

DIAGNÓSTICO DE HEPATOOZON CANIS EN CANINOS DOMÉSTICOS DE ESPERANZA (FCV-UNL) (SANTA FE), ARGENTINA

Diana Marcela Pardo Martínez – Estudiante MVZ

Marcelo Fabián Ruiz – MV MSc.

José Isaías Muñoz - MVZ Esp

Facultad de Ciencias Pecuarias

Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales

Calle 222 N° 55-37 Bogotá D.C. - Colombia

Correo-e: zoociencia@udca.edu.co

Resumen.

La Hepatozoonosis canina es una enfermedad transmitida por la ingestión de garrapatas *Rhipicephalus sanguineus*, infectadas con oocistos maduros del protozoo apicomplejo *Hepatozoon canis*. Este hemoprotozoario intraleucocitario con presentación crónica y afección principal de médula ósea, tiene una gran distribución mundial con pocos reportes, los cuales son referidos principalmente como hallazgos accidentales en exámenes hematológicos.

El presente trabajo corresponde a un estudio observacional descriptivo de corte transversal, en donde se evaluaron muestras sanguíneas de caninos aparentemente sanos con el fin de diagnosticar *Hepatozoon canis*, comparado la eficiencia de dos técnicas de microscopía (frotis sangre completa y frotis de capa leucocitaria), y midiendo el grado de asociación con distintos factores de riesgo. Este fue realizado en el Laboratorio de Análisis Clínicos en conjunto con el Hospital de Salud Animal de la Facultad de Ciencias Veterinarias (FCV) de la Universidad Nacional del Litoral (UNL), en la ciudad de Esperanza (Santa Fe, Argentina).

Se evaluó un total de 48 muestras sanguíneas, de las cuales 8 fueron positivas a *Hepatozoon canis*; diagnosticadas en su totalidad por medio de la técnica de evaluación microscópica de extendido de capa flogística obtenida por leucoconcentración que demostró ser más eficiente, por el contrario, en solo 3

muestras se observaron gamontes del hemoparásito por medio de la técnica de frotis rutinario de sangre entera. Adicionalmente se determinó por medio de la prueba ji² relación significativa entre el antecedente de garrapatas en los caninos muestreados y la falta de uso de pipetas garrapaticidas como factores de riesgo asociados a la presentación y diseminación de esta infección en la zona.

Palabras clave: *Hepatozoon canis*, Garrapatas, Frotis sanguíneo, Factor de riesgo.

Abstract

Canine hepatozoonosis is a disease transmitted by the ingestion of ticks *Rhipicephalus sanguineus*, infected with oocyst apicomplexan protozoa *Hepatozoon canis*. This hemoprotozoario leucocyte with chronic presentation and main affectation of bone marrow, has a worldwide distribution with few reports, which are referred to primarily as incidental findings in hematological tests.

This investigation corresponds to a descriptive observational cross-sectional study, where blood samples of canine apparently healthy were evaluated in order to diagnose *Hepatozoon canis*, compared the efficiency of two techniques microscopy (smear complete blood and smears of buffy coat) and measuring the degree of association with other risk factors. This was done at the Laboratory of Clinical Analysis in conjunction with the Animal Health Hospital, Faculty of Veterinary Sciences (FCV) of the Universidad Nacional del Litoral (UNL), in Esperanza town (Santa Fe, Argentina).



It was evaluated 48 blood samples total, of which 8 were positive for *Hepatozoon canis*; these diagnosed entirely by the technique of microscopic evaluation of smears of buffy coat obtained by leucoconcentración which proved to be more efficient, by contrast, only 3 samples gamonts the hemoparasite were observed by the technique of routine smears whole blood. Additionally, it was determined by the chi2 test significant relationship between the history of ticks in dogs sampled and lack of use of pour-on ixodice as risk factors associated with the presentation and dissemination of this infection in the area.

Keywords: *Hepatozoon canis*, Ticks, blood smear, Risk factor.

1 Introducción

La hepatozoonosis canina es una enfermedad transmitida por la ingestión de garrapatas infectadas con protozoos del género *Hepatozoon spp.*¹ El primer reporte de este hemoprotozoario intraleucocitario se realizó en la India en 1905.^{2,3} Posteriormente, *H. canis* se reportó en perros domésticos (*canis familiaris*) puede llegar a ser potencialmente grave produciendo letargo extremo, caquexia, anemia, anorexia y fiebre.^{7,9}

En este orden de ideas, esta investigación se focaliza en el diagnóstico y búsqueda específica del hemoprotozoario *H. canis*, en las muestras sanguíneas de una población canina atendida en una clínica veterinaria ubicada en Esperanza (Santa Fe, Argentina). Además, se compara la eficiencia de dos técnicas de microscopía (frotis sangre completa y frotis de capa leucocitaria), sin tener en cuenta una técnica de referencia (estándar de oro), puesto que hasta el momento es inexistente una claramente establecida.

