

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



EVALUACION DIAGNOSTICA DE DIROFILARIA IMMITIS POR EL
METODO DE OBSERVACION DIRECTA Y EL DE KNOTTS
MODIFICADO, EN LA CIUDAD DE GUADALAJARA JALISCO.

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A

ALEJANDRO MONRAZ NAVARRO

ASESOR: M. V. Z. RICARDO DIAZ VILLALOBOS

GUADALAJARA, JALISCO. 1985

A MI PADRE:

Hombre ejemplar que me
guió por el camino del bien
y me brindó su apoyo, cariño y
comprensión durante toda mi
carrera.

A MI MADRE:

Por el cariño y abnegación que
ha demostrado durante toda mi
vida.

A MIS HERMANOS:

Mis amigos de siempre.

A LAURA ANGELICA:

Por su cariño y comprensión.

AL DR. RICARDO DIAZ VILLALOBOS:

*Mi asesor, que a lo largo de mi
carrera me demostró amistad y
me brindó su ayuda desinteresada.*

A MIS MAESTROS:

*Conjunto fundamental en la
formación de mi carrera.*

A MIS SINODALES:

DR. ABEL BUENROSTRO SILVA

DR. ANTONIO OROZCO SANCHEZ

DR. VICTOR BARRAGAN CANO

DR. EDUARDO NEVARES SALAS

DR. MARIO MORTOLA VAZQUEZ

Con admiración y respeto.

A LA UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA:

*Por la oportunidad que me brindó
para mi superación en la vida.*

I N D I C E

INTRODUCCION-----	1
OBJETIVO -----	9
MATERIAL Y METODO-----	10
RESULTADOS-----	13
DISCUSION-----	15
CONCLUSIONES-----	17
SUMARIO -----	18
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS-----	20

INTRODUCCION

La *microfilariasis* es una enfermedad producida por la infección de un parásito llamado *Dirofilaria*, el cual afecta a los perros, animales silvestres y al hombre. Existen tres tipos de *Dirofilaria*, los cuales son muy parecidos morfológicamente, siendo éstos: *Dirofilaria immitis*, *Dirofilaria repens* y un parásito al cual varios Autores lo nombran como *Dipetalomena reconditum* y otros como *Dirofilaria reconditum*. (12,17,19)

La *Dirofilaria immitis* pertenece a la clase de los Nematodos, cuyas formas larvarias (*microfilarias*) se localizan en la sangre de los perros y los huéspedes definitivos, en tanto que las formas adultas se localizan en el corazón de los perros, (12) encontrándose también en cerebro (6).

La *Dirofilaria immitis* tiene una boca sin labios, un esófago corto y delgado. El extremo posterior del macho es romo y enrollado en espiral y tiene unas pequeñas alas caudales, presenta de cuatro a seis pares de papilas preanales, dos intermedias y cuatro post-anales. La cola de la hembra es redondeada, la vulva se encuentra exactamente por detrás del esófago. La hembra es vivípara y produce *microfilarias*, las cuales se encuentran en los huéspedes definitivos. (1, 2,9,12,13). El parásito adulto es blanquecino, filiforme y -

mide 25 mm. de longitud, la microfilaria mide 315 micras de longitud (12,13,17).

La *Dirofilaria immitis* se ha encontrado como parásito de humanos; en 1965 Beaver y Orihel informaron sobre infestaciones de personas en los E.U. (5). A partir de entonces se han registrado numerosos casos, en Japón se informó sobre 8 casos en 1969; Yoshimura detectó el parásito en el corazón de 2 pacientes y en el pulmón en 17 pacientes (9,22).

La distribución de la *Dirofilaria immitis* es cosmopolita a nivel del mar y de los trópicos y subtropicos. Es común en las costas de China, en las Islas del Oeste del Pacífico y parte del Japón, se ha encontrado en Australia, Italia, -- así como en las costas del Golfo de México, América Central y la parte del Norte de Sudamérica. en el continente America no se considera un país altamente infectado a los Estados Unidos, a excepción de las zonas áridas de Arizona, Nevada y Utha. (5,6,13,14,15,18,19)

En la ciudad de México, se encontró que perros del D.F. estaban parasitados con *Dirofilaria immitis* (14).

