



Facultad de Veterinaria  
Universidad Zaragoza



# Trabajo Fin de Grado en Veterinaria

PARASITOSIS HEMÁTICA: HEPATOZOONOSIS CANINA

HEMATIC PARASITES: CANINE HEPATOZOONOSIS

Autor/es

Marta Garcia Alonso

Director/es

María Jesús Gracia  
Salinas

Facultad de  
Veterinaria

2016-2017

---

## Índice

1. Resumen.....	3
1.1. Abstract.....	4
2. Introducción .....	5
2.1. Ciclo biológico .....	6
2.2. Patogenia.....	8
2.3. Signos clínicos.....	10
2.4. Diagnóstico.....	10
2.5. Tratamiento.....	11
3. Justificación y Objetivos .....	11
4. Metodología .....	12
4.1. Área de estudio .....	12
4.2. Cálculo de tamaño de muestra .....	12
4.3. Encuesta epidemiológica.....	13
4.4. Toma de sangre y procesamiento de muestras .....	13
5. Resultados y discusión .....	16
6. Conclusiones.....	25
6.1. Conclusions .....	26
7. Valoración personal.....	26
8. Bibliografía .....	28
9. Anexos .....	31

### 1. Resumen

La hepatozoonosis es una enfermedad parasitaria emergente producida por *Hepatozoon canis* y transmitida principalmente por la ingestión de garrapatas del género *Rhipicephalus sanguineus*. Afecta principalmente a cánidos domésticos y parasita mayormente los leucocitos del torrente sanguíneo. Este trabajo de fin de grado (TFG) es un estudio de la prevalencia de *H. canis* y la relación de los casos positivos con los síntomas clínicos y los hallazgos laboratoriales más destacables junto con las pautas de control utilizadas por los propietarios frente a ectoparásitos. Se realiza en el barrio "El Molino" de Punta Lara, localidad de Ensenada (34° 49' 0" S, 57° 58' 0" W), provincia de Buenos Aires, Argentina. La parte práctica del trabajo se realizó en el Laboratorio de Parasitosis Humanas y Zoonosis Parasitarias, en la Cátedra de Parasitología Comparada de la Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata, Argentina.

Para llevar a cabo los objetivos establecidos se muestrearon a un total de 94 perros a los que se les extrajo sangre y se les hizo una revisión general. También se recaudó información mediante una encuesta epidemiológica para estudiar los signos clínicos presentes en el animal, el plan de desparasitación actual y la presencia o no de ectoparásitos.

Se ha constatado una elevada prevalencia de *H. canis* (30,85%) con una carga parasitaria baja (3,8%) y un tamaño medio de los gamontes de 12x6 micras. Asimismo, el hematocrito medio obtenido fue bajo (30,26%). Aparentemente la presencia del parásito no siempre altera los parámetros bioquímicos (urea, creatinina, fosfatasa alcalina y proteínas totales) ya que solo el 54% de los perros positivos muestran uno o más valores alterados (aumentados o disminuidos). Finalmente, el desuso, mal uso o la inefectividad de los antiparasitarios utilizados se refleja en el número de perros que, aún siendo tratados, son positivos (11%).

### 1.1. Abstract

Hematic parasites: canine hepatozoonosis

Hepatozoonosis is an emerging parasitic disease produced by *Hepatozoon canis* and transmitted principally by ingestion of ticks of the genus *Rhipicephalus sanguineus*. It mainly affects domestic canids and parasites mostly leucocytes from the bloodstream. This end-of-degree project is a study of the prevalence of *H. canis* and the relationship of positive cases with clinical symptoms and laboratory findings, together with ectoparasite control guidelines. It is carried out in the "El Molino" neighborhood of Punta Lara, Ensenada (34 ° 49 '0 "S, 57 ° 58' 0" W), province of Buenos Aires, Argentina. The practical part of the work was carried out in the Laboratory of Human Parasitosis and Parasitic Zoonoses, in the Chair of Comparative Parasitology of the Faculty of Veterinary Sciences, National University of La Plata, Argentina.

To carry out the established objectives, a total of 94 dogs were sampled from which blood was drawn and a general review was performed. Information was also collected through an epidemiological survey to study the clinical signs present in the animal, the current deworming plan, the presence or absence of ectoparasites and the patient's history.

A high prevalence of *H. canis* (30.85%) with a low parasite load (3.8%) and an average size of the gamontes of 12x6 microns has been observed. Likewise, the mean hematocrit obtained was low (30.26%). Apparently the presence of the parasite does not always alter the biochemical parameters (urea, creatinine, alkaline phosphatase and total proteins), since only 54% of the positive dogs show one or more altered values (augmented or diminished). Finally, the absence, misuse or ineffectiveness of the antiparasites used is reflected in the number of dogs that, even being treated, are positive (11%).

## 2. Introducción

La hepatozoonosis es una enfermedad infecciosa emergente de origen parasitario. El agente etiológico es un protozoo Apicomplexa perteneciente a la clase Sporozoa, orden Eucoccidia, Familia Haemogregarinidae, Género *Hepatozoon* (Ruiz et al., 2013). Se han descrito dos especies: *Hepatozoon canis* (James, 1905) y *Hepatozoon americanus*.

*Hepatozoon canis* es la especie más prevalente en todo el mundo y fue descrito por primera vez en sangre de un perro en la India en 1905 e inicialmente fue llamado *Leukocytozoon canis* (Macintire y Vincent-Johnson, 2001; Baneth, 2016). Desde entonces se ha citado en muchos países incluidos Grecia, Italia, Francia, España y Portugal, en el sur de Europa; Israel y Egipto en el Medio Oriente; Sudáfrica y Nigeria en África; India, Sri Lanka, Singapur, Malasia, Filipinas, Tailandia y Japón, en Asia; así como Brasil, Argentina, Colombia y Venezuela, en Sudamérica (Baneth, 2016).

Afecta principalmente a los glóbulos blancos de caninos domésticos que viven en condiciones desfavorables con distintos grados de parasitosis por garrapatas. Los animales generalmente se infectan tras la ingesta de garrapatas infectadas del género *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806), vector que se distribuye prácticamente por toda Sudamérica y América Central (figura nº 1).

