

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA
Y ZOOTECNIA

FRECUENCIA DE MICROFILARIAS DE *Dirofilaria immitis* EN
PERROS RESIDENTES EN EL MUNICIPIO DE IRAPUATO,
GUANAJUATO

TESIS QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MÉDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA

PRESENTA

VIANEY SEGURA HERNÁNDEZ

Asesores:

Dr. Juan Antonio Figueroa Castillo

Dr. Abner Josué Gutiérrez Chávez

México, D.F.

2011



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.

DEDICATORIA

A mis padres, familiares, amigos y a todas aquellas personas que de alguna forma contribuyeron a la realización de este trabajo

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, a los profesores, compañeros y amigos por los conocimientos compartidos.

Gracias a mis asesores Dr. Juan Antonio Figueroa Castillo y Dr. Abner Josué Gutiérrez Chávez por su apoyo y orientación para realizar este trabajo.

Gracias a mi familia por su apoyo incondicional en todo momento.

Esta investigación fue financiada por la Universidad de Guanajuato, a través de la Dirección de Investigación y Posgrado (DAIP) proyecto 000086/10 Prevalencia de *Dirofilaria immitis* en perros residentes en áreas urbanas y rurales del estado de Guanajuato.

CONTENIDO

	Página
RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	2
OBJETIVO	5
HIPÓTESIS	6
MATERIAL Y MÉTODOS	7
RESULTADOS	10
DISCUSIÓN	14
CONCLUSIÓN	17
LITERATURA CITADA	18
ANEXOS	23

RESUMEN

VIANEY SEGURA HERNÁNDEZ. Frecuencia de microfilarias de *Dirofilaria immitis* en perros residentes en el municipio de Irapuato, Guanajuato. (Bajo la dirección del Dr. Juan Antonio Figueroa Castillo y el Dr. Abner Josué Gutiérrez Chávez).

Con el objetivo de determinar la frecuencia de microfilarias de *Dirofilaria immitis* en perros residentes en el municipio de Irapuato, Guanajuato, se colectaron 94 muestras de sangre y se registraron los datos generales de cada perro. La detección de las microfilarias se hizo por la técnica de Knott. Se encontraron 22 perros (23.40%) positivos a *Dirofilaria immitis*, 14 (14.89%) positivos a *Acantocheilonema reconditum* y 6 (6.38 %) tuvieron los dos géneros de microfilarias. Los mayores porcentajes de positivos se encontraron en los machos (27.08 %), en perros de talla mediana (35.13 %), en perros criollos (28.33 %), en zona rural (30.30 %), en los perros que duermen fuera de la casa (25 %) y los que provenían del Centro de Control Canino (CCC). Sin embargo, no se encontraron diferencias estadísticas (ji cuadrada, $P < 0.05$) entre machos y hembras, talla (chica, mediana y grande), raza (criolla y definida), zona (rural y urbana), dormir fuera o dormir dentro de casa y proceder de una casa o del CCC, aunque los perros criollos tienen un factor de riesgo de infección tres veces mayor que los perros de raza definida. En los 22 animales positivos el promedio de microfilarias por área examinada fue de 28.54 ± 61.29 (\pm desviación estándar). No se conocía a Irapuato, Guanajuato como área endémica de *Dirofilaria immitis*, donde la prevalencia es superior al promedio nacional.

INTRODUCCIÓN

Según Georgi¹ y Lee² *et al.* *Dirofilaria immitis* posiblemente es la filaria más importante en medicina veterinaria, ocasiona la enfermedad cardiopulmonar conocida como dirofilariosis o “enfermedad del gusano del corazón”. A las larvas tipo uno (L1) que se encuentran circulando en la sangre de los huéspedes definitivos, se les conoce como microfilarias sanguíneas.

Existen más de 30 especies hospederos definitivos, incluidos el hombre y el perro de *D. immitis*^{3,4}

El nematodo *D. immitis* es transmitido por mosquitos de la familia Culicidae que al alimentarse de un individuo infectado ingieren microfilarias que se desarrollan durante dos meses, llegando a ser infectivas (larva 3) dos semanas después. La larva 3 (L3) es inoculada por el mosquito cuando se alimenta, migra a través del tejido subcutáneo y la adventicia vascular aproximadamente durante 100 días. Durante este periodo ocurren dos mudas. Los adultos jóvenes (L5) entran al sistema vascular de tres a tres y medio meses después de la infección, la L5 llega a las arterias pulmonares entre el quinto y sexto mes posinfección. La concentración de microfilarias aumenta en los siguientes meses y posteriormente disminuye si no ocurre una superinfección.⁵

La localización del parásito adulto de *D. immitis* en el ventrículo derecho y en la arteria pulmonar de los huéspedes, el gran tamaño de las hembras (25-35 cm), así como el número de gusanos causantes de la infección, son los factores que pueden provocar la muerte del individuo, mediado por los desordenes circulatorios crónicos, la falla cardiaca congestiva e incluso un embolismo en las arterias pulmonares.⁵