De igual manera, se evalúa la asociación entre el diagnóstico del parásito y la presencia de factores de riesgo que favorecen la presentación de la enfermedad en la zona. Dentro de estos factores se incluyen la época del año, la presencia de

garrapatas y el control de las mismas por parte de los propietarios.

de la mayoría de continentes.² En Argentina, se describió por primera vez en el año 1999, aumentando sus hallazgos desde su diagnóstico inicial en Buenos Aires; allí en el 2007 realizaron la primera caracterización genotípica de *Hepatozoon canis* en el país.¹ De igual manera se ha notificado la enfermedad en diferentes provincias no limítrofes, como Chubut (Trelew), Mendoza, la Pampa, Salta (El Carril), San Luis, Rosario^{4,5} y Santa Fe (Esperanza);⁶ confirmado por los escasos reportes de casos y estudios realizados en el país en los últimos 10 años.^{1,5,6}

En Argentina, los casos de hepatozoonosis canina son limitados, generalmente hallazgos casuales en exámenes de laboratorio⁷. Esta alta frecuencia de hallazgos accidentales en los análisis de muestras caninas y los pocos registros previos de casos en la zona, sugieren que el parásito puede encontrarse en pacientes aparentemente sanos. Investigadores de diversas partes del mundo han encontrado que los pacientes caninos portadores, pueden ser asintomáticos, aunque al valorarlos serológicamente presentan títulos de anticuerpos contra el parásito.³ Esta situación puede indicar que esta infección puede ser poco patógena, a menos que curse con un factor activante como la inmunosupresión, una infección concurrente con otros patógenos, una elevada parasitemia o animales muy jóvenes expuestos al agente.^{2,3,8}

No obstante, aunque *H. canis* aparenta ser inofensivo, de igual manera causa una infección que afecta múltiples tejidos. Entre estos se encuentra el tejido linfóide, la médula ósea, neutrófilos y monocitos; lo cual cobra víctimas al demandar nutrientes e infringir daño considerable.²

2 Materiales y Métodos

TIPO DE INVESTIGACIÓN

Se realizó un estudio observacional descriptivo de corte transversal, para diagnosticar *Hepatozoon canis* en muestras sanguíneas de caninos aparentemente sanos y para medir el grado de asociación con distintos factores de

riesgo.

POBLACIÓN DE ESTUDIO

La población de estudio estuvo conformada por 50 caninos de diferente sexo, edad y raza, obtenidos dentro de una jornada de esterilización realizada en el mes de octubre de 2015 en el Hospital de Salud Animal de Pequeños Animales de la FCV - UNL, en la ciudad de Esperanza (Santa Fe, Argentina).

OBTENCIÓN DE LAS MUESTRAS

A cada uno de los caninos se le extrajo una muestra sanguínea de 2 ml por punción de la vena yugular con jeringa de 5 ml y aguja calibre 21, la cual fue depositada en tubos de vidrio previamente rotulados y preparados con anticoagulante EDTA. Estas fueron refrigeradas y remitidas al laboratorio de Análisis Clínicos de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional del Litoral.

RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN

Se recopiló la información básica de cada canino, registrada por medio de un formato que fue completado con el propietario, en el momento de recepción del paciente en el Hospital de Pequeños Animales de la FCV – UNL. El formato incluía: nombre del paciente, sexo, edad, raza, antecedentes de garrapatas y uso periódico de pipetas antipulgas-garrapaticidas. Estos datos fueron tomados como variables; en el caso de la edad, se agrupó la población en tres grupos < a 1 año, de 1 a 3 años y de 3 a 5 años; en referencia a la raza de los caninos, se clasificó en dos grandes grupos: Puros y Mestizos; y las otras dos variables cualitativas en relación a antecedentes de garrapatas y al uso de pipeta ixodicida spot-on, se clasificaron de acuerdo a la información proporcionada por los propietarios (Si/No).

PROCEDIMIENTOS REALIZADOS

Cada muestra se procesó el mismo día de su extracción en las horas de la tarde en el laboratorio de Análisis Clínicos de esta facultad. Se realizaron dos frotis de sangre completa por cada muestra, los cuales fueron rotulados y coloreados con tinción de

tipo Romanoswsky (May Grunwald- Giemsa) para su evaluación microscópica como técnica rutinaria.

Adicionalmente, se realizaron dos extendidos de costra flogística tomada de los capilares de microhematocrito, centrifugados por 5 minutos a 4.000 r.p.m., realizando su tinción correspondiente con May Grunwald-Giemsa; esto con el fin de concentrar los glóbulos blancos para aumentar la eficiencia del método y facilitar la búsqueda de los gamontes (Linares, 2011).

Posteriormente se observaban los extendidos con microscopio óptico en 400 y 1000 aumentos, determinando la presencia del parásito intraleucocitario *Hepatozoon spp.*, realizando una búsqueda exhaustiva del mismo en los neutrófilos y monocitos.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

La información fue tabulada en Excel versión 2010 y el análisis de datos se realizó, empleando el software estadístico R Core Team 2015 y la librería Gmodels, usada en la construcción de las tablas cruzadas entre variables para obtener la ji cuadrado (p-valor), basados en el nivel de significancia estándar (p-valor estándar 0,05) para determinar asociación o independencia entre las variables.