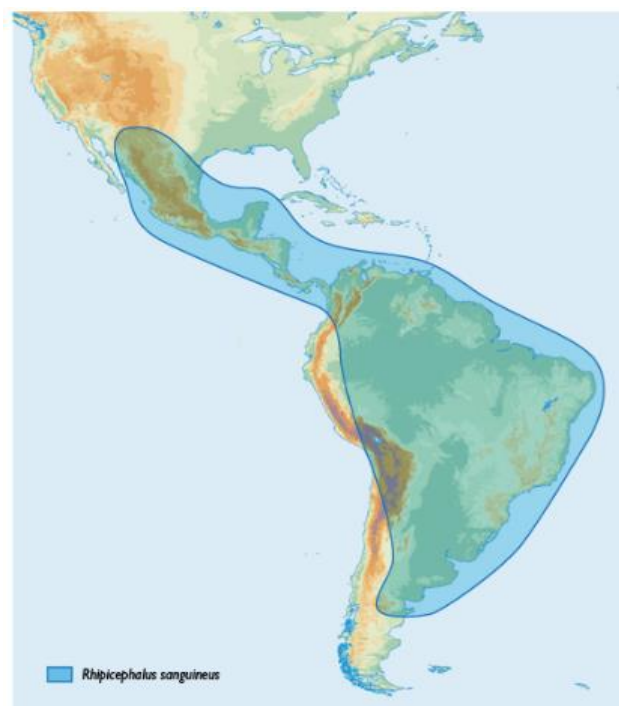


Figura N º1. Distribución de *R. sanguineus* en el continente americano (Estrada, 2015)

La hepatozoonosis canina fue citada por primera vez en Argentina en 1998 en un paciente macho, Ovejero Alemán, de 3 años de edad. Su prevalencia es variable en las distintas provincias del país desde un 41% en la provincia de Formosa hasta un 1,36% en la provincia de Buenos Aires, con marcada incidencia y parasitemia estacional estival (Eiras et al., 2006; Pérez y Petetta, 2012). Este incremento se produce porque con el aumento de la temperatura ambiental se reinicia del ciclo biológico de la garrapata.

### 2.1. Ciclo biológico

El ciclo biológico de *H. canis* es indirecto (figura nº2), con un hospedador definitivo y uno intermediario. La garrapata es el hospedador definitivo más común, pero también tienen este rol otros invertebrados hematófagos entre los cuales se encuentran pulgas, ácaros, mosca tsetse y sanguijuelas (Baneth, 2016). En ellos se produce la fase de multiplicación sexual con formación de ooquistes.

Los hospedadores intermediarios son carnívoros domésticos y silvestres, entre los cuales podemos encontrar cánidos, coyotes, chacales y hienas y también roedores, marsupiales, aves y reptiles (Morales et al., 1993). En ellos se produce la fase de multiplicación asexual. En el caso de los mamíferos el estadio de gamonte se encuentra en los glóbulos blancos y en el caso de los reptiles en los glóbulos rojos (Baneth et al. 2016).

Debido al modo de transmisión (ingestión del hospedador definitivo) la transmisión a la especie humana es improbable y el riesgo de transmisión directa del perro al humano es bajo. Por eso no es de extrañar que solo se haya diagnosticado un caso en humanos (citado por Morales et al., 1993).

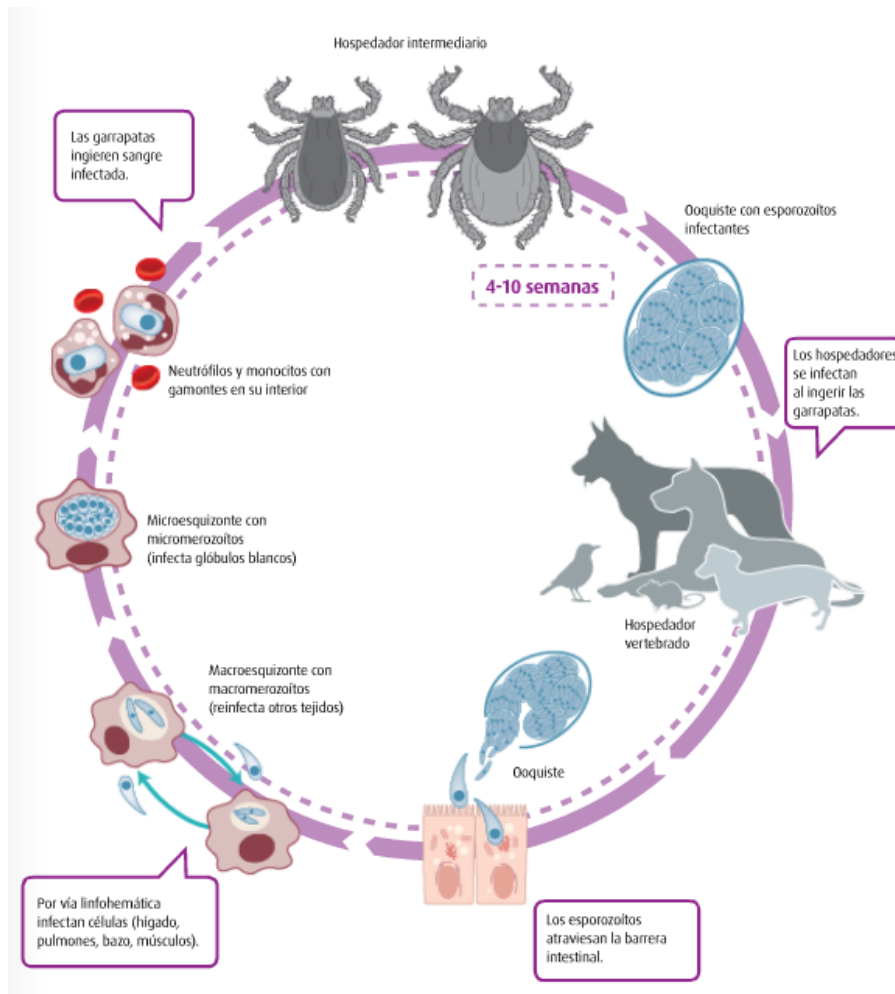


Figura Nº 2. Ciclo biológico de *H. canis* (Estrada 2015)

El ciclo comienza cuando el perro ingiere una garrapata infectada con ooquistes. Al llegar al estómago la garrapata se digiere liberándose los ooquistes. En el intestino delgado, los ooquistes liberan esporozoítos que atraviesan la barrera intestinal, distribuyéndose por todo el organismo vía linfohemática e introduciéndose en las células endoteliales y macrófagos de órganos como el corazón, hígado, pulmones, bazo, ganglios linfáticos y músculo. En éste último, los esporozoítos pueden adoptar una forma quística que puede durar hasta varios años sin producir inflamación, por lo que el animal no presenta síntomas clínicos. Una vez distribuidos por el organismo, se produce la merogonia o esquizogonia (reproducción asexual por división múltiple) que da lugar a la formación de macroesquizontes. Dicho proceso tiene lugar concretamente en el interior de los tejidos hemolinfáticos (Estrada, 2015). Los macroesquizontes van a formar macromerozoítos que van a infectar nuevas células cuando éstas mueran, formando ciclos ilimitados de esquizogonia e infestando así nuevos tejidos. También pueden dar lugar a microesquizontes en cuyo interior se encuentran los

micromerozoítos. Estos micromerozoítos son los que van a infectar leucocitos del torrente sanguíneo, concretamente monocitos y neutrófilos que circulan por la sangre periférica con la formación de gamontes en su interior. También se ha señalado la transmisión transplacentaria entre hospedadores intermediarios (Cairó et al., 1994).