Se conoce de la presencia de *D. immitis* en muchos países de América Latina, en la costa sureste de Estados Unidos de Norteamérica, Australia, Asia y sur de Europa, existiendo amplias variaciones en la frecuencia de presentación de país a país.^{6,7,8} La prevalencia de la dirofilariosis en México se estima entre el 7.3 y 7.5 %. De acuerdo con el estudio realizado por Guerrero *et al.*⁹ se analizaron 2,599 perros procedentes de 15 ciudades de México, mediante las pruebas de Knott y ELISA, encontraron que los índices más elevados de casos positivos a dirofilariosis canina se localizaron en ciudades costeras del Golfo de México (Tuxpan, Tampico, Ciudad Madero y Mérida); En un estudio realizado por Núñez¹⁰ evaluó muestras de sangre de perros y encontró el 10 % de sueros positivos a *D. immitis* en el estado de Yucatán, mientras que en los estados de Chiapas y Morelos las muestras fueron negativas. En el puerto de Veracruz, Dittel¹¹ observó una prevalencia de 3.6 % en 300 perros. En la ciudad de Mérida, se encontró que la prevalencia para *D. immitis* fue de 6.54 % en perros callejeros,¹² por otro lado, se realizó un estudio en diferentes ciudades: Cuernavaca, Villahermosa, Ciudad de México, Guadalajara, Veracruz y Ciudad Victoria, en las cuales se encontró que la prevalencia osciló entre 0.4 % y 15.6 %.¹³ (cuadro 1).

El presente estudio tiene como antecedente los hallazgos durante la práctica de necropsias realizadas en la escuela de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la División Ciencias de la Vida, Campus Irapuato-Salamanca de la Universidad de Guanajuato durante el semestre Enero-Julio 2010; en el cual se observó la presencia de parásitos adultos de *D. immitis* en el ventrículo derecho del corazón de seis perros de un total de diez animales estudiados. No se encontraron referencias sobre la prevalencia o incidencia de la dirofilariosis

en la región, por lo que resulta de interés determinar la frecuencia de microfilarias en perros y contribuir al estudio de la distribución de *D. immitis* en México.

Cuadro 1. Prevalencia de *Dirofilaria immitis* en perros en México.

Ciudad o Estado	Prevalencia (%)	Referencia
Ciudad de México	4	14
Ciudad de México	0	15
Ciudad de México	2.7	16
Cuernavaca, Morelos	0.4	16
Ciudad Altamirano, Guerrero	30	17
Ciudad Altamirano, Guerrero	27	18
Pungarabato, Guerrero	10.4	19
Ciudad Victoria, Tamaulipas	26	20
Ciudad Victoria, Tamaulipas	13	16
Chetumal, Quintana Roo	40	21
Guadalajara, Jalisco	3.8	16
Mazatlán, Sinaloa	5	22
Mérida, Yucatán	12.15	12
Mérida, Yucatán	8	23
Yucatán	10	10
Monterrey, Nuevo León	14	24
Felipe Carrillo Puerto, Quintana Roo	20.8	25
Puerto de Veracruz, Veracruz	3.6	11
Veracruz	0.66	26
Veracruz, Veracruz	9.2	16
Veracruz	26	27
Veracruz	88.8	28
Villahermosa, Tabasco	15.6	16
Tabasco	25	29
Querétaro, Querétaro	1.3	30

OBJETIVO

Determinar la frecuencia de microfilarias de *Dirofilaria immitis* en perros residentes en el municipio de Irapuato, Guanajuato.

HIPÓTESIS

La frecuencia de perros positivos a microfilarias de *D. immitis* en Irapuato, Guanajuato, es mayor al promedio nacional 7.5 %.

MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se llevó a cabo en Irapuato, Guanajuato. El municipio se localiza 101°02'00" y 101°26'30" de longitud oeste y a los 20°48'42" y 21°13'03" de latitud norte. Altura de 2,400 msnm. Existen dos tipos de climas, semicálido en la zona sur y sureste, y templado subhúmedo en las zonas restantes del municipio. Alcanza una temperatura media anual de 18.5°C (3°C a 36°C); a su vez la precipitación pluvial anual es de 697 mm. Existen varios cuerpos de agua como son: La Esperanza, La Purísima, La presa de la Soledad y presa las Torres. Las principales corrientes de agua son: Río Guanajuato, Río Las Torres y Río Palo Grande.³¹

Se colectaron muestras de sangre de 94 perros durante los meses de marzo y abril del 2011, la elección de los perros se hizo por conveniencia, (excluyendo perros menores de 7 meses, perros agresivos o que vivieran fuera del área de estudio), se repartieron volantes en clínicas veterinarias y en la escuela de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Campus Irapuato-Salamanca de la Universidad de Guanajuato, en los cuales se informaba sobre la prueba de detección del "gusano del corazón". También se tomaron muestras de perros del Centro de Control Canino de Irapuato (CANI).

