico electrocardiógráfico.

El electrocardiograma puede ser usado para diagnosticar hipertrofia ventri

cular derecha, dilatación auricular derecha y arritmias que se desarrollan durante la dirofilariosis (79).

Con cargas parasitarias leves, el electrocardiograma puede aparecer normal o haber una ligera desviación del eje derecho y presencia de P pulmonar.- Cuando se desarrolla la hipertensión pulmonar y los signos de enfermedad son obvios, la desviación del eje derecho que normalmente es de 40 a 90 - grados es más pronunciado, pudiendo llegar hasta 180 grados. A causa de - la hipertrofia del ventrículo derecho, en las fases moderadamente severas a severas de la enfermedad, se puede presentar un patrón SI, SII, SIII, en - la derivada CV₆LU, ocurriendo en la mayoría de los casos una onda S profun - da. Ocasionalmete se manifiestan contracciones prematuras atriales y ven - triculares (29, 74).

Dirofilariosis oculta.

Esta condición representa un escollo para el diagnóstico al no permitir - la demostración de las microfilarias en la sangre circulante (dirofilario - sis sin microfilaremia). Ocurre espontáneamente en 5 a 10% de los perros - con gusano del corazón (99), aunque en regiones con alto índice de preva - lencia se ha reportado de más de 20% (96).

Aún cuando el mecanismo exacto de su presentación se desconoce, se piensa que es un fenómeno de hipersensibilidad a las microfilarias. Esto se pue - de presentar en cachorros con microfilaremia congénita procedente de pe - rras gravemente parasitadas. Wong, menciona un delicado equilibrio entre - antígenos y anticuerpos antimicrofilariales, de manera que cuando uno do - mina el otro es indetectable. Así, cuando la producción de microfilarias - decrece o cuando la producción de anticuerpos antimicrofilariales aumenta. este delicado balance se dispara causando intolerancia a las microfilarias. De esta manera se podría explicar la súbita desaparición de la microfila - remia en algunos perros adultos (99).

Diagnóstico serológico.

Con el propósito de hallar una prueba práctica para el diagnóstico de la dirofilariosis oculta, se han ensayado numerosos métodos serológicos o -- pruebas intradérmicas con este fin en el pasado, sin embargo, la mayoría resultaron de poco valor. Las pruebas de precipitación y de anticuerpos - fluorescentes, dan reacciones cruzadas contra vermes intestinales e incluso ciertas infecciones bacterianas (28). La prueba de hemoaglutinación resulta poco sensible, ocurriendo reacciones cruzadas con otras filarias y falsos positivos (34). En países donde no existe D. reconditum, se ha reportado la prueba intradérmica como segura.

Recientemente se han desarrollado métodos más sensibles y específicos como la prueba indirecta de anticuerpos fluorescentes (99). La técnica ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay), y la técnica FIAX (automated fluorescent immunoassay), son pruebas reproducibles y confiables en la medición de anticuerpos séricos en dirofilariosis oculta (38, 39).

TRATAMIENTO.

La terapéutica de la filariosis cardiovascular, la podemos dividir en 3 - categorías según el tipo de antihelmínticos usados. Medicamentos contra los gusanos adultos o tratamiento macrofilaricida, medicamentos contra las microfilarias o tratamiento microfilaricida, y aquellos usados contra las larvas infectantes y cuya aplicación cae más bien en el campo de la profilaxis.

Existe por otra parte el tratamiento quirúrgico que se usa en ocasiones - en combinación con la quimioterapia como un medio de evitar el tromboembolismo, que constituye la mayor complicación del tratamiento médico en perros severamente afectados, y en consecuencia de la elevada mortalidad es raramente indicado para el tratamiento de esta afección (29).

Tratamiento macrofilaricida.

Los macrofilaricidas eficaces son los arsenicales orgánicos trivalentes - del grupo de las fenilarsenoxidas sustituidas, siendo la Tiacetarsamida - sódica la más utilizada por tener la propiedad de ser estable en solución acuosa. La administración se hace por vía intravenosa estricta. Jackson ha encontrado como el esquema más adecuado, el administrar 0.4 ml (o sea -- 4mg/kg/día), dividido en 2 dosis de 6 a 8 horas de intervalo por lo menos durante 2 días consecutivos, de lo que se obtuvo una actividad antihelmínica de 97 por ciento (44). Posteriormente al tratamiento, los parásitos mueren lentamente en un lapso de 2 a 3 semanas, aunque algunos pueden morir en los primeros días (74).

La tolerancia es buena, excepto en aquellos casos avanzados con lesiones graves del hígado, riñones y miocardio; en cuyo caso se contraindica el tratamiento en tanto no se corrijan las deficiencias. Aunque en algunos casos se pueden presentar efectos secundarios graves por esta terapéutica: localización de vermes muertos en la arteria pulmonar, desencadenamiento de fenómenos alérgicos por antígenos liberados de los vermes destruidos y la acción tóxica intrínseca del arsénico (32, 30).

Una vez efectuado el tratamiento con éxito, la recuperación es lenta, tardando de 6 a 12 meses en la mayoría de los casos. Hay que tener en cuenta que las lesiones pulmonares, hepáticas y renales, pueden persistir después del tratamiento (29). De hecho, las lesiones parenquimatosas pulmonares son más evidentes durante los primeros 6 meses después del tratamiento, decreciendo su severidad posteriormente y estando su persistencia relacionada con la sobrevivencia de la infección (81). La medicación arsenical no tiene ningún efecto sobre las microfilarias.

En los últimos tiempos se han ensayado una serie de drogas macrofilaricidas en las que se destaca el Trimelarsán, que es el primer arsenical que-

puede inyectarse intramuscularmente sin reacciones locales serias. Se reporta una efectividad del 80 por ciento a una dosis de 5 mg/kg/día, por 2 días consecutivos (50).

El Levamisol ha sido usado como microfilaricida, no obstante, su actividad es irregular y a menudo incompleta. Bradley, usando resinato de Levamisol por vía oral a la dosis de 4.5 mg/kg/ 2 veces al día por 15 días, seguido de 6.6 mg/kg/ 2 veces al día por 15 días y finalmente de 8.8 mg/kg/ 2 veces al día por otros 15 días, obtuvo una actividad de 100 por ciento en microfilarias y machos adultos y 65 por ciento en hembras adultas (12). Boring y col., encontraron resultados similares usando el clorhidrato de Levamisol a la dosis 5 mg/lb por vía subcutánea 2 veces al día por 10 días (10).

A pesar de su inconsistencia, el Levamisol en razón de su poca toxicidad podría ser el medicamento de elección en aquellos individuos intolerantes a los arsenicales o aquellos que la gravedad de sus lesiones hepatorenales los hacen pacientes de alto riesgo para esta terapia.

Tratamiento microfilaricida.

Las indicaciones de esta terapéutica, son el evitar la patogenicidad de las microfilarias en el organismo y prevenir la infección de los mosquitos y la posterior progresión a gusanos adultos. Por otra parte, sería casi imposible constatar la efectividad del tratamiento adulticida si no son eliminadas las microfilarias del torrente circulatorio, vigilando su posible retorno. Adicionalmente, es muy riesgoso empezar el tratamiento profiláctico con Dietilcarbamacina si aún persisten microfilarias circulantes.