Cuando la garrapata parasita al animal, se alimenta de su sangre y se infecta con leucocitos que contienen gamontes. En el intestino de la garrapata los gametocitos se fusionan (fase sexual) para formar un ooquinetto, el cual penetra al epitelio intestinal y se convierte en un ooquiste no esporulado. Cada esporoquiste maduro contiene entre 12 y 24 esporozoítos en su interior (Bowman, 2011). En la garrapata se ha podido demostrar la transmisión transtadial, no así la transmisión transovárica (Aktas et al., 2017).

Diferentes estudios sobre la biología de la garrapata han demostrado que una misma garrapata puede ser responsable de transmitir de modo eficaz múltiples patógenos al hospedador intermediario, cuando se está alimentando sobre el animal o incluso después de ser ingerida (método de transmisión de la enfermedad en estudio). También puede darse que, en el mismo animal, haya varias garrapatas alimentándose al mismo tiempo y que cada una de ellas esté transmitiendo enfermedades diferentes. El resultado de ambas situaciones es un hospedador intermediario en el que pueden coexistir diferentes enfermedades (Kaur P. et al., 2012).

## 2.2. Patogenia

La hepatozoonosis es una enfermedad sistémica que suele estar influenciada por estados de inmunodeficiencia (Pardo Martínez, 2015). La patogenicidad de la misma comienza cuando los esporozoítos atraviesan la pared intestinal causando daños por ruptura de los enterocitos. Una vez distribuidos por todo el organismo, causan daño en las células endoteliales del músculo esquelético, miocardio, bazo, hígado, pulmones y ganglios linfáticos provocando inflamación (Baneth et al., 2016). Asimismo, en el momento que se produce la liberación de los micromerozoítos, se origina una reacción inflamatoria granulomatosa dolorosa. No obstante, los esporozoítos que se enquistan pueden no inducir ninguna respuesta inflamatoria.

En ocasiones, cuando la multiplicación se produce alrededor del hueso se origina una reacción perióstica que provoca un engrosamiento de la superficie ósea.



Como consecuencia de la multiplicación del parásito, los órganos afectados sufren un aumento de tamaño debido al daño vascular causado por la degeneración fibrinoide, mineralización y proliferación de la túnica íntima vascular, así como por la presencia de granulomas, amiloidosis, vasculitis, glomerulonefritis, trombosis y necrosis. Cuando se produce una alta parasitemia, la alta demanda de nutrientes y los daños directos provocados en los tejidos, llevan al animal a una extrema pérdida de peso y caquexia (Baneth et al., 2016).

La anemia es el trastorno hematológico más común en la infección por *H. canis* y es, por lo general, normocítica normocrómica regenerativa (Baneth, 2016). La causa puede ser la inflamación crónica, la reducción de la eritropoyesis debido a la supresión de la médula ósea, la pérdida de sangre por la masiva infestación de garrapatas, o la combinación de estos o varios factores (Kalyan et al., 2015).

La mieloperoxidasa es la proteína más abundante en los neutrófilos y monocitos y es la única enzima peroxidasa que cataliza la reacción de conversión del cloruro y del peróxido de hidrógeno para producir ácido hipocloroso. Este último compuesto es un potente agente oxidante que participa en la eliminación de agentes extraños e infecciosos por parte de las células fagocitarias. En un estudio sobre la deficiencia de mieloperoxidasa en los neutrófilos asociado a la hepatozoonosis canina se observó que, tiñendo las muestras de sangre periférica de los perros positivos citoquímicamente para mieloperoxidasa, los neutrófilos parasitados eran deficientes en mieloperoxidasa mientras que los no infectados eran positivos a la mieloperoxidasa (Ibrahim ND. et al., 1989).

En animales naturalmente infectados, sometidos a necropsia, se han hallado parasitados todos los órganos examinados (bazo, hígado, pulmones, corazón, riñones, ganglios linfáticos y médula ósea). La afección renal crónica, además de incrementar las cifras de urea y creatinina, puede asociarse a valores disminuidos de proteínas totales. La inflamación hepática se manifiesta frecuentemente con incremento de los valores de fosfatasa alcalina y también con hipoproteinemia.

### 2.3. Signos clínicos

Los síntomas clínicos de la enfermedad pueden pasar desde desapercibidos en perros aparentemente sanos hasta una debilidad severa, caquexia y anemia, comprometiendo la vida del animal y pudiéndolo llevar incluso a la muerte. No existe relación entre la duración de la enfermedad y la gravedad del cuadro, así como tampoco hay predisposición por raza, sexo ni edad (Baneth et al., 2016)

En los perros la forma más común de presentación es la forma leve, normalmente crónica, con una infección subclínica asociada a una baja parasitemia (Baneth et al., 2016). Los signos clínicos más comunes que pueden presentar incluyen pérdida de peso, anorexia, cojeras, descarga oculonasal, conjuntivitis y fiebre.

Los hallazgos hematológicos comprenden neutrofilia y eosinofilia con una parasitemia entre el 1 y el 9% de los neutrófilos circulantes de la sangre periférica de las muestras de los perros examinados. Los niveles altos de parasitemia normalmente van acompañados de una extrema neutrofilia alcanzando los 150.000 neutrófilos por ml de sangre con 50.000 gamontes por ml de sangre (Baneth et al., 2016).

### 2.4. Diagnóstico

El diagnóstico clínico es solo presuntivo y se basa en el historial médico del paciente, reseña, anamnesis, los síntomas clínicos y una exploración física completa.

Dada la presencia de síntomas clínicos inespecíficos y la alta probabilidad de que en el animal existan enfermedades de diferente origen (bacteriano, vírico o parasitario) con sintomatología parecida, es evidente la necesidad de establecer un diagnóstico diferencial con otras enfermedades como erlichiosis, babesiosis, filariosis, leishmaniosis, parásitos intestinales, etc.

Los signos hematológicos que ayudan al diagnóstico son la presencia de leucocitosis con neutrofilia y monocitosis acompañado de una anemia regenerativa. Así mismo pueden hallarse alterados los valores bioquímicos en sangre como la urea, proteínas totales, creatinina y fosfatasa alcalina.

El diagnóstico definitivo de *H. canis* es laboratorial y se puede realizar mediante un frotis sanguíneo de sangre periférica teñidos con Diff-Quick, Giemsa o May-Grünwald-Giemsa, en el que se pueden observar los gamontes en el interior de los neutrófilos o los monocitos. También se puede diagnosticar mediante biopsia de tejido muscular en el que se pueden visualizar macromerozoítos y micromerozoítos o por PCR (Qamar M. et al., 2017).

### 2.5. Tratamiento

Actualmente existen en el mercado distintos productos para el tratamiento de la hepatozoonosis canina, sin embargo, presentan resultados dispares respecto a su eficacia. En muchos de los estudios que se han realizado se señala que ningún tratamiento es realmente efectivo, ya que aunque disminuyen la carga parasitaria, suele haber recidivas. Un ejemplo claro es la terapia con agentes quimioterapéuticos cuya respuesta es pobre por la deficiencia de la enzima mieloperoxidasa (Ibrahim ND et al, 1989).