Los perros muestreados fueron aquellos cuyos dueños accedieron a cooperar y que cumplían con los requisitos antes señalados. A cada perro se le colectó una muestra de sangre (vena cefálica, safena o yugular) en tubos con EDTA. Las muestras se identificaron y conservaron en refrigeración hasta su análisis. Se registraron los datos generales de los perros (sexo, talla, edad y raza) y posibles factores de riesgo como: Grado de urbanización de la colonia o

ranchería donde vive el perro y exposición a los mosquitos (si duerme afuera o dentro de la casa).

Análisis de las muestras. La búsqueda de microfilarias se realizó mediante la técnica de Knott modificada, utilizando un mL de sangre y azul de metileno como colorante³². De cada muestra se contabilizaron las microfilarias en un área de 484 mm² (el área bajo un cubreobjetos de 22 mm x 22 mm), con el objetivo de 10X, cuando no se observaron microfilarias se examinó otra superficie de igual tamaño, si en esta repetición no se encontraban microfilarias, la muestra se consideró negativa. La identificación de los géneros se realizó con el objetivo de 40X o 100X, considerando las características morfométricas de las microfilarias (cuadro 2, figuras 1 y 2).

Cuadro 2. Características morfológicas de las microfilarias en perros^{3,33}

Especie	Largo (promedio μ)	Largo (rango μ)	Anchura (rango μ)	Otras características
<i>D. immitis</i>	313	307 – 322	4.5 – 7.3	Extremo anterior cónico, posterior recto
<i>A. reconditum</i>	270.6	240 – 293	3.5 -6.5	Extremo anterior globoso, posterior en gancho