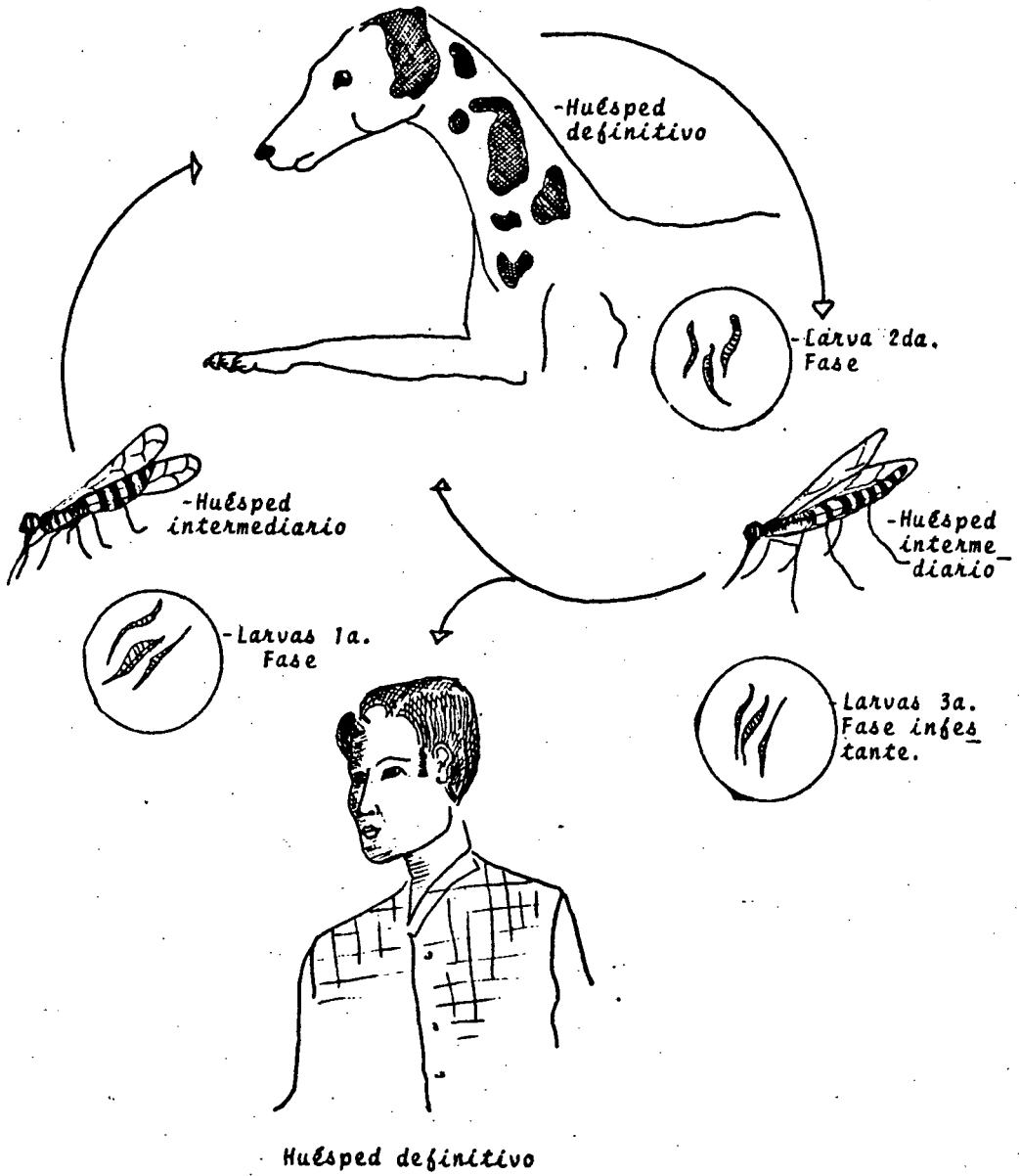
En unos estudios realizados en México, se comprobó la existencia del parásito en perros de procedencia extranjera, los cuales radicaban en los Estados de Veracruz, Oaxaca y Mo

relos, y en el estado de Colima, en la ciudad de Tecomán se encontró el parásito en perros originarios del mismo estado (20, 21).

El ciclo biológico de *Dirofilaria immitis* es indirecto, el huésped intermediario es el mosquito de los Géneros *Culex pipiens*, *Aedes aegypti*, el *Anopheles*, el *Mizomyia* y el *Mizorinchuz* (2, 12, 14, 18).