- (p-valor < 0,05 = relación significativa, p-valor > 0,05 = relación no significativa)

La elaboración de la base de datos se realizó teniendo en cuenta el análisis de las variables que se iban a estudiar, manejando variables independientes, como “sexo” y “edad”, anexando positividad en frotis sanguíneo, positividad en capa leucocitaria, antecedentes de garrapatas y uso de pipeta spot-on acaricida. En base a lo anterior, se determinó la asociación entre los dos factores de riesgo preestablecidos, según las diferentes variables manejadas con relación a la presencia de los gamontes del *Hepatozoon canis*, de acuerdo a cada técnica de diagnóstico de microscopía utilizada.

3 Resultados

Se analizaron un total de 48 muestras, óptimas para la realización de las dos técnicas de diagnóstico seleccionadas para el mismo. La Tabla 1 muestra las características de los



animales muestreados y los factores de riesgo evaluados relacionados con el manejo de la garrapata vector.

Tabla 1. Caracterización de la población de estudio

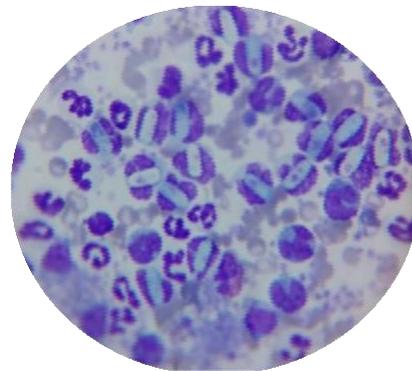
FACTOR	TOTAL	%
SEXO		
Hembras	36	75
Machos	12	25
EDAD		
< 1 año	19	39,6
1 a 3 años	20	41,7
3 a 5 años	9	18,8
RAZA		
Mestiza	36	75
Pura	12	25
ANTECEDENTE DE GARRAPATAS		
Si	18	37,5
No	30	62,5
USO DE PIPETA GARRAPATICIDA		
Si	19	39,6
No	31	64,6

Realizando un análisis más detallado de los resultados, señaló que la mayoría de caninos muestreados son animales jóvenes entre 4 meses a 3 años de edad, con un total de 39 muestras recolectadas dentro de este rango. Adicionalmente un 75% (36) de los caninos eran de raza mestiza y solo 12 perros fueron de raza pura (25%), dentro de los cuales 3 de ellos eran de raza Pitbull, 2 Poodle, 1 Galgo, 1 Pastor Alemán, 1 Dachshund, 1 Dóberman, 1 Border Collie, 1 Golden Retriever y 1 Pekinés.

Analizando los factores causales relacionados con la presentación de la hepatozoonosis canina, se determinó como factores predisponentes del hospedador: el sexo, la edad y la raza, para evaluar la concordancia en relación a lo reportado por estudios referenciados anteriormente. También se determinó, el reporte de antecedentes de garrapatas y la falta de uso de pipetas garrapaticidas como factores de riesgo influyentes para adquirir el hemoprotozoario *H. canis*.

Del total de caninos incluidos en el estudio: 12 machos (25%) y 36 hembras (75%), se encontró 8 de ellos positivos a *H. canis*; lo cual corresponde al 16,7% del total de animales muestreados (48), aparentemente sanos. Se identificó el protozoario en solo 3 frotis de sangre entera (6,3%)(Imagen 1), las demás muestras se diagnosticaron por medio del extendido de capa leucocitaria o buffy-coat (16,7%)(Imagen 2); demostrando ser más eficiente este tipo de técnica para la visualización de los gamontes dentro de los neutrófilos (Tabla 2).

Imagen 1. Gamonte *H. canis* intracitoplasmático



extendido capa leucocitaria. 100x.

Tabla 2. Diagnóstico de *H. canis* en la población de estudio

MUESTRAS	Nº	%
FS (+) <i>H. canis</i>	3	6,3
FS (-) <i>H. canis</i>	45	93,8
CL (+) <i>H. canis</i>	8	16,7
CL (-) <i>H. canis</i>	42	87,5

FS: Frotis sanguíneo – CL: Frotis capa leucocitaria



Imagen 2. Gamontes *H. canis*, en en neutrófilo, frotis sangre entera. 100x.

Se encontró que el mayor número de caninos positivos a *H. canis*, son perros jóvenes de edades entre los 4 a 11 meses (50%) y 1 a 3 años (37,5%), con un total de 7 casos positivos. Dentro de estos, el 87,5% fue encontrado en hembras, debido a que en la población evaluada predominaron los animales de este sexo y solo en un macho se halló gamontes del protozoo (Tabla 3).