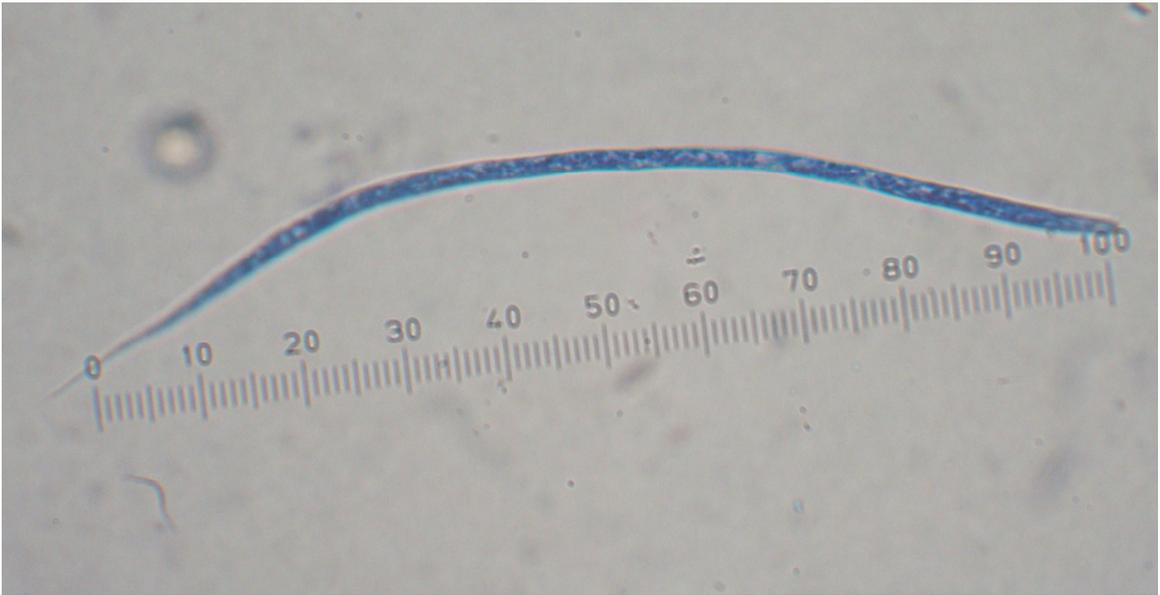


Figura 1. Microfilaria de *Dirofilaria immitis* a 1000 aumentos

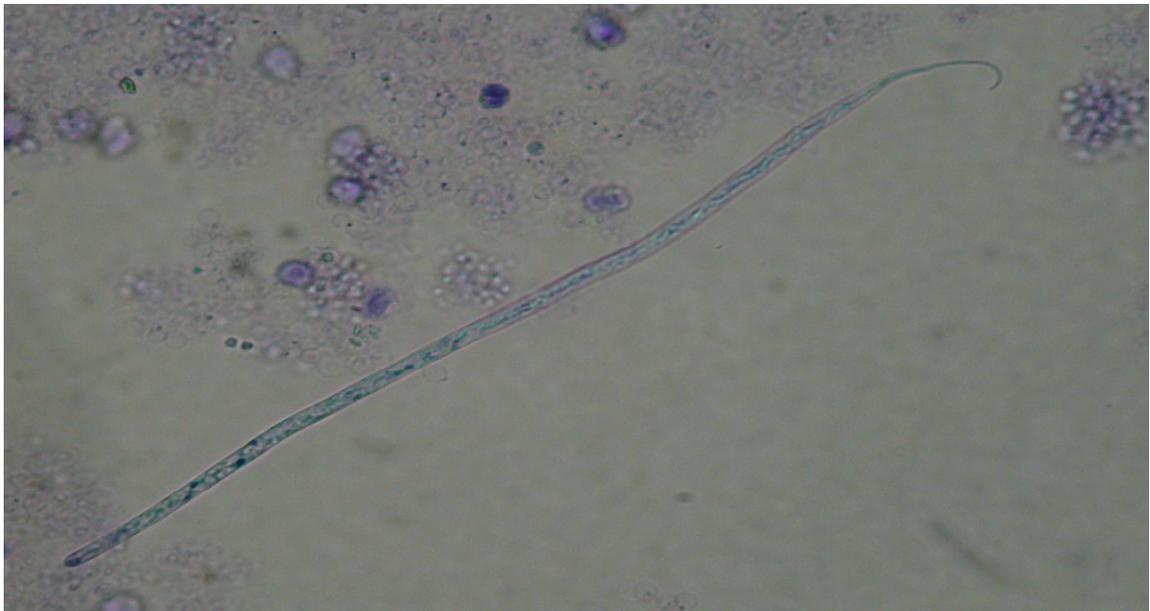


Figura 2. Microfilaria de *Acantocheilonema* (sin. *Dipetalonema*) a 1000 aumentos

Análisis de resultados. Se obtuvieron promedios, porcentajes e intervalos de confianza al 95 % de perros positivos a microfilarias de *Dirofilaria immitis* y se determinó la asociación mediante la prueba de Ji-cuadrada, de las variables sexo, talla (chica, mediana, grande), raza (criollo y definida), zona rural o urbana, dormir fuera o dentro de casa y origen (CANI o con dueño), con la presencia de microfilarias de *D. immitis*.³⁴

Se utilizó un análisis de regresión logística en pasos con el programa Statgraphics plus Versión 5.1³⁵, en donde se consideró la presencia de microfilarias de *D. immitis* como variable dependiente. En el modelo se incluyeron como variables independientes la edad (cuantitativas), así como el sexo, raza (criollo, definido), talla (chica, mediana, grande), zona (rural, urbana), lugar donde duerme (interior, exterior de la casa) y el origen (CANI, dueño) como variables categóricas. En un primer análisis se usó un modelo que incluyó todas las variables independientes y posteriormente se identificaron las variables con mayor asociación con el diagnóstico de *D. immitis*, manteniendo en el modelo las variables con $p \leq 0.10$.

RESULTADOS

Se examinaron 94 perros en total (48 machos y 46 hembras), resultaron positivos a microfilarias 30 (31.91%) con un intervalo de confianza al 95% (IC) de 23.36 a 41.88 %. De estos perros, 24 (25.53 %; IC de 15.12 a 41.77 %) presentaron un solo género de microfilaria (infección única) y 6 (6.38 %; IC de 2.95 a 13.23 %) tuvieron una infección mixta (los dos géneros de microfilarias; *Dirofilaria* y *Acantocheilonema*).

Positivos a *D. immitis*, se encontraron 22 perros (23.40%; IC de 15.99 a 32.90 %) y 14 (14.89%; IC 9.08 a 23.45) positivos a *A. reconditum*.

Los mayores porcentajes de animales positivos se encontraron en los machos (27.08 %), en perros de talla mediana (35.13 %), en perros criollos (28.33 %), en zona rural (30.30 %), en los perros que duermen fuera de la casa (25 %) y los que provenían del CANI. Sin embargo, no se encontraron diferencias estadísticas (ji cuadrada, $P < 0.05$) entre machos y hembras, talla (chica, mediana y grande), raza (criolla y definida), zona rural y urbana, dormir fuera o dormir dentro de casa y proceder de una casa o del CANI (Cuadro 3).

En los animales positivos ($n = 22$) el promedio de microfilarias por área examinada fue de 28.54 ± 61.29 (promedio \pm desviación estándar). (Cuadro 4).