Cuando uno de los mosquitos de estos géneros se alimenta de un huésped infectado con microfilarias, absorbe junto con la sangre cierto número de microfilarias las cuales emigran hacia los tubulos de Malphigi donde se desarrollan hasta convertirse en larvas de tercera fase (infestante) en un período de dos semanas, de ahí emigran a los órganos bucales del mosquito, pasando al huésped definitivo cuando los mosquitos se alimentan de nuevo (12). Las fases inmaduras se desarrollan y crecen en las fascias intramusculares o en el tejido subcutáneo durante dos meses, comenzando la migración al ventrículo derecho llegando de dos a tres meses después de la infestación (8, 9, 11, 12, 13, 17).

Se han observado microfilarias en la orina y en la sangre de cachorros neonatos, significando que las microfilarias pasan a través de los vasos genito-urinares (15).



Las microfilarias entran en el líquido amniótico de los fetos en desarrollo. La infestación a través de la placenta es el resultado de la capacidad de perforación que tienen -- las larvas de *Dirofilaria immitis* (15,19).

Los huéspedes definitivos además del perro pueden ser, - el hombre, el gato y algunos animales silvestres como el zorro, coyote (11,12,13,19).

Las lesiones que causan las microfilarias son siempre - a nivel de corazón y pulmones (13). Otto señaló en una discusión de la patología y síntomas clínicos, que no es rara - la aparición de estas larvas en la vena cava, así como también en tórax y bronquios (1,12).

La acción patógena de *Dirofilaria immitis*, puede ser debida tanto a las formas adultas como a las formas jóvenes; - de esta manera la mayor parte de los perros pueden no presentar síntomas definidos. Frente a estos cuadros asintomáticos existen cuadros clínicos definidos como:

Síndrome cardio-pulmonar

Síndrome Nervioso

Síndrome Cutáneo

Síndrome agudo de Embolia pulmonar (1,12,16,22).

Los síntomas más frecuentes en el perro son: Tos ronca y seca, respiración entrecortada, adelgazamiento, pérdida de apetito, edema y ascitis (2).

Cuando la enfermedad progresa habrá además: fiebre, hematuria, hiperemia pulmonar, hipertrofia hepática y esplénica, prurito y la formación de nódulos cutáneos (2).

Los principales efectos del parásito adulto en el huésped definitivo por la acción mecánica de *Dirofilaria immitis* son: obstrucción de los conductos sanguíneos y linfáticos, dificultando la circulación a nivel del ventrículo derecho del corazón, necrosis y pérdida de la función del cerebro y médula espinal. (2,6,17)

La forma clínica por *Dirofilaria immitis* está relacionada con la presencia de gusanos adultos en el corazón y grandes vasos, condicionada al número de parásitos adultos, a la zona anatómica parasitada y a la capacidad compensatoria del organismo (7,11,13).

El diagnóstico de *Dirofilaria immitis* se basa: en los síntomas clínicos (17). Por el hallazgo de microfilarias circulantes en sangre, para lo cual se utilizan variados métodos, los cuales son:

Método de la observación directa (13).

Prueba de Knotts modificada (3,10,13).

Además de que se utilizan otro tipo de pruebas para el diagnóstico de *Dirofilaria immitis* como:

Prueba de CIE (inmunolectroforesis) (18)

Prueba de IRMA (inmunoradiometría) (10)

Prueba de tinción de inmunoperoxidasa (18)

Prueba de ELISA (inmunoabsorbencia) (3,9,18)

Se puede así mismo ayudar a la comprobación de un diagnóstico con radiografías y electrocardiogramas (10,13).

El diagnóstico post-mortem se basa en el hallazgo de los parásitos adultos en el corazón, en los pulmones se observan manchas irregulares de congestión; la arteria pulmonar y sus ramas presentan marcado engrosamiento. En el hígado se puede encontrar ocasionalmente los parásitos adultos, causando cirrosis, dando lugar a una ascitis y edema de los miembros posteriores y en el escroto (12,17).

En la ciudad de Guadalajara, se han detectado algunos casos por *Dirofilaria immitis* (*Dirofilariasis*), en perros, habiéndose diagnosticado ésta desgraciadamente a la necropsia.

Siendo Guadalajara un gran centro de importancia turística y a la vez residencia temporal de extranjeros, los cuales llevan consigo a sus perros a su lugar de origen, siendo éstos algunas zonas endémicas de la enfermedad, y volviendo posteriormente con ellos, añadiendo el auge que se tiene actualmente por la importación de diferentes razas de perros, se considera de gran importancia clínica el evaluar hasta -- que punto haya habido contagio a los perros de la Ciudad, ya que no existen reportes de la presencia de esta enfermedad en Guadalajara.