No obstante, la combinación de dipropionato de imidocarb y/o toltrazuril con doxiciclina devuelve los valores hematológicos y bioquímicos a su rango de normalidad y dan como resultado frotis de sangre negativos (De Tommasi AS. et al., 2014).

Así mismo, es igual de importante aplicar un producto de forma externa, por ejemplo amitraz, para controlar y prevenir la transmisión a través del hospedador definitivo (Roopali B., 2017).

## 3. Justificación y Objetivos

La hepatozoonosis es una enfermedad poco estudiada en comparación con otras patologías causadas por parásitos hemáticos, y por lo tanto, hay poca información recopilada. Concretamente en Argentina hay escasos estudios y estos o bien sólo describen casos clínicos, o bien son estudios de prevalencia que no se pueden aplicar al territorio objeto del estudio. Esto es así porque, al tratarse de un territorio tan extenso en cuanto a superficie, no pueden extrapolarse los resultados a otras zonas a causa de los cambios drásticos de clima entre unas zonas y otras. Un hecho que hace variar la incidencia de garrapatas y, como consecuencia, el

cambio de prevalencia de la enfermedad. Es por este motivo que surge, en la provincia de Buenos Aires, la necesidad de iniciar un nuevo estudio sobre este parásito y su prevalencia.

Aprovechando mi estancia en la República Argentina y motivada por el interés personal por la parasitología, la Cátedra de Parasitología Comparada de la Facultad de Ciencias Veterinarias me brindó la posibilidad de colaborar con ellos en un proyecto de investigación sobre algunas enfermedades parasitarias hemáticas en un área vulnerable periurbana a la ciudad de La Plata. Entre las diferentes propuestas se encontraba Hepatozoonosis, que tampoco está estudiada en España. Por lo tanto, la elección de esta enfermedad fue impulsada por el interés y la curiosidad a nivel personal y también por la necesidad en el territorio platense de hacer una investigación al respecto sobre esta enfermedad emergente y tan poco estudiada. De modo que los objetivos que se persiguieron en este trabajo fueron los siguientes:

- Determinar la prevalencia de cánidos infectados de *Hepatozoon spp.* en la zona de “El Molino” de Punta Lara, localidad de Ensenada, provincia de Buenos Aires.
- Relacionar los casos positivos con la presentación clínica, los hallazgos laboratoriales y también con la aplicación y la efectividad de los tratamientos antiparasitarios externos.

## 4. Metodología

### 4.1. Área de estudio

La parte práctica de este trabajo se inicia con el trabajo de campo que tiene su localización en el barrio “El Molino” de Punta Lara, localidad de Ensenada (34° 49' 0" S, 57° 58' 0" W) y se realiza durante jornadas educativo-sanitarias enmarcadas en proyectos de extensión y voluntariado universitarios, denominados “Capacitación y acciones sobre prevención de enfermedades transmisibles” y “Zoonosis parasitarias: Alertas tempranas desde la perspectiva de Una Salud”.

### 4.2. Cálculo de tamaño de muestra

Acorde a la búsqueda bibliográfica sobre estudios similares al presente, se desconoce la población canina de la población a estudiar. Su cálculo es impracticable por las condiciones dinámicas de la zona de estudio, por lo tanto, se procede a realizar los cálculos bajo una población en riesgo desconocida. Se presume una prevalencia esperada del 6% con un nivel de confianza del 95% y una precisión del 5%.

Con los datos anteriores se obtiene que el tamaño de muestra es de al menos 87 individuos escogidos al azar y que constituyan una muestra representativa de la población.

### 4.3. Encuesta epidemiológica

Una vez determinado el punto anterior, se procede a la cumplimentación de una encuesta epidemiológica con dos *modus operandi*: uno de ellos es ir casa por casa en busca de los perros de la zona a estudiar y la otra es establecerse con todo el equipo y el material en un punto del barrio más o menos céntrico y que la gente acuda y haga correr la voz.

La encuesta epidemiológica (anexo nº 1) realizada a los propietarios tiene dos propósitos. El primero es la recolección de datos con la finalidad de conocer en detalle la clínica, las condiciones generales de cada animal y algunas particularidades, es decir, se realiza una evaluación clínica general haciendo especial hincapié en la presencia o ausencia de: secreción ocular, secreción nasal, debilidad del tercio posterior, adelgazamiento, fiebre, etc. Incluye un consentimiento informado que permite a los dueños conocer la naturaleza, propósitos, inconvenientes y riesgos de las maniobras que se van a realizar. El segundo propósito es el de concienciar a los propietarios del correcto uso de los antiparasitarios tanto externos como internos para prevenir y controlar enfermedades.

### 4.4. Toma de sangre y procesamiento de muestras

#### a) En territorio:

Una vez cumplimentada la encuesta se procede a la extracción de 5 ml de sangre periférica de la vena cefálica o de la safena externa con una aguja de 0,80 x 2,5 y una jeringa de 5 ml, previa asepsia de la vena de cada animal, entre las 11:00 y las 16:00 horas, tal y como

se muestra en la figuras nº 3 y 4. Acto seguido e *in situ* se procede a realizar el frotis sanguíneo ya que *H. canis* abandona rápidamente los leucocitos y dificultaría su posterior identificación. Una vez realizada la extensión se deja secar el portaobjetos, se identifica la muestra y se guarda.

El resto de la sangre extraída se divide rauda y equitativamente en dos tubos, uno con heparina y otro sin heparina para ser utilizados en la determinación del hematocrito y los analitos respectivamente (urea, creatinina, fosfatasa alcalina y proteínas totales).



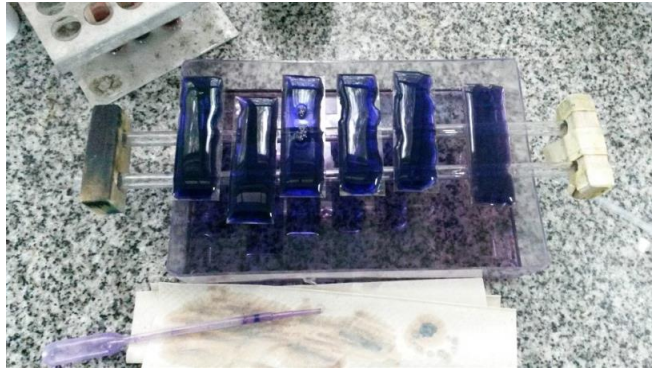
**Figura N°3. Extracción de sangre**



**Figura N°4. Extracción de sangre**

b) En el laboratorio:

Una vez en el laboratorio los frotis se tiñen mediante la tinción May Grünwald-Giemsa, en la que primero se añade la tinción May Grünwald y se deja actuar dos minutos. Pasado este tiempo se lava con agua destilada y se añade la tinción Giemsa preparada con 45 gotas de Giemsa por cada 20 ml de agua destilada. Esta preparación debe actuar 20 minutos (figura N° 5).