Cuadro 3. Comparación de la prevalencia de microfilarias de *Dirofilaria immitis* en perros de Irapuato, Guanajuato y las variables demográficas

Variables		Perros examinados Núm.	Perros Positivos Núm. (%)	Intervalo de confianza al 95%
Sexo	Hembras	46	9 (19.56)	10.65 a 33.17
	Machos	48	13 (27.08)	16.56 a 40.99
Talla	Grandes	21	3 (14.28)	4.98 a 34.63
	Medianos	37	13 (35.13)	21.82 a 51.24
	Chicos	36	6 (16.66)	7.87 a 31.89
Raza	Criollo	60	17 (28.33)	18.50 a 40.76
	Definida	34	5 (14.70)	6.44 a 30.12
Zona	Rural	33	10 (30.30)	17.35 a 47.33
	Urbana	61	12 (19.67)	11.62 a 31.30
Lugar donde duerme	Interior de la casa	10	1 (10)	1.78 a 40.41
	Exterior de la casa	84	21 (25)	16.97 a 35.21
Origen	CANI	53	14 (26.41)	16.43 a 39.58
	Dueño	41	8 (19.50)	10.23 a 34.01
Edad	Menores de 50	66	13 (19.69)	11.88 a 30.83
	De 51 a 100	19	7 (36.84)	19.14 a 58.96
	De 101 a 150	9	2 (22.22)	6.32 a 54.74
Totales		94 (100)	22 (23.40)	15.99 a 32.90

Cuadro 4. Promedio de microfilarias de *Dirofilaria immitis* en perros de Irapuato, Guanajuato y las variables demográficas

Variables		Perros Positivos Núm.	Promedio <i>D. immitis</i>	D.E
Sexo	Hembras	9	29.66	40.96
	Machos	13	27.76	73.85
Talla	Grandes	3	101	148.7
	Medianos	13	20.92	34.84
	Chicos	6	8.83	15.86
Raza	Criollo	17	15.23	30.0
	Definida	5	73.80	113.0
Zona	Rural	10	51.8	86.3
	Urbana	12	9.1	12.8
Lugar donde duerme	Interior de la casa	1	41.0	NA
	Exterior de la casa	21	27.95	62.7
Origen	CANI	14	20.42	34.08
	Dueño	8	42.75	93.57
Totales		22	28.54	61.29

DE= Desviación estándar NA = No aplica.

En el cuadro 5 se muestran los resultados de la regresión logística, se encontró que los perros criollos tienen 3 veces más probabilidades de infectarse con *D. immitis* que los perros de raza definida, considerándose un factor de riesgo.

Cuadro 5. Resultados del análisis de regresión logística hacia delante en pasos para el diagnóstico de microfilarias de *D. immitis* en muestras de sangre de perros residentes de Irapuato, Gto., México.

Parámetro	Estimado	E. E	Odd	IC 95% (límites)		Significancia
				inferior	superior	
Constante	-2.537	1.088	1.012	---	---	---
Raza criolla	1.134	0.521	3.111	1.104	8.762	0.021
Lugar donde duerme	-1.564	1.204	0.209	-3.960	0.831	0.194
Sexo	0.430	0.480	1.538	-0.523	1.385	0.466
Talla	0.776	0.826	2.174	-0.865	2.419	0.567
Edad	0.011	0.300	1.012	-0.002	0.026	0.109
Origen	-0.167	0.624	0.845	-1.408	1.073	0.840
Zona	-0.399	0.576	0.670	-1.545	0.747	0.538

E. E. Error estándar

DISCUSIÓN

La prevalencia de perros positivos a microfilarias de *D. immitis* en Irapuato, Guanajuato (23.40 %), es similar a la observada por otros autores como: Castillo²⁷ en Veracruz, Ver; Hernández¹⁸ y Racanco *et al.*¹⁷ en ciudad Altamirano, Guerrero; García *et al.*²⁹ en Tabasco. (cuadro 1)

En otros lugares la prevalencia ha sido más baja, como en la Ciudad de México, en donde Castillejos¹⁴ describe un 4%; Dittel¹¹ en Veracruz, encontró un 3.6% y Díaz²⁶ en la misma ciudad reporta un 0.66%; Domínguez y Ramírez²³ y Rodríguez Vivas *et al.*¹² en Mérida, Yucatán observaron una prevalencia de 8 % y 6.54 % respectivamente. Por otra parte, Sámano *et al.*¹⁶, en un estudio realizado en seis ciudades encontró las siguientes prevalencias: Cuernavaca (0.4%), Ciudad de México (2.7%), Guadalajara (3.8%), Veracruz (9.2%), Villahermosa (15.6%) y Ciudad Victoria, Tamaulipas (13%).

En contra parte, Rivero²¹ y Pérez²⁸ en Chetumal, Quintana Roo y Veracruz encontraron una prevalencia mayor a la observada en este estudio (40 % y 88.8 % respectivamente).

De acuerdo con Bautista *et al.*³⁶, en aquellos lugares donde la prevalencia de dirofilariosis canina es superior al 10%, la prevalencia en los humanos se acerca al 5%. A pesar de que la dirofilariosis es una zoonosis importante, no existen suficientes estudios sobre su distribución en México.