La Dietilcarbamacina (Caricide), aunque es bien tolerada y tiene una acción terapéutica eficaz no se recomienda en vista de los graves y a menudo fatales accidentes de tipo shock anafiláctico que ocurren en aproxima-

damente 5 por ciento de los perros gravemente parasitados (30, 25, 75).

El Ioduro de Ditiacianina es un colorante cianico con acción microfilaricida a la dosis de 2 mg/lb/día administrado *per os* durante 7 días, al cabo de los cuales se hace un examen sanguíneo y si las microfilarias aún persisten y se ha presentado poca o ninguna reacción a la droga, se aumenta la dosis a 5 mg/lb hasta la desaparición de las microfilarias, no sobrepasando 10 días (74).

El Fentión es un organofosforado que ha demostrado tener una eficiente acción contra las microfilarias. La dosis recomendada es de 7 mg/lb subcutáneamente cada 2 semanas hasta la desaparición de las microfilarias. -- Usualmente se requiere 1 ó 2 inyecciones y excepcionalmente 3. Es importante evitar toda aplicación de insecticidas organofosforados, especialmente collares contra pulgas varios días antes y después del tratamiento (74, 30).

El Levamisol aún cuando posee cierta acción contra vermes adultos y larvas emigrantes, su único uso práctico en la dirofilariosis es como microfilaricida (45). Administrado oralmente a la dosis de 5 mg/lb/día, elimina las microfilarias en un plazo de 6 a 15 días (74). Se reporta un 100 por ciento de efectividad utilizando resinato de Levamisol a la dosis de 11 mg/kg/día durante 10 días (11).

Como regla general el tratamiento microfilaricida se administrará por lo menos 6 semanas después del tratamiento macrofilaricida, con el objeto de evitar reacciones severas dadas principalmente por la posibilidad de embolización capilar por las microfilarias muertas, que posiblemente agravaría una embolización por parásitos adultos. En todo caso, de ningún modo se tratará contra microfilarias a pacientes afectados de problemas pulmonares (32).

PROFILAXIS.

La protección más efectiva contra la dirofilariosis, sería evitar la picadura de los mosquitos vectores; aunque esta profilaxia sanitaria es prácticamente imposible en una zona enzoótica. Aun así se puede ofrecer cierta protección ya que se ha encontrado una incidencia mayor en perros criados en exteriores que aquellos caseros (29, 15, 73, 74, 22, 76, 83, 71).

Profilaxia individual.

Tiene por objeto la inhibición del desarrollo de las larvas infectantes - transmitidas por los mosquitos, evitando que lleguen a la fase adulta.

La Dietilcarbamacina (D.E.C.), se ha usado con gran éxito como agente preventivo en las áreas enzoóticas, administrándola antes del comienzo de la temporada de mosquitos y continuándola hasta aproximadamente 2 meses después del fin aparente de la temporada. Existen evidencias de que la droga únicamente actúa en los períodos tempranos del desarrollo de las larvas, ya que si se administra 1 día después de la infección y no se prosigue administrándola por lo menos durante 30 días, los resultados son variables - (74). En áreas donde la actividad de los cúlucidos se extiende por todo el año, la medicación profiláctica se administrará coincidentemente.

La posología es de 5.5 mg/kg de Citrato de D.E.C. (o sea 2.5 mg/kg de materia activa), administrados diariamente por vía oral, 1 mes antes y 2 meses después del período de actividad de los mosquitos, o si se requiere - durante todo el año, no estando contraindicada en la gestación y lactación (30, 32, 74).

Otro régimen preventivo, se practica mediante dosis terapéuticas de Tiacetarsamida, administrada 2 ó 3 meses después de la temporada de mosquitos, o bien 2 veces al año en zonas con actividad constante de mosquitos, destruyendo los gusanos antes de que se constituya un número suficientemente

grande para crear manifestaciones patológicas o clínicas (30).

Se ha ensayado el Mebendazole como agente profiláctico de la dirofilariosis a la dosis de 40 y 80 mg/kg/día, por vía oral durante 30 días y empezando 2 días antes de la infección artificial, se mostró 100 por ciento efectivo, siendo buena su tolerancia (63).

Se reporta que el D-L Tetramisol a la dosis de 5 mg/kg/día, empezando el día de la exposición y continuando durante 30 días previno completamente el desarrollo de D. immitis (52). Euzéby, recomienda una dosificación de 3 mg/kg/día (32).

Más recientemente, Blair y Campbell, demostraron que una dosis única oral de 0.05 mg/kg de Ivermectin, previene la maduración de D. immitis si se administra de 31 a 60 días después de la infección (8). No obstante que es necesaria mayor investigación sobre este medicamento, su acción sobre las fases tardías de las larvas de D. immitis, podría significar una innovación en los actuales esquemas profilácticos al permitir que la medicación sea aplicada mensual o bimensualmente.

INMUNIDAD E INMUNIZACION.

La Dirofilaria immitis, es un parásito inmunógeno. Esto explica el porqué en zonas enzoóticas no son comunes las infecciones severas, sin embargo, la inmunidad no se adquiere en la primera infección, sino que son necesarios múltiples contactos parasitarios. Aún cuando se producen cuerpos específicos tempranamente, su título decrece al aparecer las microfilarias, no habiendo variación en cuanto a título de anticuerpos entre la primera y segunda infección, ni evidencia de memoria inmunológica (97). Grieve detectó anticuerpos a las 4 semanas después de la aparición de las microfilarias para disminuir después (37). En pruebas realizadas mediante ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay), se han demostrado anticuerpos 16 se-

manas después de la inoculación, no habiendo diferencia en niveles de anticuerpos en perros inoculados 1 ó 2 veces, ni guardando relación el nivel de anticuerpos con la carga parasitaria o el número de microfilarías (38).

Según Euzéby, la reacción inmunitaria se ejerce sobre las L III y después L IV y sobre las microfilarías, pero no sobre los gusanos adultos, aunque puede haber cierto efecto sobre la prolificidad de las hembras. Siendo entre los 75 y 90 días después de la infección, o sea, el momento de la muda L IV-L V, cuando las formas inmaduras estarían más expuestas a la acción inmunitaria. Una segunda reacción se desarrollaría al principio del período patente, alrededor de 6 meses después de la infección, provocada por la antigenicidad de las microfilarías.

Se han ensayado medios de crear artificialmente inmunidad contra el gusano del corazón, mediante la inoculación de larvas infectivas irradiadas; 1 ó 2 dosis de 100 larvas irradiadas, confiere inmunidad durante 80 días después de la intervención (32). Sin embargo este método no está aún comercialmente disponible por la dificultad de la cría de mosquitos que permita obtener L III infectantes. Blair y Campbell, ensayando la inmunización por infecciones químicamente abreviadas (Ivermectin), han obtenido buenos resultados en hurones (7).

TRANSMISION AL HOMBRE.

La dirofilariosis por D. immitis, ha sido reconocida en los últimos años como una zoonosis, aunque la infección es mucho más rara que en el perro. Ha sido reportada en humanos en Brasil, E.U.A., Australia y Japón, tratándose principalmente de formas inmaduras o de gusanos adultos poco desarrollados, alojados en distintas partes del organismo, siendo la localización pulmonar la más común. En E.U.A. se consignan numerosos casos de filarias en granulomas pulmonares, referidos radiológicamente como lesiones en forma de moneda. Se trata de lesiones solitarias, pequeñas, periféricas y no calcificadas, que en el hombre requieren de una toracotomía diagn

nóstica para excluir carcinoma. En vista de este grave inconveniente, es imperativa la creación de una prueba mejor, no quirúrgica para el diagnóstico de la dirofilariosis humana, que por otra parte, es una enfermedad benigna, autolimitante y cuyo diagnóstico ocurre fortuitamente en ocasión de exámenes radiológicos de rutina (65, 74, 56, 77, 49). Se reporta un caso de localización ocular en Australia (66).