Tabla 3. Casos de acuerdo al sexo y la edad de los caninos

POBLACIÓN	N	%	H. canis (+)	%
HEMBRAS	36	75	7	87,5
< 1 año	14	38,9	4	57,1
1 a 3 años	16	44,4	2	28,6
3 a 5 años	6	16,7	1	14,3
MACHOS	2	25	1	12,5
< 1 año	5	41,7	0	0
1 a 3 años	4	33,3	1	100
3 a 5 años	3	25,0	0	0
TOTAL	48	100	8	16,7
< 1 año	19	39,6	4	50
1 a 3 años	20	41,7	3	37,5
3 a 5 años	9	18,8	1	12,5

De acuerdo a la prueba ji cuadrado de validación de hipótesis, se determinó que están íntimamente relacionados la presencia del parásito en el Frotis de Sangre entera (FS) y el frotis de Capa Leucocitaria (CL), es decir, que al visualizar gamontes de *H. canis* en FS, con seguridad también se observarían en los extendidos de CL (Tabla 4). Se evidenció que existe una relación significativa entre el antecedente de garrapatas en el animal y el diagnóstico del protozoo, siendo mayor en los extendidos de CL.

Tabla 4. Reporte p-valor asociado a prueba ji cuadrado de relación genérica entre variables de técnica de diagnóstico y factores de riesgo

RELACIÓN GENÉRICA	P-valor
<i>H. canis</i> en FS vs <i>H. canis</i> en CL	0,0001
<i>H. canis</i> en FS vs Antecedente Garrapatas	0,0209
<i>H. canis</i> en FS vs Garrapaticida	0,1476
<i>H. canis</i> en CL vs Antecedente Garrapatas	0,0014
<i>H. canis</i> en CL vs Garrapaticida	0,0862
Antecedente Garrapatas vs Garrapaticida	0,5937

FS: Frotis sanguíneo – CL: Frotis capa leucocitaria

En base a la Tabla 5, se confirmó la relación entre la positividad de *H. canis* en FS vs en CL para ambos sexos; sin embargo los resultados indicaron que existe mayor relación para las hembras caninas que hayan tenido antecedente de garrapatas, al momento del diagnóstico del protozoo mediante extendido de CL.

Por otro lado, se observó independencia entre los factores de riesgo evaluados, con relación al sexo del animal; ya que verificando los registros, solo en un canino positivo al parásito con evidencia previa de garrapatas, se confirmó el uso de la pipeta spot-on ixodicida. Esto corrobora que en los demás animales positivos con reporte de garrapatas (6), no utilizaron pipeta acaricida; confirmando aún más, que la falta de uso de ectoparasiticidas, predispone a contraer el vector y por ende al parásito.

Tabla 5. Reporte p-valor asociado a prueba ji cuadrado de relación de variables por sexo

RELACIÓN POR SEXO	MACHOSHEMBRAS	
	P-valor	
<i>H. canis</i> en FS vs <i>H. canis</i> en CL	0,0005	0,0031
<i>H. canis</i> en FS vs Antecedente Garrapatas	0,0704	0,0851
<i>H. canis</i> en FS vs Garrapaticida	0,4602	0,2187



ZOOCIENCIA

<i>H. canis</i> en CL vs Antecedente Garrapatas	0,0704	0,0084
<i>H. canis</i> en CL vs Garrapaticida Antecedente	0,4602	0,1016
Garrapatas vs Garrapaticida	0,1573	0,2301

FS: Frotis sanguíneo – CL: Frotis capa leucocitaria

Debido a que la mayor parte de los caninos muestreados y diagnosticados fueron jóvenes (<1 a 3 años), se evidenció su relación significativa (Tabla 6). Adicionalmente se confirmó la asociación entre la exposición al vector y mayor eficiencia diagnóstica para *H. canis* por medio de extendidos de CL.

Tabla 6. Reporte p-valor asociado a prueba ji cuadrado de relación de variables por edad

RELACIÓN POR EDAD	< 1 año	1 a 3 años	3 a 5 años	P-valor
<i>H. canis</i> en FS vs Antecedente Garrapatas	0,046	0,06	0,004	-
<i>H. canis</i> en CL vs Antecedente Garrapatas	0,085	0,06	0,679	-
<i>H. canis</i> en FS vs Antecedente Garrapaticida	0,6564	0,0993	-	-
<i>H. canis</i> en CL vs Antecedente Garrapatas	0,012	0,08	0,3428	-
<i>H. canis</i> en CL vs Antecedente Garrapatas vs Garrapaticida	0,3297	0,4132	0,2357	-
Garrapatas vs Garrapaticida	0,2593	0,5820	0,7642	-

FS: Frotis sanguíneo – CL: Frotis capa leucocitaria

4 Discusión

Los gamontes encontrados en las muestras positivas fueron designados como *H. canis*, correspondiente a la especie de

Hepatozoon caracterizada en caninos en el país (Argentina) (Eiras et al., 2007).