En cuanto a la prevalencia de *D. immitis* por variables demográficas se observó lo siguiente

- Sexo. No se encontraron diferencias estadísticas entre machos y hembras. Esto coincide con los hallazgos de Rodríguez *et al.*¹²; Miller

y Crosbie.³⁷ Pero difiere de Roberts³⁸ y Sámano *et al.*¹⁶ que encontraron mayor frecuencia de positivos en machos, mientras que Rivero²¹ lo hace en hembras.

- Talla. No hubo diferencias estadísticas entre perros de talla chica, mediana y grande lo cual está de acuerdo con lo observado por Sámano *et al.*¹⁶ y difiere de lo reportado por Rivero²¹ que encontró una mayor frecuencia en perros de talla mediana y grande.
- Hábitat. No se observaron diferencias estadísticas entre los perros que duermen dentro o fuera de la casa. Al respecto, Miller y Crosbie,³⁷ observaron que los perros que durante el día pasan al menos 50% de su tiempo en el exterior tienen más probabilidades de infectarse que los que lo pasan en el interior.
- Raza. No se detectaron diferencias estadísticas entre perros criollos y perros de alguna raza. Lo cual coincide con Orozco.³⁹ Sin embargo, se encontró que los perros criollos tienen tres veces más riesgo de infección que los de raza definida ($p=0.02$). Según Rawlings y Calvert,⁴² las razas más expuestas e infectadas con mayor frecuencia son Pastor Alsaciano, Pointer Inglés, Setters, Retrievers y Beagle. El Boxer tiene una incidencia inusualmente alta. En general los perros de casta grande (más de 22 kilos) son más afectados.^{43,44} Y no se han encontrado diferencias entre animales de pelo largo o corto.^{16,21,37,40,41}
- Zona. No se encontraron diferencias estadísticas entre perros de zona urbana o rural. De acuerdo con Gómez *et al.*,³ la población canina con mayor riesgo a la infección con *D. immitis* es la sometida

a constantes contactos con el mosquito vector, tales como los perros no controlados de áreas rurales, los que no tienen un cobijo permanente, los de caza o pastoreo y los que son trasladados a lugares endémicos, aun cuando los desplazamientos sean de corta duración. En el municipio de Irapuato existen varios cuerpos de agua como son: La Esperanza, La Purísima, La presa de la Soledad, presa las Torres, y los ríos Guanajuato, Las Torres y Palo Grande que pueden ser un hábitat propicio para el desarrollo de las fases acuáticas de los mosquitos intermediarios.

- Origen. No se observaron diferencias estadísticas entre perros con dueño y perros del Centro de Control Canino. Lo cual coincide con lo observado por Bolio³¹ en Mérida, Yucatán.
- Edad. Rivero²¹ y Glickman y Grieve⁴¹ encontraron una correlación entre la edad y la frecuencia de perros con *D. immitis*. De acuerdo con Gómez³, las mayores prevalencias se presentan en perros de 3-7 años y las menores en perros de más de 10 años, tiempos relacionados con la vida media del parásito (5-7 años) y con la respuesta inmunitaria del huésped.

En cuanto a la prevalencia de *Acantocheilonema* (sin. *Dipetalonema*) *reconditum*, en los perros de Irapuato, Guanajuato (14.89 %), fue mayor a la reportada por Rodríguez Vivas *et al.*¹² en perros callejeros de la ciudad de Mérida, Yucatán (7.47 %) y a la prevalencia global (3.8 %) observada por Sámano *et al.*¹⁶ en seis ciudades de México (Cuernavaca, Ciudad de México, Guadalajara, Veracruz, Villahermosa y Ciudad Victoria). (cuadro 1).

CONCLUSIÓN

No se conocía a Irapuato, Guanajuato como área endémica de *Dirofilaria immitis*, donde la prevalencia es superior al promedio nacional (7.3 a 7.5 %). No se encontraron diferencias estadísticas (ji cuadrada, $P < 0.05$) entre machos y hembras, talla (chica, mediana y grande), raza (criolla y definida), zona rural y urbana, dormir fuera o dormir dentro de casa o en cuanto al origen de la muestra (perro con dueño o perro del Centro de Control Canino), aunque los perros criollos tienen un factor de riesgo tres veces mayor que los perros de raza.