En vista de que la prevalencia de la infección entre los perros está aumentando, se especula que la enfermedad puede ser cada vez más común entre los seres humanos (65).

REVISION DE LITERATURA.

Al parecer la D. immitis fue identificada por primera vez en nuestro país en 1925 por el Dr. Samuel Macías V., en un perro procedente del extranjero (19). De entonces a la fecha, fueron publicados a saber, los siguientes reportes:

Mazzotti y Osorio (1941), en un estudio de 206 perros callejeros de la ciudad de México, encuentra un 26 por ciento de perros con microfilarias sanguíneas, afirmando desafortunadamente que se trataba de D. immitis, aún cuando no pudo encontrar los gusanos adultos en 30 necropsias realizadas en perros positivos (61).

Chavarría y col. (1946), en un estudio de campo realizado en la población de Huixtla, encuentra tras realizar 34 necropsias un 100 por ciento de positivos a D. immitis en perros mayores de un año. Paralelamente al investigar las microfilarias existentes en la sangre de perros de la ciudad de México, sugiere que se trata de una nueva filaria distinta a D. immitis, (19, 20).

Schnass (1958), reporta un caso de dirofilariosis en Tepic, Nay. y señaló haber encontrado D. immitis en perros traídos a la ciudad de México - del Litoral del Golfo, del Sur de México, de E.U.A. y de las Islas Caribes, considerando que la enfermedad está difundida en nuestro país en ambos litorales (87).

Mazzotti y Chabaud (1962), identifican las microfilarias encontradas en perros de la ciudad de México, como Dipetalonema reconditum (62).

Xicotencatl (1965), encuentra en ciudad Victoria, Tamps. una incidencia total de microfilarias de 44 por ciento; con 25 por ciento para D. immitis.

tis y 19 por ciento para D. reconditum (100).

Castillejos (1972), muestreando perros procedentes del extranjero radicados en la ciudad de México, obtuvo un 4 por ciento de positivos a D. immitis (16).

Del Campo (1977), en un estudio en mil perros nativos de la ciudad de México, encontró resultados negativos para D. immitis y D. reconditum (14).

González (1980), reporta una incidencia de 13.5 por ciento de perros positivos a D. immitis en el área metropolitana de Monterrey (36).

Núñez (1981), en una investigación realizada en Yucatán, Chiapas y Morelos consigna una frecuencia de 10 por ciento en Yucatán y resultados negativos en los otros dos estados (70).

H I P O T E S I S

Apoyados en las evidencias de la existencia de Dirofilaria immitis en la ciudad de Chetumal, proporcionados tanto por hallazgos de necropsia, como por los frecuentes casos diagnosticados en la clínica, y tomando en cuenta que las condiciones climáticas y ecológicas imperantes en la zona son favorables para la reproducción y propagación de los posibles huéspedes intermediarios (con fines ilustrativos cabe aquí señalar que el estado de Quintana Roo, aunque a pequeña escala, sigue siendo una zona endémica de paludismo), se propone que la ciudad de Chetumal es una zona con alta frecuencia en Dirofilaria immitis.

O B J E T I V O S.

En consideración a la escasez de investigaciones realizadas en nuestro país sobre Dirofilaria immitis y por ende del poco conocimiento que se tiene de la misma, y basados en las amplias posibilidades de estudio que ofrece este parásito en la localidad, nos proponemos para el presente trabajo los siguientes objetivos:

1. Corroborar la existencia de esta parasitosis en perros de la ciudad de Chetumal, Q. Roo.
2. Determinar la frecuencia estacional de Dirofilaria immitis en perros de Chetumal, Q. Roo.
3. Contribuir al conocimiento de la distribución de Dirofilaria immitis en nuestro país.

MATERIAL Y METODOS

Material biológico: sangre de 160 perros de la ciudad de Chetumal, Q. Roo.

Se examinaron un total de 151 muestras sanguíneas para la detección de microfilarias de Dirofilaria immitis y Dipetalonema reconditum, para lo cual fueron colectados aproximadamente 5 ml de sangre mediante la punción de la arteria cefálica o tarsiana, obtenidos de perros llevados a consulta particular. Se realizaron nueve necropsias a perros remitidos al Laboratorio de Diagnóstico de Patología Animal de la localidad, para diagnóstico de rabia de acuerdo al protocolo rutinario, con énfasis especial en el examen del corazón derecho y arteria pulmonar principal y sus ramas.

Se recabaron para cada perro examinado los siguientes datos: raza, sexo, edad, procedencia y fecha de introducción a la zona.

En el caso de perros procedentes de otras regiones, únicamente se muestran aquellos que tuvieron una permanencia de por lo menos seis meses en la localidad.

La muestra fue clasificada en cuatro categorías de edad; de 0 a 6 meses, de 7 a 12 meses, de 13 a 24 meses y de 24 meses o más.

Se tomaron 20 muestras para cada una de las categorías durante los meses de agosto a noviembre de 1978, diciembre de 1978 a marzo de 1979 y agosto de 1979 a noviembre de 1979, de acuerdo al diseño experimental mostrado en el Cuadro I

Cuadro 1 Diseño de observación epidemiológica. Frecuencia de D. immitis en perros de Chetumal, Q. Roo.

CATEGORIAS DE EDAD	E S T A C I O N							
	L L U V I A S				S E C A S			
	Ago.	Sep.	Oct.	Nov.	Dic.	Ene.	Feb.	Mar.
	Número de muestras							
Menores de 6 meses			20					20
de 7 a 12 meses			20					20
de 13 a 24 meses			20					20
de 24 meses o más			20					20

Procedimiento

Las muestras fueron sometidas a la técnica de concentración en suero (17), para lo cual se dejaron en reposo hasta la retracción del coágulo.

Para el análisis de la movilidad de las microfilarias, se examinaron dos montajes frescos de cada perro, tomándose una pequeña porción del suero - situado inmediatamente por encima del coágulo, se pusieron una o dos gotas entre cubre y portaobjetos y se observó el movimiento a seco débil, - que es característico para cada especie. El resto del suero fue procesado para la identificación definitiva decantándolo a un tubo de centrifuga -- graduado de 10 ml de capacidad, aforando con solución de ácido acético al 2 por ciento hasta la marca de 10 ml., se centrifugó a mil rpm durante -- seis minutos, se decantó el sobrenadante y se tiñó el sedimento con un vo

lumen igual de azul de metileno en solución 1:1000 (17).

La identificación y diferenciación de las microfilarias se realizaron tomando en cuenta los criterios de Otto y Jackson (74), resumidos en el Cuadro 2. En términos generales se examinaron tres preparaciones de sedimento antes de determinar si una muestra era negativa.

Cuadro 2 Características diferenciales entre microfilarias de Dirofilaria immitis y Dipetalonema reconditum.