Los resultados de este estudio son posiblemente alarmantes, al hallar 8 casos positivos en solo un mes, en comparación con los 9 hallazgos incidentales reportados en 2013 por Ruiz y colaboradores, que informaron la presencia de esta parasitosis en la ciudad, de 490 frotis de sangre entera evaluados microscópicamente, correspondiente a la casuística del laboratorio de la FCV - UNL ingresada entre el 2008 y el 2010. De esta manera se genera gran evidencia, de que se ha estado propagando el protozoo en la zona, con un aumento significativo de la incidencia de la infección en los caninos.

Otro punto a destacar, es que la positividad encontrada en esta investigación, confirmó que la infección por *H. canis* se da frecuentemente en pacientes aparentemente sanos, así como lo hallado por Karagenc en 2006, Eiras y colaboradores en 2007, y Pérez y Petetta en 2012. Por ende, son portadores asintomáticos que contribuyen a la persistencia y expansión de la infección, diseminando silenciosamente el hemoprotozoario por medio de la garrapata *Rhipicephalus sanguineus*; siendo éste un argumento más, para realizar un enfoque hacia el control de esta ectoparasitosis (Pérez y Petetta, 2012).

La comparación de las dos técnicas diagnósticas de microscopía aplicadas, evidencio mayor eficiencia para encontrar gamontes de *H. canis* en extendidos de capa leucocitaria obtenida por leucoconcentración; siendo el diagnóstico total (16,7%) por medio de esta técnica. Coincidiendo con Otranto y colaboradores (2011), quienes afirmaron que al no disponer de PCR se debe realizar citología de capa leucocitaria porque tiene una sensibilidad mayor (70%) en comparación con la evaluación citológica de un frotis sanguíneo rutinario (18%).

Es evidente que los métodos diagnósticos tradicionales no son tan efectivos, corroborado por los reportes referenciados. Esto sugiere que los laboratorios clínicos deberían establecer técnicas moleculares de manera rutinaria (Rey-Valeirón et al., 2012; Acevedo et al., 2012), ó técnicas alternativas de diagnóstico más

eficientes. De igual manera, se debe contar con el conocimiento respectivo, debido a que puede presentarse una falta de identificación de los gamontes, al ser considerados como un artefacto o contaminante en los extendidos (Arcila et al., 2005).

Sin embargo, la hepatozoonosis debe ser incluida por parte del clínico como diagnóstico diferencial, en el caso que haya historial ó evidencia de garrapatas en el animal, teniendo en cuenta el conjunto de factores que contribuyen a su desarrollo (Paşa et al., 2009). Así, al remitir las muestras sanguíneas con este reporte, el laboratorista puede aplicar una técnica más eficiente, orientando el diagnóstico, al ser un trabajo en conjunto entre estas dos ramas veterinarias.

En cuanto a la asociación de variables evaluadas en esta investigación, se confirmó que está íntimamente relacionada la presencia del parásito en el frotis de sangre entera (FS) y el frotis de capa leucocitaria (CL). Esto indica que existe un 95% de probabilidad de que al identificar gamontes en un FS, por ende se visualizaran en un CL; dado que la segunda técnica mencionada tiene mayor eficiencia diagnóstica (Otranto et al., 2011).

Adicionalmente, los p-valor hallados demuestran mayor probabilidad diagnóstica por CL en las hembras caninas con historial de garrapatas. De igual manera, se relaciona la edad como factor predisponente, dado que la mayoría de caninos diagnosticados, tenían entre 4 meses y 3 años edad. Podría deberse tal como lo sugiere Ruiz y colaboradores (2013), a una menor resistencia inmunitaria, la cual iría aumentando con la edad y a medida que el animal está en contacto con el vector y/o parásito; considerando también la predisposición en cachorros por la transmisión vertical del protozoo (Baneth et al., 2013).

Los resultados de acuerdo al sexo de los caninos, indicaron mayor diagnóstico para

las hembras (14,7%), correspondiente al 87,5% del total de animales positivos; esto debido a que en la población muestreada predominó este sexo. Investigadores aseguran inexistencia en la predisposición para alguna raza o sexo en particular, porque su presentación está asociada a las características conductuales que favorecen el contacto del animal con el vector (Ruiz et al., 2013). Aunque, Karagenc y colaboradores (2006) y Paşa y colaboradores (2009) sugieran lo contrario, al afirmar en sus estudios en Turquía, que las hembras caninas son más propensas a la infección por

H. canis que los machos.

Este estudio se realizó durante la época de primavera, acorde con las características epidemiológicas dadas por Baneth (2007, 2008, 2011), y Eiras y colaboradores (2011); notificando una marcada incidencia y parasitemia estacional, con reporte de la mayoría de casos durante los meses más calurosos del año, relacionados con el aumento de la garrapata vector. Así mismo, Debárbora y colaboradores (2011) apreciaron un aumento significativo de *R. sanguineus* en primavera y verano, en un estudio de prevalencia realizado en Buenos Aires.