LITERATURA CITADA

1. Georgi JR, Georgi ME. Parasitología en Clínica Canina. Interamericana-McGraw-Hill. 1994.
2. Lee ACY, Susan P. Montgomery SP, Theis JH, Blagburn BL, Eberhard ML. Public health issues concerning the widespread distribution of canine heartworm disease. Trends Parasitol. 2010;26:168-173.
3. Gómez BM, Rojo VFA, Guerrero J. Filariasis. En Parasitología Veterinaria. McGraw-Hill Interamericana. Madrid 1999.
4. Vera MY, Ibarra VF, Domínguez AJL. Dirofilariosis. En: Enfermedades Parasitarias en Perros. Castdel. México, DF. 2006.
5. Calvert CA. Dirofilariosis. In: Birchard SJ y Sherding RG (editores). Manual Clínico de Procedimientos en Pequeñas Especies: McGraw Hill-Interamericana, España: 1996.
6. Bidgood A, Collins GH. The prevalence of *Dirofilaria immitis* in dogs in Sydney. Austral. Vet J 1996; 73:103-104.
7. Genchi C, Rinaldi L, Cascone C, Mortarino M, Cringoli G. Is heartworm disease really spreading in Europe?. Vet. Parasitol 2005; 133: 137-148.
8. McCall JW, Guerrero J, Genchi C, Kramer L. Recent advances in heartworm infection. Vet. Parasitol 2004; 125: 105-130.
9. Guerrero J, de la Hitte JD, Genchi C, Rojo FA, Gomez-Bautista M, Varela C, et al. Update on the distribution of *Dirofilaria immitis* in dogs from Southern Europe and Latin America. In: Soll, M.D. (Ed.), Proceedings of the Heartworm Symposium'92. American Heartworm Society, 1992 : 31-37.
10. Núñez AJA. Búsqueda de la dirofilariosis canina en los Estados de: Chiapas, Yucatán y Morelos (tesis de licenciatura). México D.F.: Universidad Nacional Autónoma de México, 1981.

11. Dittel RA. La dirofilariasis en el perro en el Puerto de Veracruz, Ver (tesis de licenciatura). Veracruz (Veracruz) México: Universidad Veracruzana, 1981.
12. Rodríguez VRI, Domínguez AJL, Solís RFA, Cob GLA. Prevalencia de *Dirofilaria immitis* en perros callejeros de la ciudad de Mérida, Yucatán, México. Vet Mex 1994; 25:145-148.
13. Sámano GRF. Prevalencia de *Dirofilaria immitis* en perros de seis ciudades de México (tesis de licenciatura). México, D.F. : Universidad Nacional Autónoma de México, 1990.
14. Castillejos EJ. Estudios sobre la frecuencia de dirofilaria en perros importados (tesis de licenciatura). México, D.F.: Universidad Nacional Autónoma de México, 1972.
15. Del Campo HJL. Estudio sobre la frecuencia de *Dirofilaria immitis* en canideos atendidos en clínicas particulares (tesis de licenciatura). México D.F.: Universidad Nacional Autónoma de México, 1972.
16. Sámano GRF, Nájera FR, Herrera RD y Quiróz RH. Frecuencia de *Dirofilaria immitis* en perros de seis ciudades de México. Vet Mex 1996; 27:107-109.
17. Racanco DJ, De la Cruz B, Muñoz OS, Santos CME, Ocampo AJ, Estrada FJR, Araujo BF. Prevalencia de *Dirofilaria immitis* en perros domiciliarios de Cd. Altamirano, Guerrero. México. Memorias del XIV Congreso Internacional de medicina, cirugía y zootecnia en perros, gatos y otras mascotas. Acapulco (Guerrero) México, 2011.
18. Hernández SS. Determinación de la frecuencia de *Dirofilaria immitis* en perros domésticos en Ciudad Altamirano, Guerrero. México. Tesis de Licenciatura. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Autónoma de Guerrero 1993.
19. Albarrán SY y Alvarez PA. Prevalencia de *Dirofilaria immitis* en perros domésticos en el municipio de Pungarabato, Guerrero. México. Tesis de

- Licenciatura*. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Autónoma de Guerrero. 2008.
20. Vega PCA. Presencia de *Dirofilaria immitis* en perros de ciudad Victoria, Tamaulipas, México detectadas por cuatro técnicas de laboratorio y su comprobación a la necropsia (tesis de licenciatura). México D.F.: Universidad Nacional Autónoma de México, 1985.
 21. Rivero MJP. Frecuencia estacional de *Dirofilaria immitis* en perros de la ciudad de Chetumal, Quintana Roo (tesis de licenciatura). México, D.F. : Universidad Nacional Autónoma de México, 1984.
 22. Ortiz SAA. Frecuencia de *Dirofilaria immitis* a través de la prueba de ELISA en perros de la Ciudad de Mazatlán, Sinaloa (tesis de licenciatura). México, D.F. : Universidad Nacional Autónoma de México, 1992.
 23. Domínguez AJ y Ramírez CG. Frecuencia de microfilarias circulantes en caninos callejeros de la Ciudad de Mérida. Memorias de la V reunión anual de parasitología veterinaria. Toluca, Estado de México. Asociación Mexicana de Parasitología Veterinaria A.C. México, D.F., 1984.
 24. Hinojosa HML. Detección de anticuerpos contra antígenos somáticos de *Dirofilaria immitis* en perros clínicamente sanos (tesis de licenciatura). Monterrey, Nuevo León, México. Universidad Autónoma de Nuevo León. 1994.
 25. Sánchez FAH. Frecuencia de la *Dirofilaria immitis* en perros del municipio de Felipe Carrillo Puerto, Quintana Roo (tesis de licenciatura). México, D.F.: Universidad nacional Autónoma de México, 1984.
 26. Díaz CAA. Estudio sobre la prevalencia y anatomía patológica de *Dirofilaria immitis* en canideos del Puerto de Veracruz (tesis de licenciatura). Veracruz (Veracruz) México : Universidad Veracruzana, 1984.
 27. Castillo PJ. Incidencia de filarisis canina en el Puerto de Veracruz (tesis de licenciatura). Veracruz (Veracruz) México: Universidad Veracruzana, 1981.