D. immitis	D. reconditum
En preparación fresca	
Usualmente numerosas	Invariablemente escasas
Ondulan en un sólo lugar	Se salen rápidamente del campo microscópico.
Movimientos desordenados y vigorosos	Movimientos suaves y elegantes (serpentino).
En frotis teñidos	
Usualmente numerosas	Usualmente menos abundantes
Rectas	Curvadas, forma de guadaña
Cola recta	Cola en horquilla.
Cabeza ligeramente aguzada	Cabeza con lados paralelos

Modificado de Otto y Jackson (1975).

Análisis estadístico.

Los datos fueron analizados mediante un modelo LOGIT, el cual se basa en la función logística:

$$P(\text{infección}) = \frac{1}{1 + e^{-(\beta_0 + \sum \beta_i x_{ij})}}$$

Donde la probabilidad de encontrar infección en un caso determinado se relaciona con una serie de variables independientes (x_1, x_2, \dots, x_p) .

En este caso se consideraron las siguientes variables independientes:

- Talla
- Edad
- Largo de la capa
- Estación del año
- Sexo

La raza de los animales no se consideró debido a que el gran número de ellas contrasta con el número de observaciones, provocando un aumento en el error de estimación.

Los perros menores de seis meses, tampoco se consideraron para el análisis LOGIT, ya que el interés de muestrear animales de esta edad fue verificar la posibilidad de infección prenatal.

R E S U L T A D O S

El resultado del análisis LOGIT realizado, indica que sólo la edad y la talla del perro influyen en la prevalencia de la dirofilariosis, en tanto que la estación del año, el sexo y el largo del pelo (según estándares raciales), no se encontraron relacionados con esta infección.

En el Cuadro 3, se presenta la prevalencia global de dirofilariosis en el muestreo de sangre realizado en perros de la ciudad de Chetumal, Q. Roo, apareciendo el total de muestras examinadas, número de positivos a Dirofilaria immitis y Dipetalonema reconditum y porcentajes obtenidos.

Cuadro 3 Porcentaje de perros positivos a Dirofilaria immitis y Dipetalonema reconditum.

Microfilarias	Muestras examinadas	Positivos
<u>D. immitis</u>	120*	50 (40%)
<u>D. reconditum</u>	160	1 (0.6%)

* Se excluyeron 40 muestras de la categoría comprendida de 0 a 6 meses - según lo expuesto previamente.

El Cuadro 4, relaciona la edad y la infección por D. immitis. Se aprecia que existe una alta correlación entre estos dos factores, siendo que a mayor edad la frecuencia de la infección aumenta.

Cuadro 4 Relación de la edad con infección por D. immitis.

Edad en meses	Número de casos	
	examinados	positivos
7 - 12	40	8 (20%)
13 - 24	40	13 (32%)
Mayores de 24	40	29 (72%)
T O T A L	120	50 (40%)

En el Cuadro 5, se consignan los resultados de la infección por D. immitis en relación con la talla de los animales muestreados, los perros fueron divididos de acuerdo a su estandar racial en dos grupos: animales de talla chica y animales de talla mediana y grande, los perros de raza indefinida conformaron el grupo de talla no determinada. En el cuadro observamos que se presentó una frecuencia mucho mayor de positivos en perros de talla mediana y grande en comparación con aquellos de talla chica, mientras que en el grupo de talla no determinada hubo una frecuencia media.

Cuadro 5 Influencia de la talla sobre la parasitosis de D. immitis

Talla	Número de casos	
	examinados	positivos
Chica	20	1 (5%)
No determinada	46	14 (35%)
Mediana y grande	54	35 (65%)

La distribución conjunta para edad y talla se muestra en el Cuadro 6, donde también se anotan los valores esperados conforme al modelo ajustado, puede verse la similitud entre positivos observados y esperados, lo que confirma las pruebas estadísticas sobre la validez del modelo seleccionado para este caso.

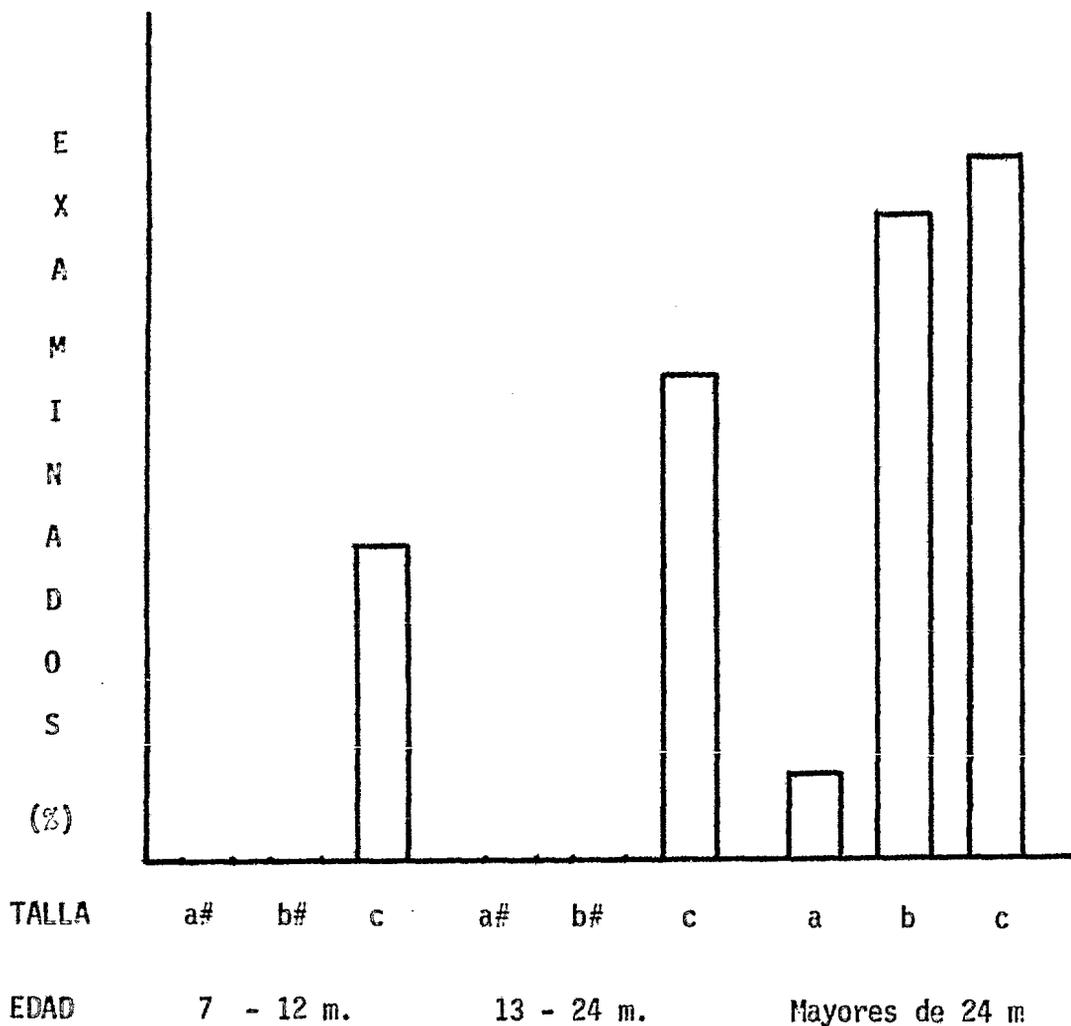
Cuadro 6 interrelación entre edad, talla y presencia de *D. immitis*.