Baneth (2011) asegura que el control del vector contribuye al mejor método de prevención de la infección por *H. canis*. De acuerdo a los resultados del presente estudio, el uso periódico de pipetas garrapaticidas sí disminuye el riesgo de contagio; siendo de vital importancia el control biológico y químico de este tipo de ectoparásitos. El cepillado e inspección constante del animal, son alternativas de manejo; ya que de esta manera según Rey-Valeirón y colaboradores (2012), si el canino está infectado no ocurrirán reinfecciones, ni diseminación de la enfermedad a otras regiones del país (ESCCAP, 2010). De acuerdo con Linares (2011), el clínico juega un papel importante en el método de prevención, ya que debe educar al propietario, informando sobre los riesgos de transmisión y susceptibilidad, no solo de esta infección, sino también frente a las demás enfermedades transmitidas por este vector.

5 Conclusiones y Recomendaciones

Se corrobora que la Hepatozoonosis canina es



una enfermedad presente en la ciudad de Esperanza (Santa Fe), con diseminación exponencial. Los resultados sugieren que la infección por *Hepatozoon canis* en la zona podría ser bastante alta, debido al número de pacientes diagnosticados en una pequeña proporción de población, obtenida en solo un Hospital veterinario (FCV-UNL). Se confirma la presencia de este protozoo en animales aparentemente sanos, al diagnosticar 8 muestras positivas de un total de 48 muestras procesadas.

De acuerdo a esta investigación, se concluye que el método diagnóstico más útil y eficiente sin incluir técnicas avanzadas en cuanto a costo y tecnología, es mediante la detección microscópica intracelular de gamontes de *H. canis* en extendidos de capa leucocitaria; en comparación con la técnica habitual de frotis de sangre entera.

Adicionalmente se encontró que en el ciclo de infección, juegan un papel importante los aspectos de manejo, al limitar el contacto con el vector; siendo también importantes factores predisponentes como la edad y el sexo. De igual manera, las características propias del agente facilitan la permanencia del mismo en la población canina de la zona, al actuar como oportunista

Ante la diversidad de signos clínicos, en la mayoría de pacientes, ausentes, y las limitaciones de diagnóstico que se han discutido a lo largo del estudio, es absolutamente necesario que tanto el clínico como el veterinario de laboratorio, cuente con el conocimiento suficiente sobre el comportamiento, presentación, ciclo y transmisión del protozoario; de manera que se pueda tener una adecuada aproximación al diagnóstico del mismo. Por ende, la importancia en la prevención de la garrapata marrón del perro (*Rhipicephalus sanguineus*), para realizar controles periódicos y eficientes con acaricidas al reducir el riesgo de contagio; regulando de igual manera, la interacción con otros caninos potencialmente infectados y limitando el desplazamiento del animal a

zonas endémicas.

Como consideración final, se realizará un artículo para publicación en revistas institucionales o divulgativas, con el fin de difundir los resultados de la presente investigación, contribuyendo a su vez a la orientación diagnóstica; así mismo, son datos que a futuro despertaran interés investigativo para llevar a cabo estudios con técnicas más avanzadas.

Se requiere generar investigaciones de seguimiento epidemiológico, para evaluar planes de manejo y control tanto de la enfermedad como de la garrapata vector, independientemente de la zona de residencia del animal o estacionalidad del año, tal como lo siguieren los estudios previos en el país; considerando los factores de riesgo identificados u otros que puedan llegar a ser prescindibles para la presentación de esta infección. Así mismo, es de vital importancia la actualización constante de los profesionales, independientemente la rama de acción para contribuir a un diagnóstico correcto y tratamiento oportuno para mitigar la presentación de este protozoario.

Referencias

- Acevedo, S., Ramírez, M., Restrepo L. (2009). Uveítis y glaucoma asociados a infección por *Hepatozoon canis*: reporte de un caso. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias – RCCP Universidad de Antioquia*, 22 (3), 287-295.
- Adagio, L., Miguel, M., Meder, A., Rio, F., Giménez, M., Hierro, J., Vaquero, P., Lattanzi, D., Mengelle, P., Petteta, L., Mariani, E., Pallezza, J., Bertoldi, G., Wheeler, J. (2014) Hepatozoonosis canina. Primeros 4 casos documentados en la Ciudad de General Pico - Provincia de La Pampa – Argentina. *Revista Ciencias Veterinarias*, 16 (2), 9-22.
- Arcila, V., Castellanos, V., Díaz, S., Sánchez, M. (2005). *Hepatozoon Canis* en Colombia. *Revista Spei Domus*, Vol. 1 (1), 41 – 45.
- Baneth, G. (2008). Hepatozoonosis - Enfermedades Protozooáricas. En Craig E. Greene (Ed.) *Enfermedades infecciosas del perro y el gato*, 3º edición (766 – 779).



Buenos Aires, Argentina: Inter-Médica.