Considerando además, que esta parasitosis es de gran importancia desde el punto de vista de la Salud Pública, ya -- que afecta así mismo al hombre.

O B J E T I V O

Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue evaluar -
diagnóticamente hasta donde pudiera haberse presentado un -
contagio en nuestros perros, a fin de considerar posteriores
medidas de control y/o su tratamiento.

MATERIAL Y METODO

500 muestras de sangre

Un microscopio

Una centrífuga

Tubos de ensaye

Porta-objetos

Cubre-objetos

Pipetas

Anticoagulante (DDTA)

Sol. de formalina al 2%

Sol. de azul de metileno en concentración de 1:1000

Alcohol absoluto

Jeringas desechables

Para la elaboración de este estudio, se tomaron quinientas muestras de sangre (2cc), de perros originarios de la ciudad de Guadalajara y de perros de procedencia extranjera y con residencia en la ciudad.

De los 500 perros muestreados, 450 correspondieron a originarios de esta ciudad y los 50 restantes a perros de procedencia extranjera definida.

Las zonas comprendidas para el presente estudio fueron: Sectores Reforma, Juárez, Hidalgo y Libertad, además de Zapó

pan y Tlaquepaque que conforman el área metropolitana.

Las razas examinadas comprendieron: Pastor Aleman, Boxer, Dálmata, Pointer, Doberman, Samoyedo, Weimaraner, Zetter Irlandés, French poodle, Chihuahueño, Collie, Husky Siberiano, Gran Danés, Cocker Spaniel, Pit Bull, Bull Terrier, así como raza criolla o mestiza.

La hora de la toma de la muestra estuvo comprendida entre las 10 A.M. y las 7 P.M. Las edades de los perros estuvieron entre los 6 meses y 10 años.

Las técnicas que se realizaron para el diagnóstico de la *Dirofilaria immitis* (microfilarias) fueron:

- 1.- Método de observación directa
- 2.- Método de Knotts modificado

El método de observación directa, consistió en tomar una gota de la sangre muestra de cada perro, la cual se depositaba en un porta-objetos, se le añadía una gota de Sol. salina, se mezclaba suavemente, se cubría con el cubre-objetos y se observaba al microscopio. Cuando la muestra es positiva se observará el movimiento ondulante del parásito, el cual se desplaza a su paso a los glóbulos presentes.

En el método de Knotts modificado se toma un mililitro de sangre de cada animal, la cual ha sido previamente mezclada con dos gotitas de anticoagulante. La sangre se deposita en un tubo de ensaye y se le agregan 9 mililitros de la Sol. de formalina al 2%. Se centrifuga a una velocidad de 1000 a 1500 revoluciones por minuto y se le da un tiempo de 5 a 8 minutos.

El líquido sobrenadante se desecha, y al sedimento se le adiciona una gota de la sol. de azul de metileno en una concentración de 1:1000, se deja en reposo durante 15 minutos.

Se procede a elaborar varios frotis con el sedimento y se observan al microscopio. En casos de muestras positivas, las microfilarias son teñidas de un color azul intenso pudiendo de esta manera ser diferenciadas.

RESULTADOS

Se muestrearon 500 animales, de los cuales 450 eran nativos de la ciudad de Guadalajara y los 50 restantes de procedencia extranjera.

De los 450 perros nativos de la ciudad, ninguno salió positivo a *Dirofilaria immitis* con los dos métodos diagnósticos que se utilizaron y de los 50 perros de procedencia extranjera 5 resultaron positivos a *Dirofilaria immitis* por ambos métodos.

Los perros positivos a *Dirofilaria immitis* proceden de zonas endémicas de los E.U.A. 4 son originarios del estado de California y uno del estado de Texas.

En todos los casos positivos, ambas pruebas dieron los mismos resultados. En todos los perros muestreados no influyó la edad, raza o sexo.

De los 5 resultados positivos, 3 fueron en perros de 2 años, uno en un perro de 3 años y otro en un cachorro de 10 meses. El sexo correspondió a 3 machos y 2 hembras.

Las razas positivas fueron:

Un Pastor Aleman macho de 2 años originario de los E.U.
(California).

Un American Pit Bull macho de 10 meses originario de --
Houston, Texas.

Un Bull terrier macho de 3 años originario de Ana Helm-
California.

Un French Poodle hembra de 2 años originario de Los An-
geles, California.

Un French Poodle mediano hembra de 2 años originario de
Los Angeles, California.