**Figura Nº 5. Tinción de frotis sanguíneos con Giemsa**

Al finalizar este tiempo se lava con agua destilada, se deja secar y se mira al microscopio con aceite inmersión a 100x (1000 aumentos). Las imágenes incluidas han sido tomadas con Microscopio Leica DM500 - Cámara ICC50HD, durante el desarrollo de la presente experiencia. La visualización de un solo parásito da como resultado una muestra positiva, entonces, se calcula el porcentaje de glóbulos blancos infectados sobre 500 leucocitos para conocer el grado de parasitemia.

Con la sangre heparinizada y una centrifuga se realiza el hematocrito para ver el grado de anemia (figura nº 6).

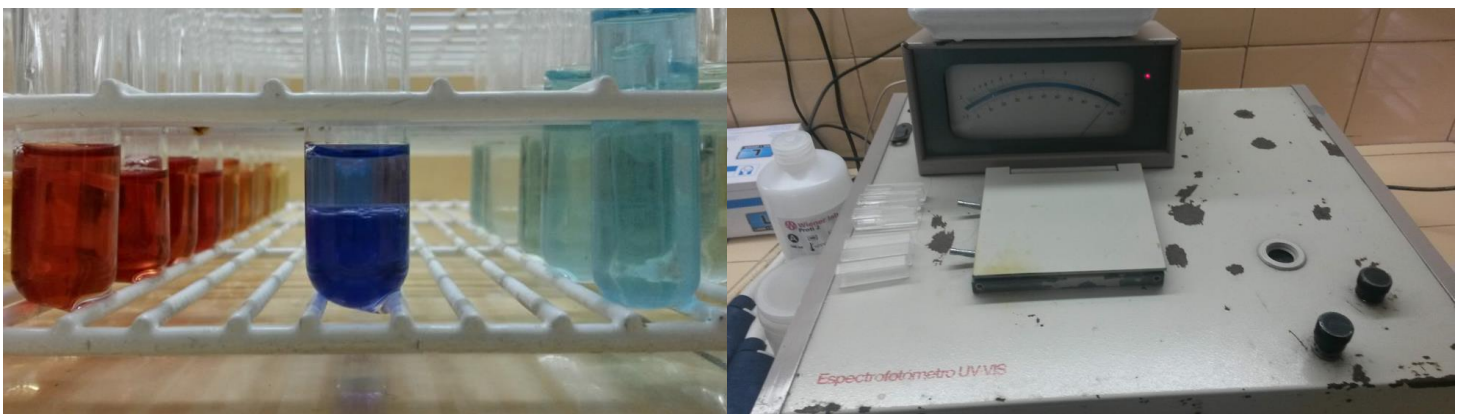


**Figura Nº 6. Capilares dentro de una centrifuga para hematocritos**

La sangre entera no heparinizada se centrifuga para la obtención de sueros (figura nº 6 y figura nº 7) que se separan, se alicuotan y se congelan. Estos sueros sirven para análisis de urea, creatinina, fosfatasa alcalina y proteínas totales (figura nº 8) cuya lectura se realiza utilizando un espectrofotómetro (figura nº 9 y figura nº 10). Dichos análisis se realizan siguiendo los protocolos elaborados por el Laboratorio Wiener.



**Figura N° 7. Centrifuga para la obtención de suero (izquierda y centro) y figura N° 8. Reactivo para la determinación de proteínas totales (derecha)**



**Figura N° 9. Batería de analitos preparados para ser leídos (izquierda) y figura N° 10. Espectrofotómetro para la lectura de los analitos (izquierda)**

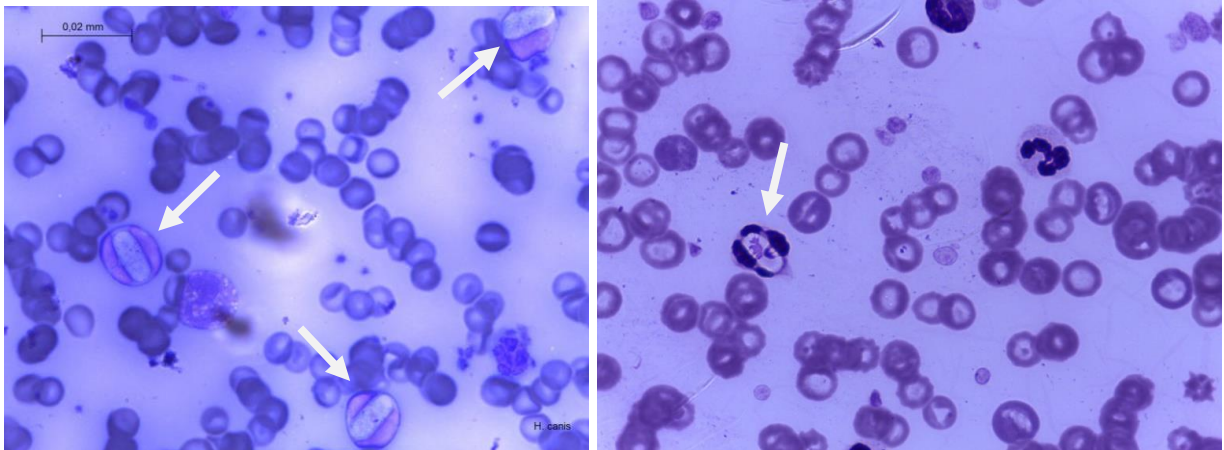
## 5. Resultados y discusión

De un total de 94 muestras de sangre recogidas, se registraron 29 positivas lo que representa una prevalencia del 30,85%. Es una cifra elevada comparada con otras ciudades cercanas como la de Buenos Aires 1,36% (Eiras Df. et al., 2006) y otras partes del mundo como