28. Pérez CGI. Determinación de la prevalencia de dirofilariosis canina en poblaciones seleccionadas (tesis de licenciatura) México, D.F.: Universidad nacional Autónoma de México, 2002.
29. García HRA, Torres COM, Cruz PA, Thomas TJA, Zamudio S. Determinación de la prevalencia de microfilariasis en perros de Tabasco, México (avances). Memorias del XIV Congreso Internacional de medicina, cirugía y zootecnia en perros, gatos y otras mascotas. Acapulco (Guerrero) México, 2011.
30. Cantó GJ, García MP, García A, Guerrero MO y Mosqueda J. The prevalence and abundance of helminth parasites in stray dogs from the city of Queretaro in central México. *Journal of Helminthology*, 2010: 1-7.
31. Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). Información Nacional por entidad federativa y municipios. <http://www.inegi.org.mx/sistemas/mexicocifras/default.aspx>.
32. Besné MA, Figueroa CJA, Quiroz RH, Ramírez GA, Ramos ME. Manual de prácticas de laboratorio de parasitología. FMVZ-UNAM. México: 2005.
33. Soulsby E JL. Parasitología y Enfermedades Parasitarias en los Animales Domésticos. 7ª ed. Interamericana. México: 1990.
34. Navarro FR. Introducción a la bioestadística. Análisis de variables binarias. McGrawHill. México: 1988.
35. Statgraphics plus Versión 5.1.
36. Bautista GCR, Arroyo RM, Velasco CO, Canto OL. Comparación de las pruebas quantitative buffy coat, frotis grueso de sangre y observación directa para el diagnóstico de la infección por *Dirofilaria immitis* en perros de tres zonas geográficas de México. *Vet Mex*. 2001;32:153-156.
37. Miller LL, Crosbie RP. Canine heartworm (*Dirofilaria immitis*) in Fresno and Madera Counties, California: Prevalence differences between foothill and valley habitats. *Vet Parasitol*. 2011;175:84-91.

38. Roberts EP. A study of dog heartworm (*Dirofilaria immitis*) in the Baltimore Washington area. Am. J. Vet. Res. 1985; 45: 3418-3421.
39. Orozco CS, Arango M, Cardona W. Detección de antígenos de *Dirofilaria immitis* en caninos del Área Metropolitana del Valle de Aburrá. Rev Col Cienc Pec. 2006;19: 280-290.
40. Bolio GME, Rodríguez VRI, Sauri ACH, Gutiérrez BE, Ortega PA, Colin FRF. Prevalence of *Dirofilaria immitis* infection in dogs from Mérida, Yucatán, México. Vet. Parasitol 2007; 148:166-169.
41. Glickman LT y Grieve RB. Serologic pattern of canine heartworm (*Dirofilaria immitis*) infection. Am. J. Vet. Res. 1984; 45: 1178-1183.
42. Rawlings CA y Calvert CA. Verminosis cardiaca. En: ETTINGER SJ, FELDMAN EC. Tratado de medicina interna veterinaria. 4a. edición, Inter-Médica. Buenos Aires, Argentina 2002.
43. Polizopoulou ZS, Koutinas AF, Saridomichelakis MN, Patsikas MN, Leontidis LS, Roubies NA y Desiris AK. Clinical and laboratory observations in 91 dogs infected with *Dirofilaria immitis* in northern Greece. Vet. Rec. 2000; 146: 466-469.
44. Selby LA, Corwin RM y Hayes HM. Risk factors associated with canine heartworm infection. J. Am. Vet. Med. Assoc. 1980; 176: 33-35.
45. Labarthe N, Guerrero J. Epidemiology of heartworm: What happening in South America and Mexico?. Vet. Parasitol. 2005;133:149-156.

ANEXO

El tamaño de la muestra se determinó utilizando la fórmula para porcentajes medios:¹⁴

$$N=KP(1-P)/e^2 \qquad N=3.8416 \times 0.60 (1- 0.60)/0.1^2= 92.19 \approx 93$$

Donde:

N es el tamaño de la muestra

K es la confiabilidad = a 3.8416 para 95 % de confiabilidad

e es la precisión del estimador = a 10 %

P es el valor esperado de perros infectados con *D. immitis* = a 60 %, según los hallazgos en las necropsias.