Edad meses	Talla	Positivos	Valores esperados	total de observ.	Probabilidad de infección
7 - 12	chica	0	0.007	3	0
	no det.	0	0.346	18	0
	Med. y Gde.	8	7.700	19	0.96
13-24	chica	0	0.010	8	0
	no det.	0	0.547	12	0
	Med. y Gde.	13	12.450	20	0.95
Mayores de 24	chica	1	0.989	9	0.98
	no det.	14	13.110	16	0.90
	Med. y Gde.	14	14.900	15	1.06

El mismo Cuadro 6, indica la probabilidad predicha de encontrar *D. immitis*, para los perros de las tallas y edades consideradas en el estudio.

En la gráfica 1, se ilustra la relación entre la edad, talla y frecuencia de *D. immitis*. Se denota claramente el mayor número de positivos entre los perros de talla mediana y grande, independientemente de la edad y en cambio la pequeña proporción en los de talla chica. Se muestra igualmente que existe una relación directamente proporcional entre la edad y el número de infectados.

Gráfica 1 Influencia de la edad y la talla sobre la parasitosis por D. immitis.



a: Talla chica

b: Talla no determinada

c: Talla grande

#: (0%) No se encontraron positivos.

D I S C U S I O N

Se detectó Dirofilaria immitis en 50 de 120 perros (40%), y Dipetalonema reconditum en uno de los 160 perros (0.6%), estudiados en la ciudad de - Chetumal (Cuadro 3). El diagnóstico se realizó en 151 muestras sanguíneas y nueve perros sometidos a necropsia de los cuales seis fueron positivos.

Se evidenció una relación directa entre la infección por D. immitis y la edad: 6 - 12 meses (20%); 13 - 24 meses (32%), mayores de 24 meses (72%), (Cuadro 4, gráfica 1). Estos resultados coinciden con los observados por otros autores en Japón (91) y E.U.A. (76, 90, 83), que reportan que la - frecuencia de la infección aumenta con la edad. No se encontró ningún ani - mal positivo en la categoría de 0 a 6 meses, ni en perros menores de 8 me - ses, esto corresponde con el período prepatente del parásito que se ha re - portado de por lo menos seis meses (74). No habiendo por lo tanto eviden - cia de infección prenatal. Estos resultados contrastan con los obtenidos - por Del Campo, que en un estudio de mil perros muestreados en la ciudad de México no obtuvo ningún positivo a D. immitis y D. reconditum y concluye - que la ausencia de positivos se debe a la relativa carencia de hospedado - res intermediarios (14).

En diversas investigaciones se ha reportado que no existe predisposición - hacia la infección relacionada con la raza en sí o tipo de capa, siendo - todos los animales susceptibles. Se ha encontrado, sin embargo, una eleva - da correlación positiva entre perros criados en exteriores y presencia de D. immitis (29, 15, 73, 74, 22, 83). Pigott y Nzabanita relacionan razas - grandes, generalmente criadas en exteriores con infección por D. immitis - (76, 71). En el presente estudio se evidenció una alta correlación entre - infección por D. immitis y talla de los animales, siendo la frecuencia mu - cho mayor en perros de raza grande y mediana (65%), que en aquellos de ta

lla chica (5%). Los perros de talla no determinada, ocuparon un sitio intermedio con (36%), (Cuadro 5, Gráfica 1). Esto es posible que se deba a que los primeros se crían habitualmente en exteriores, con lo que el riesgo de exposición es mucho mayor. El tipo de capa no demostró tener influencia significativa sobre la parasitosis por D. immitis en este trabajo.

El resultado del análisis de la frecuencia estacional fue de 21% y 20% - para la temporada de lluvias y secas respectivamente, no demostrando tener influencia significativa sobre la presencia de D. immitis en los dos grupos de perros examinados. Se cree que esto es debido a que la población de mosquitos es virtualmente constante durante todo el año, como resultado de las condiciones climáticas imperantes en el lugar de estudio (clima subtropical húmedo), que son favorables tanto para el desarrollo del propio mosquito, como para las formas larvarias de D. immitis que -- pueda albergar (24, 53). Otro factor favorable está dado por la localización costera de la ciudad y la presencia de zonas bajas inundables y áreas pantanosas cercanas, puesto que se ha reportado que la dirofilariosis es más común en localidades cercanas a cuerpos permanentes de agua -- ya sean dulces o salobres, en donde la densidad de mosquitos es elevada (29, 73, 96). Por otra parte, una frecuencia alta como la encontrada en presente estudio, sólo es posible mediante una transmisión extensiva que según lo reportado, únicamente ocurre cuando existen altas densidades de mosquitos (73).

Aún cuando se ha reportado mayor predisposición a la infección en perros machos que en hembras (90, 96, 71), en el presente trabajo no se detectó diferencia significativa a la infección determinada por el sexo, esto -- puede deberse al número limitado de casos observados.

Se encontró un sólo caso de infección por Dipetalonema reconditum (0.6%) en un perro de raza Cocker Spaniel de 44 meses de edad, nativo de la ciudad de México e introducido a la zona de estudio a la edad de 24 meses.

Tomando en cuenta que esta parasitosis ya ha sido reportada en la ciudad de México por Mazzotti en 1962, se piensa que la infección por D. reconditum no es autóctona de la localidad.

C O N C L U S I O N E S

- I. Se detectó Dirofilaria immitis en 50 de 120 perros (40%) y Dipetalonema reconditum en 1 de 160 perros (0.6%), muestreados en la ciudad de Chetumal, Quintana Roo.
- II. Los resultados muestran una alta correlación positiva con la edad: 6 - 12 meses (20%); 13 - 24 meses (32%); mayores de 24 meses (72%). Y la talla: perros de talla mediana y grande (65%); perros de talla chica (5%). No se evidenció infección en perros menores de 8 meses.
- III. No se encontró diferencia significativa relacionada con el factor estacional, siendo la frecuencia de 21% y 20% para la temporada de lluvias y secas respectivamente. De la misma manera, no se demostró estadísticamente susceptibilidad a la infección determinada por el sexo o tipo de capa.
- IV. Basados en los resultados obtenidos, se concluye que la ciudad de Chetumal es una zona enzoótica de Dirofilaria immitis.

L I T E R A T U R A C I T A D A

1. Aikawa, M., Abramowsky, C., Powers, K.G., Furow, R.: Dirofilariasis IV. Glomerulonephropathy induced by *Dirofilaria immitis* infection. AM. J. TROP. M. 30 (1): 84091 (1981).
2. Ashley, R.F.: Light and electron microscopy of *Dirofilaria immitis* (Leidy) in *Aedes aegypti* (Linnaeus). Diss. Abstr. Int. 33B (1): 488 (1972).
3. Atwell, R.B.: Early Stages of disease of peripheral pulmonary arteries in canine dirofilariasis. Aust. Vet. J. 56: 157-159 (1980).
4. Bailey, W.S.; Hoerlein, B.F. and Horne, R.D. Heartworms (*Dirofilaria immitis*. Canine Medicine. Ed. Catcott, E.J. 208-218, American Veterinary Publications, Santa Bárbara, Ca. 1963.
5. Barsanti, J.A.: Serum and urine proteins in dogs infected with *Dirofilaria immitis*. Proceedings of the Heartworm Symposium 1977, 18-20 March 1977, Atlanta, Georgia, USA. Veterinary Medicine Publishing-Co. Kansas, USA. 1978.
6. Bemrick, W. J., Bemrick, D. M.: Sugar solution feeding and its effect on the retention of infective *Dirofilaria immitis* larvae in *Anopheles quadrimaculatus*. J. MED. ENT. 6: 278-279 (1969).
7. Blair, L. S., Campbell, W. C.: Immunization of ferrets against *Dirofilaria immitis* by means of chemically abbreviated infection. PARASITE IM. 3 (2): 143-147 (1981).
8. Blair, L. S., Campbell, W. C.: Efficacy of ivermectin against *Dirofi-*