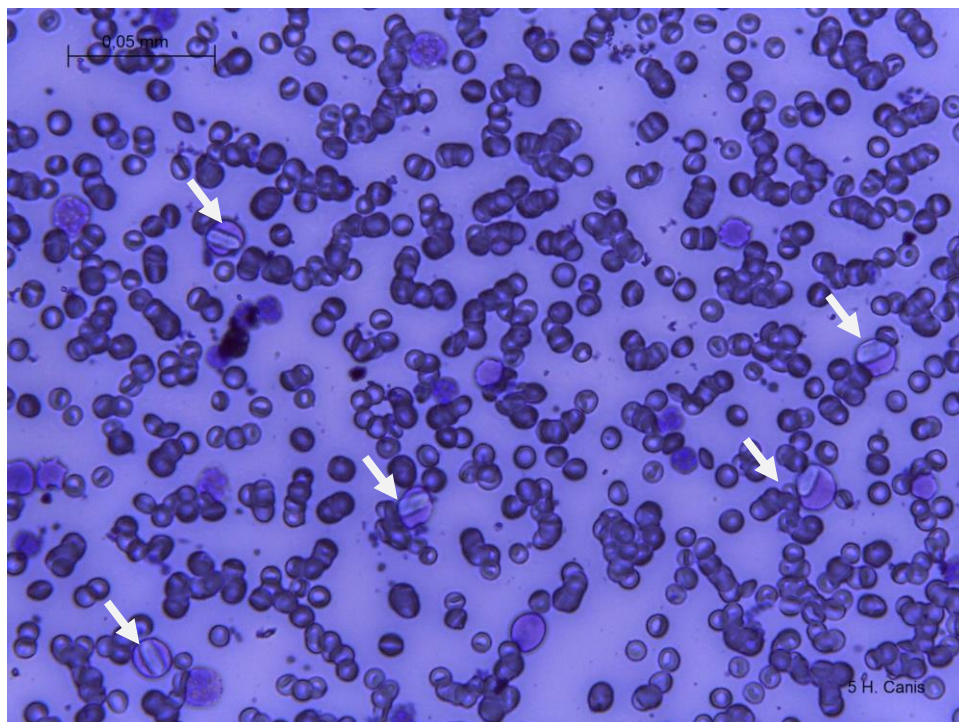


Pakistan (12%) (Qamar M. et al., 2017), Corea (0,2%) (Suh GH. et al., 2017) o Romania 15% (Andersson MO. et al., 2017). Sin embargo, son inferiores a los datos obtenidos en la provincia de Formosa (41%) (Eiras et al., 2006).

El tamaño medio del parásito es de 12 micras de largo por 6 micras de ancho (figuras nº 11, nº 12 y nº 13).

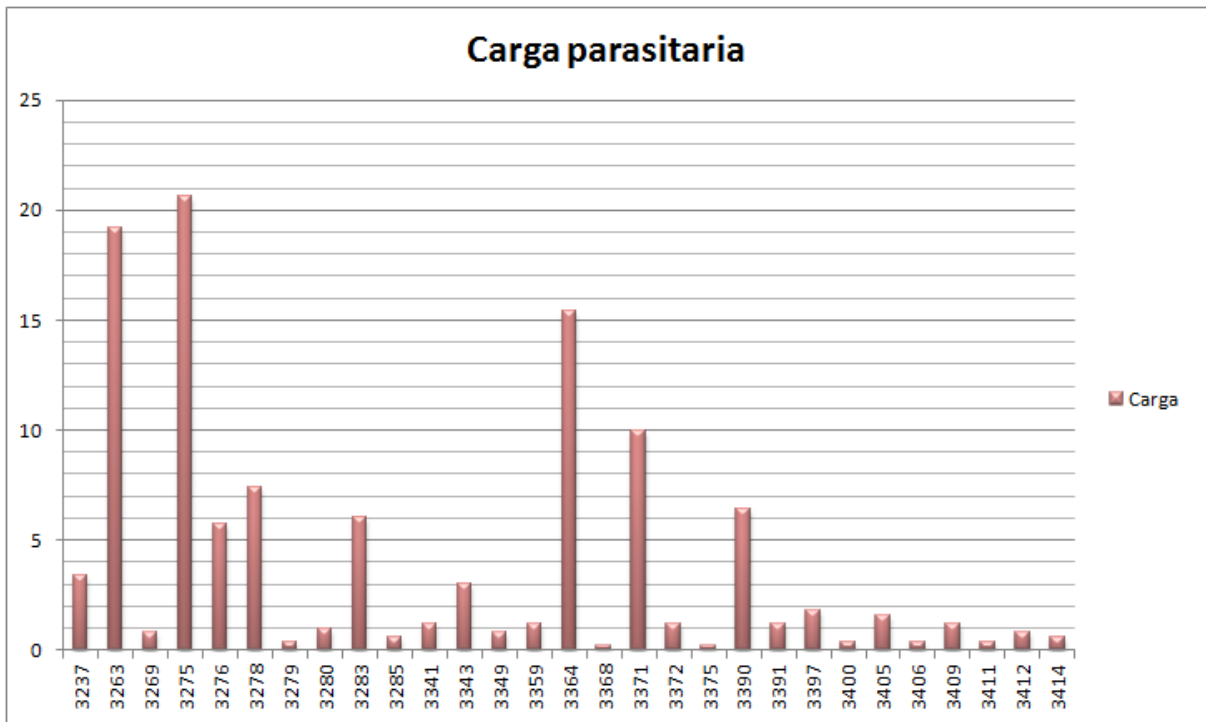


**Figura Nº 11. Visualización de 3 gamontes de *H. canis* en el interior de monocitos (100x) (izquierda) y figura Nº 12. Gamonte en el interior de un neutrófilo (100x) (derecha).**



**Figura Nº 13. Visualización de 5 *H. canis* en el interior de monocitos (40x)**

En relación a la carga parasitaria (figura nº 14) se puede observar como la gran mayoría de los animales positivos presentan una baja carga parasitaria que no sobrepasa del 6% y sólo 3 de los casos despuntan por encima del 15%. La media de la carga parasitaria resulta en un 3,8% con valores comprendidos entre 0,2% y el 20,6%.



**Figura Nº 14. Carga parasitaria de las 29 muestras positivas** (sobre el eje de las Y el valor de la carga parasitaria expresado sobre el tanto por ciento y sobre el eje de las X el número de protocolo del animal).

El valor hematocrito de todas las muestras recogidas estaba contenido entre el 15% y el 52% con una media del 30,26%. En la figura nº 15 se presentan los resultados de las 65 muestras a las que se les realizó hematocrito.