- Baneth, G. (2011) Perspectives on canine and feline hepatozoonosis. *Veterinary Parasitology*, 181, 3–11.
- Baneth, G., Samish, M. and Shkap, V. (2007). Life cycle of *hepatozoon canis* (apicomplexa: adeleorina: hepatozoidae) in the tick *rhhipicephalus sanguineus* and domestic dog (*canis familiaris*). *The journal of parasitology*, VOL. 93 (2), 283 – 299.
- Baneth, G., Sheiner, A., Eyal, O., Hahn, S., Beaufils, JP., Anug Y., Talmi-Frank, D. (2013). Redescription of *Hepatozoon felis* (Apicomplexa: Hepatozoidae) based on phylogenetic analysis, tissue and blood form morphology, and possible transplacental transmission. *Parasites & Vectors- BioMed Central Ltd*, 6 (102), DOI: 10.1186/1756-3305-6-102
- Bitton, E., Bibring, U., Bruchim, Y., Baneth, G. (2012). Hepatozoonosis in a Dog with Skeletal and Joint Involvement: A Case Report and Review of the Literature. *Israel Journal of Veterinary Medicine*, 67 (2).
- Bowman, D. (2014). Chapter 3: Protista. En: *Georgis' Parasitology for Veterinarians*. 10 edition. (109 -110). China. ELSEVIER.
- Carvajal, V., Almazán, C., Aguirre, G., Barrón, C., Fraga, E. (2012). Primer informe de hepatozoonosis en un perro de Tamaulipas, México. *Vet. Méx*, 43 (1).
- Correa, C. (2013). La ayuda diagnóstica es importante: caso de *Hepatozoon spp*. *Biosalud*, 12(2), 121-126
- Debárbora, V., Oscherov, E., Guglielmon, A., Nava, S. (2011). Garrapatas (Acari: Ixodidae) asociadas a perros en diferentes ambientes de la provincia de Corrientes, Argentina. *InVet*, 13 (1), 45-51.
- Eiras, D., Basabe, J., Scodellaro, C., Fontanarrosa, M., Vezzani, D., Mekuzas, Y., Gonen, L., Baneth, G. (2011). Epidemiología de la hepatozoonosis canina en Buenos Aires (Argentina) durante el período 2002-2008. *Asociación argentina de veterinarios de laboratorios de diagnóstico*. Boletín AAVLD. Vol 1P, 6 -7.
- Eiras, D.F., Basabe, J., Scodellaro, C., Banach D., Matos, M., Krimer A., Baneth G. (2007) *Elsevier - Veterinary Parasitology*, (149), 275–279. doi:10.1016/j.vetpar.2007.07.010
- Esarte, M., Negro, V., Oribe, G., González, A., Pérez, M. (2010). Lesión osteolítica asociada a *Hepatozoon canis* en un perro. X Congreso Nacional de AVEACA – Congreso del Bicentenario Bs. As. *Asociación de Veterinarios Especializados en Animales de Compañía de Argentina*.
- Esarte, M.S. (2010). Hepatozoonosis. En Nélica Gómez y Nora Guida (Ed) *Enfermedades infecciosas de los caninos y felinos* (319 – 325) Buenos Aires, Argentina: Inter-Médica.
- García, M., Moissant, E., Pérez, A., Quijada, J., Simoes, D., García, H. (2007). Comportamiento natural de las fases no parasíticas de *Rhipicephalus sanguineus* (latreille, 1806) (acari: ixodidae) en un bioterio canino de Venezuela. *Rev. Cient. (Maracaibo)*, 17 (6).
- Guerra, N., Sacchi, L., Comino, L., Pirls, M., Schroder, G. (2012). *Hepatozoon canino*: Hallazgo en el Laboratorio Centralizado del Hospital Escuela de la Facultad de Ciencias Veterinarias de Casilda, UNR. XIII Jornadas de Divulgación Técnico-Científicas 2012 Facultad de Ciencias Veterinarias – Universidad Nacional de Rosario.
- Guevara, M., Oviedo, R., Gómez, F. (2013). *Hepatozoon canis* Diagnostico de un caso en canino, Lujan de Cuyo, provincia de Mendoza, Argentina. *REDVET - Rev. Electrón. Vet.*, 14(10).
- Guía ESCCAP No 3 (2010). Ectoparásitos Control de insectos y garrapatas que parasitan a perros y gatos. Consejo Europeo para el control de las parasitosis de los



animales de compañía. *ESCCAP*.