- Larva immitis larvae in dogs. 31, 60 and 90 days after infection. AM. J. VET. RE. 41 (2); (1980)
9. Blanchard, G.L.; Thayer, G. Intravitreal Dirofilaria in a dog. J. AM. ANIM. H. 14 (1): 33-35 (1878).
 10. Boring, J.G.; Shepard, E.H.jr.: Effectiveness of levamisole hydrochloride as an adulticidal drug for Dirofilaria immitis. Proceedings of - the heartworm Symposium 1974, 16-17 march, 1974 Auburn, Alabama, USA. 89-92 Publ; VM Publishing INC. Kansas.USA (1975).
 11. Bradley, R.E.: Levamisole resinate as a Dirofilaria immitis microfilaricide in dogs. J. AM. VET. ME. 169 (3): 3-1-316 (1976).
 12. Bradley, R.E., Alford, B.T.: Efficacy of levamisole resinate against- Dirofilaria immitis in dogs. MOD. VET. Pr. 58 (6): 518-520 (1977).
 13. Burt, J.K., Lipowits, A.J., Harris, J.A.: Femoral artery occlusion by Dirofilaria immitis in a dog. J. AM. VET. RA. 18 (6): 166-169 (1977).
 14. Campo Huerta, J.L. del.: Estudio sobre la frecuencia de Dirofilaria - immitis en canidos atendidos en clínicas particulares. Tesis de licenciatura. Fac. de Med. Vet, y Zoot. UNAM. México, D.F., 1972.
 15. Carlos, E.R.; Carlos, E.T., Directo, A.C.: Epizootiologic studies on- canine filariasis. II Prevalence studies By areas, manner of living - and length of hair. PHILI. J. VET. 10 (2): 122-129 (1971)
 16. Castillejos Escobar, J.; Estudios sobre la frecuencia de filarias en- perros importados. Tesis de licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. - UNAM. México, D.F., 1972.
 17. Coffin, D.L.: Laboratorio Clínico en Medicina Veterinaria. Ed. La Pren

sa Médica Mexicana. México, D.F., 1959

18. Cusick, P.K., Todd, K.S., Jr., Blake, J.A., Daby, W.R.: Dirofilaria immitis in the brain and heart of a cat from Massachusetts. J. AM. ANIM. H. 12: (4) 490-491 (1976).
19. Chavarría Ch., Manuel., Anguiano Tellez, A.: Filariosis de los animales domésticos de México. Revista Mexicana de Medicina Veterinaria y Zootecnia T IV N° 1 17-21 (1946).
20. Chavarría Ch., M.: Comunicación acerca de las filarias encontradas recientemente en animales domésticos del país, Revista Mexicana de Medicina Veterinaria y Zootecnia T IV N°2 57-60 (1946).
21. Chellappah, W.T., Chellappah, G.R., Jr.: Susceptibility of four common Singapore mosquitos to Dirofilaria immitis Leidy. J. MED. ENT. 5: 358-361 (1968).
22. Christensen, B.M.: Observations on the epidemiology of Dirofilaria immitis in urban Ames, Iowa. P. HELM. SOC. 44 (2): 226-228 (1977).
23. Christensen, B.M.: Immune response of Aedes trivittatus to Dirofilaria immitis (Abstract) American Society of Parasitologists: Program and Abstracts of American Society of Parasitologists Fifty-Third - Annual Meeting in conjunction with the American Society of Tropical Medicine and Hygiene, Chicago, Ill. 5 to 10 November, 1978 44: (1978).
24. Christensen, B.M., Hollander, A.L.: Effect of temperature on vector parasite relationships of Aedes Trivittatus and Dirofilaria immitis. P. HELM. SOC. 45 (1):115-119 (1978).
25. Desowitz, R.S.; Barnwell, J.W., Palumbo, N.E. Una, S.R. Perri, S.F.: Rapid decrease of precipitating and reaginic antibodies in D. immitis

- infected dogs wich develop severe reactions following treatment wich diethylcarbamazine.. AM. J. TROP. M. 27 (6):1148-1151 - (1978).
26. Dissanaïke, A.S.: Zoonotic aspects of filarial infections in man. B. WHO. 57 (3): (1979).
 - 27 Eberhard, M.L. Daÿ, J.J., Weinsten, S., Farris, H.E.: Dirofilaria immitis from de eye of a dog in Arkansas. J. PARASITOL 63 - (6): 978 (1977).
 - 28 Ellsworth, J.H., Alva, H.J.: Precipiting test and soluble antigen fluorescent antibody technique for detecting Dirofilaria immitis in dogs. AM. J. VET. RE. 34 (5): 689-692 (1973).
 - 29 Ettinger, S.J., Suter, P.F.: Canine Cardiology 422-439. WB Saunders Co. 1970.
 - 30 Euzéby, J.: Cardio-Vasculopathie parasitaire: La dirofilariose cardio-pulmonaire. REV. MED. VET. 24 (7): 969-990 (1973).
 31. Euzéby, J., Brumpt, M.A.: Little know zoonoses: human dirofilariosis due to Dirofilaria immitis. Bulletin de L'Academie Nationale de Médecine. 161: 48-52 (1977).
 32. Euzéby, J.: Bases et modalites du traitement et de la prophylaxie medicale de la dirofilariose cardio-vasculaire du chien. REV. - MED. VET. 130 (2): 241-256 (1979).
 33. Farnell, D.R.; et al. Prepatent period of Dipetalonema reconditum, in experimentally-infected dogs. J. PARASITOL. 64 (3): 569-567 (1978).

34. Fujita, K., Tanaka, H., Sasa., Shichinohe, K., Asai, Y., Hurokawa, K.: Cross-reaction among filarial species in hemagglutination test. JPN.J. EXP. M. 40: 67-77 (1970).
35. Garlik, N.L.: Adverse drug effects precipitated by microfilariae - of Dirofilaria immitis. CLIN. TOXIC 9 (6): 981-992 (1976).
36. González, Roque.: Estimación proporcional poblacional de dirofilariosis en canideos en el área metropolitana de Monterrey. Tesis de licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot.. Univ. Autónoma de Nuevo León, Monterrey, N.L. (1980).
37. Grieve, R.B., Gebhardt, B.M., Bradley, R.E., Sr. Dirofilaria immitis: cell-mediated and humoral immune responses in experimental-infected dogs. INT. J. PARAS. 9 (4): 275-279 (1979).
38. Grieve, R.B., Mika-Johnson, M., Jacobson, R.H., Cypess, R.H.: Enzyme-linked immunosorbent assay for measurement of antibody responses to Dirofilaria immitis in experimentally infected dogs. AM. J. -- VET. RE. 42 (1):66-69 (1981).
39. Gittelman, H.J., Grieve, R.B., Hitchings, M.M., Jacobson, R.H., Cypess, R.H.: Immunoassay for measurement of antibody to Dirofilaria immitis in dogs. Journal of Clinical Microbiology, 13 (2): 309-312 (1981).
40. Hamilton, D.R., Bradley, R.E. Sr.: Observations on the early death experienced by Dirofilaria immitis-infected mosquitoes (Diptera: Culicidae). J. MED. ENT. 15 (3):305-306 (1979).
41. Honaga, S., Kogure, K., Hamasaki, H., Tagawa, M., Kurokawa, K.: -- Clinicopathologic observation in prepatent period of canine dirofi-