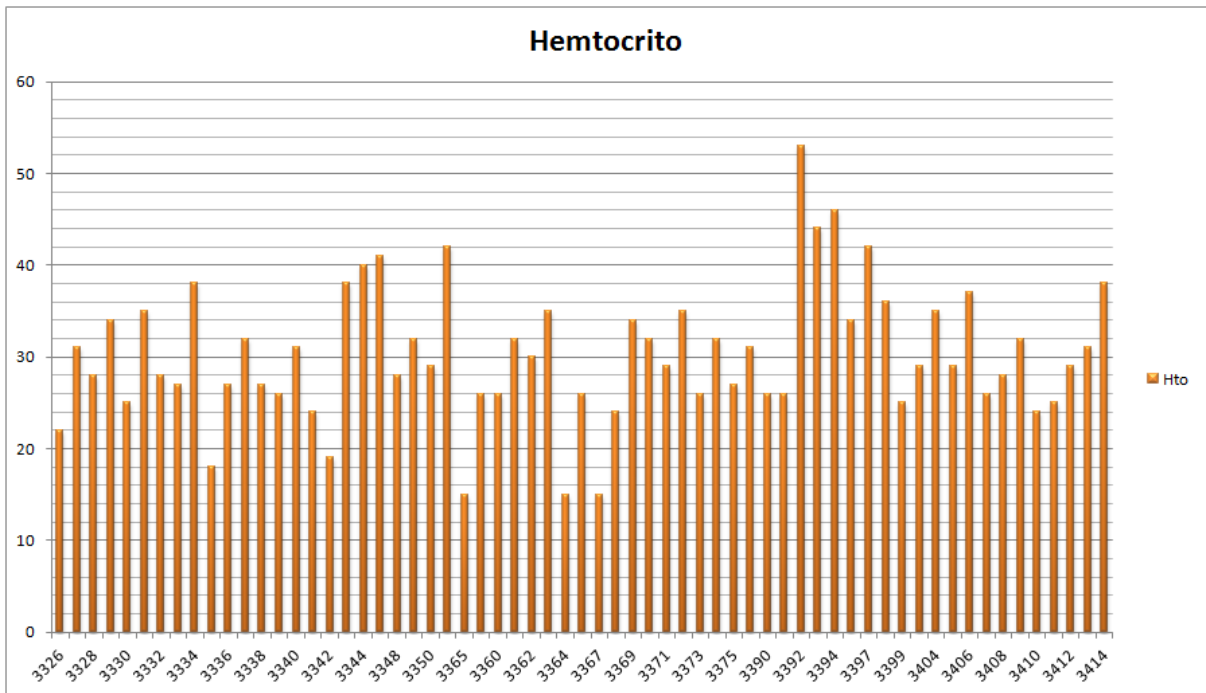


Figura Nº 15. Hematocrito (unidades expresadas en porcentaje sobre el eje de las Y).

El valor hematocrito normal para la especie canina es del 38% al 53% (Coppo, J. 2010). Del total de las 65 muestras analizadas, solo 10 casos estaban dentro del rango de normalidad, 3 de los cuales eran positivos a *H. canis* y rozando el límite inferior. Así que el 89,7% de los casos positivos a *H. canis* presentaban una ligera (y en algunos casos severa) anemia. A destacar el curioso caso de un perro positivo a *H. canis* que presentaba un grado de anemia extrema (no sobrepasaba el 10%) (figura nº 15).

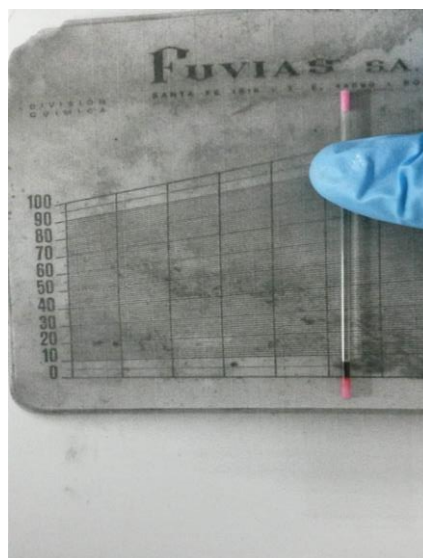


Figura Nº 15. Hematocrito con anemia severa

La anemia podría estar causada por el daño causado por el parásito a lo largo de su ciclo vital dentro del organismo del perro o por el tipo de alimentación del hospedador definitivo.

En la tabla nº 1 se presentan los resultados de las pruebas bioquímicas realizadas a los sueros de las muestras positivos junto con los resultados de las pruebas anteriores ya mencionadas y los resultados de las encuestas.

## PARASITOSIS HEMATICAS

Hepatozoonosis canina en la República Argentina

Nº historial (nº animal)	% parasitemia	Hematocrito (38-53%)	Urea (0,20-0,40 g/l)	Creatinina (0,6-1,2 mg/dl)	Proteínas totales (5,4-7,5 g/dl)	Fosfatasa alcalina (15-128 UI/l)	Ectoparásitos	Desparasitación externa	Síntomas específicos
1 (3237)	3,4	-	0,28	0,95	6,06	90	Si (pulgas)	No	No
2 (3263)	19,2	-	0,23	0,91	6,6	81	No	Si	No
3 (3269)	0,8	-	<b>0,49↑**</b>	<b>1,31↑</b>	6	<b>310↑</b>	Si (pulgas)	No	Si
4 (3275)	20,6	-	0,32	0,98	6	92	Si (garrapatas)	No	Si
5 (3276)	5,7	-	<b>0,8↑</b>	<b>1,8↑</b>	<b>4,1↓</b>	<b>350↑</b>	Si (pulgas)	No	Si
6 (3278)	7,4	-	0,35	1,2	6	120	Si (pulgas, garrapatas)	No	No
7 (3279)	0,4	-	0,26	0,85	5,9	<b>380↑</b>	Si (pulgas)	No	No
8 (3280)	1	-	0,3	0,9	6,33	<b>280↑</b>	Si (pulgas, garrapatas)	No	No
9 (3283)	6	-	0,2	0,81	6,2	86	No	No	No
10 (3341)	1,2	<b>24↓*</b>	0,22	0,9	5,96	<b>315↑</b>	Si (pulgas)	No	Si
11 (3343)	3	38	0,4	<b>1,3↑</b>	6,01	94	Si (pulgas)	No	Si
12 (3349)	0,8	<b>32↓</b>	0,21	0,91	6,3	<b>290↑</b>	Si (pulgas, garrapatas)	No	No
13 (3359)	1,2	<b>26↓</b>	<b>0,5↑</b>	<b>1,55↑</b>	5,8	90	Si (pulgas)	No	Si
14 (3364)	15,4	<b>15↓</b>	0,23	0,94	5,15	<b>295↑</b>	Si (pulgas)	No	No
15 (3368)	0,2	<b>24↓</b>	<b>0,19↓</b>	0,8	<b>8,19↑</b>	105	Si (garrapatas)	No	No
16 (3371)	10	<b>29↓</b>	0,33	1,09	<b>8,19↑</b>	76	Si (pulgas)	No	Si
17 (3372)	1,2	<b>35↓</b>	<b>0,09↓</b>	<b>0,5↓</b>	<b>5,38↓</b>	<b>152↑</b>	Si (pulgas)	No	Si
18 (3375)	0,2	<b>27↓</b>	<b>0,13↓</b>	0,8	5,61	<b>238↑</b>	No	Si	No
19 (3390)	6,4	<b>26↓</b>	<b>0,19↓</b>	0,77	<b>4,68↓</b>	<b>171↑</b>	No	Si	Si
20 (3391)	1,2	<b>36↓</b>	0,23	0,86	<b>3,97↓</b>	<b>1024↑</b>	Si (pulgas)	No	No

## PARASITOSIS HEMATICAS

Hepatozoonosis canina en la República Argentina

21 (3397)	1,8	42	<b>0,06↓</b>	0,94	7,48	<b>229↑</b>	Si (pulgas)	No	No
22 (3400)	0,4	<b>29↓</b>	0,90	<b>1,3↑</b>	<b>5,2↓</b>	<b>440↑</b>	Si (pulgas, garrapatas)	No	Si
23 (3405)	1,6	39	<b>0,16↓</b>	0,88	7,48	86	Si (garrapatas)	No	No
24 (3406)	0,4	<b>37↓</b>	<b>0,16↓</b>	0,75	<b>8,42↑</b>	76	Si (pulgas)	No	No
25 (3409)	1,2	<b>32↓</b>	<b>0,6↑</b>	<b>1,9↑</b>	6,1	<b>330↑</b>	No	No	No
26 (3411)	0,4	<b>25↓</b>	<b>0,88↑</b>	1,18	<b>5,1↓</b>	<b>888↑</b>	Si (piojos)	No	No
27 (3412)	0,8	<b>29↓</b>	<b>0,96↑</b>	<b>1,33↑</b>	<b>5,15↓</b>	<b>1230↑</b>	Si (pulgas)	No	No
28 (3414)	0,6	38	<b>1↑</b>	<b>1,67↑</b>	<b>4,1↓</b>	<b>880↑</b>	Si (piojos)	No	No