- Ivanov, A., Tsachev, I. (2008) *Hepatozoon canis* and Hepatozoonosis in the dog. Faculty Veterinary Medicine, Trakia University, Stara Zagora, Bulgaria. *Trakia Journal of Sciences*, 6 (2), 27-35.
- Iveli, Casas, Machuca, Eiras. (2015) Poliartritis asociada a hepatozoonosis canina: descripción de un caso. *Analecta Vet*, 3 (2), 25-29.
- Karagenca, T., Pasa, S., Kirli, G., Hosgor, M., Bilgin Bilgic, H., Hakan, Y., Atasoy, A., Eren, H. (2006). A parasitological, molecular and serological survey of *Hepatozoon canis* infection in dogs around the Aegean coast of Turkey. *Veterinary Parasitology*, 135, 113–119.
- Kalyan, S., Debabrata, M., Mani S., Karunanithy M. (2015). Evaluation of haemato-biochemical and oxidative indices in naturally infected concomitant tick borne intracellular diseases in dogs. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 5 (1), 60-66. doi: 10.1016/S2222- 1808(14)60627-7
- Linares, M. (2011). Hepatozoonosis canina en la provincia de Mendoza. Hallazgos clínicos y de laboratorio. Universidad Juan Agustín Mazza. Consultado en: <http://umaza.edu.ar/archivos/file/Tesis/Linares.pdf>.
- Macintire DK y Vincent-Johnson N. (2001). Hepatozoonosis canina. En Kirk Bonagura (Ed) *Terapéutica veterinaria de pequeños animales*, 3º edición (331 – 334). España: McGraw Hill Interamericana.
- Mateus, A., Cala, F., Vargas, G., Arcila, V., Castellanos, V. (2007). Reporte de casos clínicos con *Hepatozoon canis* en el centro médico quirúrgico veterinario de la Universidad Cooperativa de Colombia. *Redvet*, Vol. VIII (5), 1 – 12.
- Otranto, D., Dantas-Torres, F., Weigl, S., Latrofa, M., Stanneck, D., Decaprarriis, D., Capelli, D., Baneth, G. (2011). Diagnosis of *Hepatozoon canis* in young dogs by cytology and PCR. *Rev. Parasit Vector-BioMed Central*, Vol 4 (55). doi: 10.1186 / 1756-3305-4-55
- Paşa, S., Kiral, F., Karagenç, T., Atasoy, A., Y Seyrek, K. (2008). Description of dogs naturally infected with *Hepatozoon canis* in the Aegean region of Turkey. *TÜBİTAK - Turk. J. Vet. Anim. Sci. Vol. 33* (4), 289 – 295. doi:10.3906/vet-0801-11.
- Pérez, G., Petetta, L. (2012). Estudio de 50 casos de hepatozoonosis en caninos naturalmente infectados en el Gran Buenos Aires, Argentina. *Rev. Veterinaria Argentina*, Vol. XXIX (293), 1- 10.
- R Core Team (2015). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>.
- Rey-Valeirón, C., Trujillo-Silva, L., Martínez, A., Ortiz, G., y Sambrano, G. (2012). Determinación de *Hepatozoon canis* mediante PCR en caninos domésticos de la Vela de Coro, estado Falcón, Venezuela. *Rev. FCV-LUZ*, Vol. XXII (6), 524 – 529.
- Ruiz, M., Zimmermann, R., Aguirre, F., Bono, M., y Widenhorn, N. (2013). Hallazgo de *Hepatozoon canis* en caninos (canis familiaris) en la ciudad de Esperanza, Santa Fe (Argentina). *Revista FAVE - Ciencias Veterinarias UNL*, 12 (1-2), 15 – 20.
- Sarma, k., Mondal, D., Saravanan, M., Mahendran, K. (2015). Evaluation of haemato-biochemical and oxidative indices in naturally infected concomitant tick borne intracellular diseases in dogs. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 5 (1): 60-66. doi: 10.1016/S2222- 1808(14)60627-7
- Sasanelli, M., Paradies, P., Greco, B., Eyal, O., Zaza V., Baneth, G. (2010). Failure of imidocarb dipropionate to eliminate *Hepatozoon canis* in naturally infected dogs based on parasitological and molecular evaluation methods. *Parasites & Vectors*, 4 (55) - DOI: 10.1186/1756-3305-4-55
- Suárez, E. (2013). Evaluación de la



mortalidad de *Rhipicephalus sanguineus* a dosis discriminantes de amidinas y organofosforados para diagnóstico de susceptibilidad: estudio piloto. *Universidad veracruzana - Veracruz, ver.* 1-64.

ISSN 2462-7763

- Vargas, G., André, M., Munhoz, T., Faria, J., Machado, R., Tinucci, M. (2012). Molecular characterization of *Hepatozoon canis* in dogs from Colombia. *Parasitol Research –Pub-Med*, 110 (1), 489–492. DOI 10.1007/s00436-011-2634-7
- Warnes, G., Bolker, B., Lumley, T., Johnson, R. (2015). Contributions from Randall C. Johnson are Copyright SAIC-Frederick, Inc. Funded by the Intramural Research Program, of the NIH, National Cancer Institute and Center for Cancer Research under NCI Contract NO1-CO-12400. *gmodels: Various R Programming Tools for Model Fitting*. R package version 2.16.2. <https://CRAN.R-project.org/package=gmodels>
- Weese, J.S. (2013). Canine and Feline Hepatozoonosis. En Jane E. Sykes (Ed) *Canine and Feline Infectious Diseases*. (780 - 795). China: Elsevier Health Sciences.