- larriasis. JPN. J. VET. S. 40 (5): 603-614 (1978).
42. Ishihara, K., Kitagawa, H., Ojima, M., Yagata, Y., Suganuma, Y.: Clinicopathological studies on canine dirofilariatal hemoglobinuria. JPN. J. VET. S. 40 (5):225-237 (1978).
43. Jackson, R.F., Lichtenberg, F.V. and Otto, G.F.: Ocurrence of -- adult heartworms in the venae cavae of dogs. J. AM. VET. ME. 141: 117--120 (1962).
44. Jackson, R.F., Seymour, W.G., Growney, P.J.: An Evaluation of thia cetarsamide as an adulticide against Dirofilaria immitis. Proceedings of. the heartworm Symposium 1977, 18-20 March 1977. Atlanta Georgia U.S.A. 82-89 Publ.: Veterinary Medicine Publishing Co., - Kansas, U.S.A. 1978.
45. Jackson, R.F.: The activity of levamisole against the various stages of Dirofilaria immitis in the dog. Proceedings of the heart - worm Symposium 1977, 18-20 March 1977, Atlanta, Georgia, U.S.A. - 111-116 Publ.: Veterinary Medicine Publishing Co., Kansas, U.S.A. (1978).
46. Kelly, J.D.: Detection and diferentiation of microfilarias in canine blood. Aust. Vet. J.49 (1):23-27 (1973).
47. Kipnis, R.M., Frankel, M., Noble, D., Whalen, P.J., Iverson, C.: Microfilariae of Dirofilaria immitis in the urine sediment of a dog. Canine Practice 3(4):49-50, 52 (1976).
48. Klein, J.B., Stoddard, E.D. Dirofilaria immitis recovered from a horse. J. AM. VET. ME. 171 (4):354-355 (1977).

49. Kumada, N., Kawamoto, F., Mizuno, S., Fujioka, H., Imaizumi, M. Su-
yama, M., Yamauchi, S., Yoshii, S. Takeura, S., Morise, M. Sakai,-
S.: Human case of pulmonary infarction due to Dirofilaria immitis.
Jap. J. Parasit. 29 (2): 101-108 (1980).
50. Kume, S.: Adulticidal treatment of Dirofilaria immitis by intramus-
cular injection of trimelarsan. Proceedings of the Heartworm Sympo-
sium 1974, 16-17 March, 1974 Auburn, Alabama, U.S.A. 98-101 Publ.:
Vet. Med. Publishing Co. INC, Kansas U.S.A. 1975.
51. Kume, S.: Adulticidal treatment of Dirofilaria immitis by intramus-
cular injection of trimelarsan. Proceedings of the Heartworm Sympo-
sium 1974, 16-17 March 1974 Auburn, Alabama, U.S.A. VM Publishing,
Inc. Kansas , U.S.A. 1975.
52. Kume, S.: Prophylactic therapy against Dirofilaria immitis with DL-
Tetramisole together with some observations on its microfilarici-
dal and adulticidal efficacy. Proceedings of the Heartworm Sympo-
sium 1974, 16-17 March, 1974, Auburn Alabama, U.S.A. 68-72 Publ.:
VM Publishing Inc., Kansas, U.S.A. 1975.
53. Kutz, F.W.: Effects of temperature on vector mortality and on the -
development of Dirofilaria immitis (Leidy) in Anopheles quadrimacu-
latus Say. Diss. Abstr. Int. 33B (2): 768-769 (1972).
54. Levine, N.D.: Nematode Parasites of Domestic Animals and of Man Bur-
gess Publishing Co. 451-453 1968.
55. Levine, B.G.: Dirofilariasis. Current Veterinary Therapy, Edited -
By Kirk, R.W. W.B. Saunders Co. Fifth Ed. 1974 U.S.A.
56. Levinson, E.D., Ziter, F.M.H., Jr., Westcott, J.L.: Pulmonary le--

sions due to Dirofilaria immitis (dog heartworm): report of four cases with radiographic findings. Dep. Radiology, Hartford Hospital. 131 (2): 305 (1979).

57. Lindemann, B.A.: Dirofilaria immitis encapsulation in Aedes aegypti. MOSQUITO. NE 37 (2): 293-295 (1977).
58. Liu, Si-Kwang.: Pulmonary Vascular Changes in Canine Dirofilaria sis. Pathology of Parasitic Diseases. Edited by S.M. Gaafar. Purdue University Studies, 1971
59. Ludlam, K.W., Jackowski, L.A., Jr., Otto, G.F.: Potencial Vectors of Dirofilaria immitis. J. AM. VET. ME. 157 (10): 1354-1359 (1970).
60. Luttgen, P.J., Crawley, R.R.: Posterior paralysis caused by epidural dirofilariasis in a dog. J. AM. ANIM. H. 17 (1):57-59 (1981)
61. Mazzotti, L., Osorio, M.T.: Presencia de microfilarias sanguíneas en perros de la ciudad de México. Rev. Inst. Salub. Enf. Trop. 2 (3-4): (1941).
62. Mazzotti, L., Chabaud, A.G.: Presence de Dipetalonema reconditum, chez le chien au Mexique. Ann. Paras. Hu. Co. 37 (4): 673-674 - (1962).
63. McCall, J.W., Crouthamel, H.H.: Prophylactic activity of mebendazole against Dirofilaria immitis in dogs. J. PARASITOL 62 (5): -- 844-845 (1976).
64. Mc Greevy, P.B.: Inheritance of susceptibility to Dirofilaria immitis infection in Aedes aegypti with observations on the behaviour of filariae in refractory mosquitoes. Diss. Abstr. Int. 33B (10):

4847 (1973).

65. Merril, J.R., Otis, J., Logan, W.D., Jr., Davis, M.B.: The dog - heart worm (Dirofilaria immitis) in man. An epidemic pending or in progress? J.A.M. MED. A. 243 (10): 1066-1068 (1980).
66. Moorhouse, D.E.: Dirofilaria immitis: a cause of human intraocular infection. INFECTION 6 (4): 192-193 (1978).
67. Mulhern, T.D. (Editor) Culex salinarius Coquillett as a potential vector of Dirofilaria immitis (Leidy). Proceeding and papers of the 42nd Annual Conference of the California Mosquito Control -- Association, Inc., and the 30th Annual Meeting of the American - Mosquito Control Association, Inc., 24-27 February, 1974, Anaheim, California. CMCA Pres. Visalia, Cal. 1974.
68. Munnel, J.F., Wieldon, J.S., Lewis, R.E., Thrall, E.E., Mc. Call, J.W.: Intimal lesions of the pulmonary artery in dogs with experimental dirofilariasis. AM. J. VET. RE. 41 (7):1108-1112 (1980).
69. Noble, E.R. y Noble, G.A.: Parasitología. 336-337, 2º Ed. Ed. Editorial Interamericana México, 1965.
70. Nuñez Alvarez, J.A.: Búsqueda de la dirofilariosis canina en los Estados de Chiapas, Yucatán y Morelos. Tesis de Licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. UNAM. México, D.F., 1981.
71. Nzabanita, E., Priester, W., Farbe, T.: Distribution of canine-Dirofilariasis. CALIF. VET. 36 (1): 24-28 (1982).
72. Omar, M.S.: Distribution of acid phosphatase activity in the larval stages of Wuchereria bancrofti, Brugia malayi, B. Pahangi and Dirofilaria immitis in the mosquito. TROPENMED. P. 28 (1): 100 --

108 (1977).