Todos los perros positivos a excepción del cachorro de-
10 meses tienen radicando en la ciudad de Guadalajara, más -
de un año.

DISCUSION

Como se pudo observar, de los animales muestreados 450 fueron originarios de la ciudad de Guadalajara, Jal., y 50 de procedencia extranjera con radicaci3n en esta ciudad.

No se encontr3 en los perros originarios de la ciudad, ning3n caso positivo a *Dirofilaria immitis*, a3n cuando se llevaron a cabo ambos m3todos diagn3sticos.

En los perros de procedencia extranjera, se encontraron 5 casos positivos a *Dirofilaria immitis*, obteniendo el mismo resultado por los 2 m3todos utilizados.

Esto significa que el problema de las microfilarias en el presente estudio existe, pero s3lo en los perros de procedencia extranjera, ya que, en un caso positivo, el perro infestado con *Dirofilaria immitis*, convive con un perro originario de la ciudad y no se encontr3 en este el problema. Por lo tanto se supone:

Que la altura de la ciudad y las condiciones ambientales de Guadalajara no son propicias para el desarrollo de la larva (*microfilaria*) dentro del mosquito, tomando en cuenta el estudio que realiz3 el Dr. Ancira Cuevas en la ciudad de Tecom3n, Colima, donde encontr3 que una gran cantidad de pe

rros estaban infestados con *Dirofilaria immitis*, teniendo en este caso importancia la altitud y el clima de la costa. (20).

En algunos mosquitos como el *Culex* y el *Anopheles*, las microfilarias resultan tan gravemente dañadas a su paso a través de la estrecha armadura bucal faríngea del mosquito, que mueren en poco tiempo (19).

Las temperaturas por debajo de los 21°C retrasan el desarrollo de las larvas y las temperaturas prolongadas por debajo de los 15°C son letales para las microfilarias presentes en el mosquito (8, 19).

No se encontraron diferencias en cuanto a los métodos utilizados, ya que en ambos salieron los casos positivos.

El método de observación directa es muy sencillo y a la vez confiable por lo que su utilización resulta muy práctica en cualquier laboratorio o clínica Veterinaria, pudiendo con esto determinar un caso positivo en corto tiempo.

Las probabilidades de adquirir un animal de procedencia extranjera infestado con *Dirofilaria immitis* son muy amplias, ya que de cada 10 animales importados, uno puede estar infestado.

CONCLUSIONES

En ninguno de los animales originarios de la ciudad de Guadalajara que fueron muestreados se pudo detectar la microfilariasis, observándose ésta solamente en los animales de procedencia extranjera y provenientes de zonas endémicas de los E.U. por lo que se concluye que:

- 1.- A pesar de que existen los géneros de los mosquitos Culex y Anopheles, no existen las condiciones ambientales ideales para el desarrollo del parásito.
- 2.- No existe afinidad por la edad, la raza y el sexo de los animales.
- 3.- En los animales afectados estos siguen sufriendo la enfermedad a pesar del cambio de medio ambiente.
- 4.- Es necesario que se ejerza mayor control con la importación de perros, ya que como se pudo observar, a pesar de tener un certificado de salud, se encontraron positivos y si se considera que la zona endémica es cada vez mayor, debido probablemente a ajustes biológicos, en el desarrollo de la microfilaria, es importante realizar estos estudios periódicamente a fin de detectar tempranamente el inicio de la enfermedad.

SUMARIO

En la ciudad de Guadalajara se muestrearon 500 perros, de los cuales 450 fueron nativos de la ciudad y 50 de procedencia extranjera y con residencia en Guadalajara. Se desarrolló un estudio para comprobar la existencia de un parásito que afecta a los perros, animales silvestres y al hombre, al cual se le conoce como *Dirofilaria immitis*. Este parásito se localiza en el corazón de los perros.

Se llevaron a cabo dos métodos diagnósticos para la detección del parásito en los perros, uno fue el método de observación directa y el otro fue el método de Knotts Modificado.

Estos métodos diagnósticos fueron llevados a cabo en los laboratorios de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia y en el Centro Antirrábico Municipal.

De las 500 muestras, sólo 5 resultaron positivas a *Dirofilaria immitis* las cuales correspondieron a perros de procedencia extranjera y provenientes de zonas endémicas de la enfermedad.

No se encontró ningún caso positivo en perros originarios de la ciudad.