73. Otto, G.F.: Epizootiology of canine heartworm disease. The Current Knowledge. Ed. Bradley, R.E. Univ. Of. Florida, Gainesville, 1972.
74. Otto, G.F.: Heartworm Disease, Textbook of Veterinary Internal Medicine. Edited by: Ettinger, S.F. VOL. I, 1014-1037, WB Saunders Co. Philadelphia, Pa. 1975.
75. Palumbo, N.E., Perri, S.F., Desowitz, R.S., Una, S.R., Read, G.W.: Preliminary observations on adverse reactions to diethylcarbamazine (DEC) in dogs infected with Dirofilaria immitis. Proceedings of the Heartworm Symposium. Atlanta, Georgia, 18-20 March 1977. 97- - 103 Publ.: Veterinary Medicine Publishing Co., Kansas, USA. (1978).
76. Pigott, R.S.: Prevalence of Dirofilaria immitis infection in pet dogs from the Texas Gulf Coast. SW. VET. 31 (3): 193-196 (1978).
77. Prioleau, W.H. Jr., Parker, E.F., Crandham, R.R., Gregorie, H.B. - Jr.: Dirofilaria immitis (dog heartworm) as a pulmonary lesion in humans. ANN THORAC. 21 (5): 382-385 (1976)
78. Rawlings, C.A., Mac Call, J.W., Lewis, R.E.: The response of the canine's heart and lungs to Dirofilaria immitis. J.AM. ANIM. H. 14 (1): 17-32 (1978).
79. Rawlings, C.A., Lewis, R.E.: Development and resolution of pulmonary arteriographic lesions in heartworm disease, J.AM. ANIM. H. 16 (1): (1980).
80. Rawlings, C.A.: Acute response of pulmonary blood and right ventricular function to Dirofilaria immitis adults and microfilaria. AM.

- J. VET. RE. 41 (2): 244-249 (1980).
81. Rawlings, C.A., Losonsky, J.M., Lewis, R.E., Mc Call, J.M.: Development and resolution of radiographic lesions in canine heartworm disease. J.AM. VET. ME. 178 (11): 1172-1177 (1981).
 82. Rogers, J.S., Newson, H.D.: Comparisons of Aedes Hendersoni and Ae. triseriatus as potencial vectors of Dirofilaria immitis. MOS QUITO NE. 39 (3): 463-466 (1979).
 83. Rowley, J.: The prevalence of heartworm infection in three counties in North Carolina. Canine Practice 8 (2): 45-46, 48-49 (1981)
 84. Schaub, R.G., Rawlings, C.A.: Vascular alteration of canine pulmonary arteries and veins in Dirofilaria immitis infection. Federations Proceedings 38 (3,II) 909 (1979).
 85. Schaub, R.G., Rawling C.A.: Pulmonary Vascular response during -- phases of canine heartworm disease: Scannig electron microscopy - study. AM. J. VET. RE. 41 (7): 1082-1089 (1980).
 86. Schnass, Guillermo.: Spirocerca lupi y Dirofilaria immitis en un caso. Ciencia Veterinaria 3 (1): (1958).
 87. Scott, D.W.:Nodular skin disease associated with Dirofilaria immitis infection in the dog. CORNELL VET. 69 (3): 233-240 (1979).
 88. Segedy, A.K., Hayden, D.W.: Cerebral Vascular accident caused by Dirofilaria immitis in a dog. J. AM. ANIM. H. 14 (6): 752-756 --- (1978).
 89. Shirota, K., Takahashi, R., Fujiwara, A.: Canine interstitial ne-

- phritis with special reference to glomerular lesions and filariasis. Jap. J. Vet. Sci 41: 119-129 (1979).
90. Stewart, G.L., Smith, W.G., Reddington, J.J.: Canine infection -- with Dirofilaria immitis in North Texas. U.S.A. SW. VET. 32 (3): 199-202 (1979).
 91. Suenaga, O.: Studies on the filarial prevalence among dogs and -- the mosquito vectors in Nagasaki City, Western Japan. MED 74 (6): (1972).
 92. Sulaiman I., Townson, H.: The genetic basis of susceptibility to infection with Dirofilaria immitis in Aedes aegypti. Ann. Trop.-- Med. Parasit. 74 (6): 635-646 (1980).
 93. Thrall, D.E., Badertscher, R.R., Mc Call, J.W., Lewis, R.E.: The pulmonary arterial circulation in dogs experimentally infected -- with Dirofilaria immitis. J. AM. VET. RA. 20 (2): 74-78 (1979).
 94. Thrall, D.E., Badertscher, R.R., Lewis, R.E., Mc Call, J.W.: Collateral pulmonary circulation in dogs experimentally infected -- with Dirofilaria immitis: its angiographic evaluation. Veterinary Radiology 21 (3): 131-135 (1980).
 95. Tagoka, Y., Tekeuchi, T., Ito, F.: A case of pleuroneupmonia -- with Dirofilaria immitis in a ringed seal Phoca hispida. Journal of Japanese Association of Zoological Gardens and Aquariums. 17-(4): 98-100 (1975).
 96. Welch, J.S., Dobson, C., Freeman, C.: Distribution and diagnosis of Dirofilaria and Toxocariasis in Australia. Aust Vet. J. 55 -- (6): 265-274 (1979).

97. Weiner, D.J.: The humoral antibodies responses to beagle dogs experimentally infected with Dirofilaria immitis. Diss. Abstr. Int. 34B (1): 461-462 (1973).
98. Weirich, W.E.: Memorias del curso de cardiología. Fac. de Med. - Vet y Zoot. UNAM. México, D.F., 1976.
99. Wong, M.M., Suter, P.F.: Indirect fluorescent test in occult dirofilariasis. AM. J. VET. RE. 40 (3): 414-420 (1979).
100. Xicotencatl Lara, P.: Contribución al conocimiento de la filarioris del perro en México. Tesis de licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. UNAM. México, D.F., 1965.
101. Yoshihara, T., Kanemaru, T., Oikawa, M., Kaneko, M., Kiryu, K., - Ohishi, I., Kume, S.: Four cases of Dirofilaria immitis infection in racehorses. EXP. R. EQUIN. N° 14 1-12 (1977).
102. Zielke, E.: Observations on the development of Dirofilaria immitis in mosquitoes. Z. Angew. Zool. 59 (4): 419-432 (1972).
103. Zymet, C.L.: A shock syndrome related to administration of diethylcarbamazine citrate, producing electrocardiographic changes in a dog with microfilariae of Dirofilaria immitis. VET. MED/SAC 72 (12): 1848-1850, 1852 (1977).