*No influyó en los animales positivos la edad, la raza, -
el sexo, no así la región de donde provenían.*

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1.- Balbo T. and Penichi M.
Canine filariasis
Nuova Veterinary
1968
Pág. 44
- 2.- Borchet Alfred
Parasitologia Veterinaria
Edit. Acribia
3ra. Edición 1975
Págs. 262, 263.
- 3.- Boto, W.H.O. Powers K.G. Levy D.A.
*Antigens of *Dirofilaria immitis* Which are immunogenic in the canine host; detection by immuno-staining of protein blots with the antibodies of occult dogs.*
Dep. Immunology Infect. Dis., Johns Hopkins Univ., Hygiene public. Hith Baltimore, USA.
Journal of immunology, 1984, 133,2 975-980
- 4.- Bradley, T.J. Nayar, J.K.
*The efect. of infection with *Dirofilaria immitis* (dog heartworm) of fluid secretion rates in the Malphigy - tubules of the mosquitoes *Aedes* and *Anopheles quadrimaculatum*.*

Department of Developmental and Cell biology, California Univ. Irvine, USA.

Journal of Insect. Physiology, 1984, 30, 9 737-742

5.- *Canine Medicine* 61 Authors.

First catcott-Adition

Modern Veterinary textbook series

American Veterinay Publication Inc. Sta. Barbara, California 1968. Págs. 208,217,368,651.

6.- Carlisle, M.S.;Webb S.M.;Sutton, R.H.

Case report. adult of *Birofilaria immitis* in the abrain of a dog.

Dep. Vet. Surg. Univ. Sta. Lucia, Queensland 4067, Australia. *Australian Veterinary Practitioner*, 1984, 14,1 10-12

7.- Ettinger and Suter

Canine Cardiology

Edit. Sounder Company

1970. Págs. 422,439

8.- Flynn J. Robert

Parasitos of Laboratory Animal

1973.

The Iowa State
University Press

- 9.- Graig and Faust
Parasitologia Clínica
Edit. Salvat
1ra. Edición, 1974
Págs. 392,393
- 10.- Hamilton, R.G.; Scott, A.L.
Inmunoradiometric assay for quantitation of Dirofilaria immitis antigen in dogs with heartworm infections.
Clin. Immunol. Div. Dep. of Med., Johns Hopkins Univ. Sch. of Med., Baltimore, USA.
American Journal of Veterinary Research, 1984, 45,10
2055- 2061
- 11.- Kirk R.W.
Terapéutica Veterinaria
3ra. Edición
Edit. Continental
Págs. 56,119,305,707
Edit. C.E.C.S.A. Págs. 223,224
1976.
- 12.- Lapage Geogrey
Parasitologia Veterinaria
3ra. Edición
Editorial C.E.C.S.A. 1975

Págs. 56, 204, 205, 206, 707

13.- Merck Sharp and Dohme International

El Manual Merck de Veterinaria

2da. Edición

Edit. Merck and Co., Inc.

1981

Págs.- 51, 183, 543, 578, 579, 1222

14.- Mezzotti, L.

Revista del Instituto de Salubridad y Enfermedades Tropicales.

Vol. II, números 3 y 4

México, D.F.

1941

15.- Montovani Adriano

Transplacental transmission of *Microfilaria* of *Dirofilaria immitis* in the dogs.

Journal of Parasitology. Vol. 52

1966.

Págs. 116, 317.

16.- Morgan H.C.

Canine blood Parasites Filariasis

Vet. University

Georgia, Athens USA

1966

17.- Smith J.D.

Introducción a la Parasitología Animal

Edit. Continental

1965

Págs. 325, 335, 406

18.- Weil, G.P.; Malane, M.S.; Powers, K.G.

Monoclonal Antibodies to parasite antigens found in the serum of Dirofilaria immitis infected dogs.

Jewish Hosp. Missouri USA

Journal of Immunology, 1985, 134,2 1185-1191

19.- Wilford Olsen O.

Parasitología Animal

Tomo 2

Edit. Aedos

1ra. Edición 1977

Págs. 683, 684, 685

20.- Ancira Cuevas Jorge E.

Incidencia de Dirofilaria immitis en caninos de la ciudad de Tecomán, Col.

TESIS F.M.V.Z. (U. de G.)

1983.

21.- Castillejos J.E.

Estudio sobre la frecuencia de *Filarias* en perros importados.

TESIS F.M.V.Z. (UNAM)

1972

22.- Del Campo Huerta José L.

Estudio sobre la frecuencia de *Dirofilaria immitis* en caninos atendidos en clínicas particulares.

TESIS F.M.V.Z. (UNAM)

1977