**Tabla Nº 1. Resultados de las encuestas y las pruebas laboratoriales realizadas a los perros positivos**

**\*:valor disminuido respecto al rango de normalidad**

**\*\* : valor aumentado respecto al rango de normalidad**

**Rangos de normalidad obtenidos de Coppo, J. 2010**

De los animales positivos, se detectó que el 46% mostraron valores de urea en sangre alterados, de los cuales 25% aumentados y 21% disminuidos. El 32% presentaron valores de creatinina alterados, de los cuales 29% aumentados y 3% disminuidos. Respecto a las proteínas totales el 39% presentaban los valores alterados (11% aumentados y 28% disminuidos). Finalmente la fosfatasa alcalina estaba aumentada en el 61% de los casos.

La presencia del parásito provoca la formación de inmunocomplejos que se depositan en el riñón provocando una insuficiencia renal, aumentando así los valores de urea en sangre. La uremia también puede ser debida a una deshidratación o hipovolemia. Valores disminuidos de uremia pueden ser debidos a una dieta hipoproteica o a una insuficiencia hepática crónica. La creatinina elevada puede ser por insuficiencia renal (pre-renal, renal o post-renal) ocasionada por el parásito o por incremento de la actividad muscular, miositis o traumatismo muscular. La fosfatasa alcalina elevada puede ser por la afección del parénquima hepático provocada por el parásito y las proteínas totales pueden estar aumentadas por una hemólisis que causa el parásito o una hiperalbuminemia causada a su vez por una deshidratación (Cairó, 1994). Valores disminuidos de proteínas totales pueden estar asociados al daño hepático debido al parásito o a otros procesos patológicos causados por otros parásitos, virus o bacterias así como a la desnutrición que sufren los animales.

En este estudio el 54% de los perros mostraron dos o más analitos fuera de su rango de normalidad. Sin embargo, los animales con más parasitosis (casos nº 2, 4 y 14) no siempre coincidían con una mayor alteración de los parámetros estudiados. Así es, el caso nº 2 (19,2%) y el nº 4 (20,6%) no presentaban ningún analito alterado, a excepción del número 14 (15,4%) que presentaba la urea disminuida y la fosfatasa alcalina aumentada. Por otro lado, los animales que presentan mayor alteración en estos valores como el nº 5, el nº 17 y el nº 27 no presentaban altas cargas parasitarias: 5,7% , 1,2% y 0,8% respectivamente. Por lo tanto, no siempre se puede relacionar la carga parasitaria con la alteración de las pruebas bioquímicas.

Así mismo, se pudo determinar que el 89% de los perros estudiados que resultaron positivos tenían presencia de ectoparásitos, esto podría explicar la alta prevalencia de la zona. Los perros estaban en su mayoría infestados solo de pulgas (50%), otros de pulgas y garrapatas (11%), otros solo de garrapatas (10%) y otros de piojos (7%). La ausencia de la garrapata en

## PARASITOSIS HEMATICAS

### Hepatozoonosis canina en la República Argentina

muchos de los animales parasitados es posiblemente debido a que la garrapata sube al animal para alimentarse y luego baja a diferencia de la pulga y el piojo que viven sobre el animal.

Sería necesario realizar estudios tendientes a investigar la especie de *Hepatozoon* circulante, así como la posibilidad de que invertebrados distintos a las garrapatas actúen en la transmisión. Otra actuación recomendable sería la de realizar estudios moleculares retrospectivos en humanos del lugar, muchos de ellos sumidos en la máxima pobreza y vulnerabilidad social.

El 11% de los perros habían sido tratados con antiparasitarios y, a pesar de que no tenían ectoparásitos, estaban infectados. Esto podría indicar que, en algún momento anterior, o bien el antiparasitario no se ha aplicado, o se ha aplicado pero de forma adecuada o es de baja eficacia. La mancomunidad en la que viven estos animales también facilita que se puedan contagiar los ectoparásitos los unos a los otros entendiéndose así la importancia del tratamiento antiparasitario.

El 35% por ciento de los animales positivos presentaban signos clínicos relacionados con la enfermedad: descarga ocular de tipo seropurulenta, hirsutismo, caquexia, debilidad del tercio posterior, poliuria/polidipsia, descarga nasal, conjuntivitis, etc. Siendo la descarga ocular el signo clínico que más se repetía en todos los casos (55%). Es importante decir que, revisando la clínica de los casos negativos, también se encontraron perros con estos signos clínicos. Con esta información se puede suponer: la escasa relación de los signos clínicos con la enfermedad y, por otro lado, que la mayoría de los perros no presentan síntomas, es de decir, que la enfermedad mayormente tiene presentación subclínica.

La baja parasitemia de los glóbulos blancos podría ser debido a que este estudio se inició a finales del mes de marzo. Esto significa que en el hemisferio sur comienza el otoño y con ello el descenso de las temperatura con el consiguiente declive del número de ectoparásitos. De tal forma que el organismo puede combatir más eficientemente la enfermedad y eliminar el parásito disminuyendo así la carga parasitaria en sangre. La anemia pueden estar causada por el daño que causa *H. canis* a su paso por los diferentes tejidos, por su actividad a lo largo de su ciclo vital o por el tipo de alimentación del ectoparásito (Estrada, 2015). Sin embargo, también es posible que la anemia, o incluso la presentación de signos clínicos inespecíficos, estén causados por el daño



provocado por otros parásitos, virus o bacterias pero no se puede confirmar en este estudio (Bowman D. 2011).

Probablemente las características de vulnerabilidad de la zona actúen en favor de la parasitosis, dando como resultado la casi total probabilidad de que no existan caninos que no tengan una o más enfermedades ocasionadas por ectoparásitos. Es decir, las condiciones en las que viven los animales y la ausencia de tratamiento y de control inclinan al animal a padecer de forma casi segura una o más enfermedades. Este hecho se apoya en los resultados de las encuestas en las que solo el 11% habían sido desparasitados.

La relación que tienen humanos y mascotas denota la falta de educación sobre la tenencia responsable de animales, además de ser éstos últimos numerosos en la mayoría de los hogares del lugar. En consecuencia, y como posible actuación en busca de la mejora de ese aspecto, podrían impulsarse campañas de concienciación sobre la responsabilidad que conlleva tener a cargo una mascota, al igual que campañas de desparasitación, tanto de ectoparásitos como endoparásitos, para así controlar y disminuir la prevalencia de enfermedades como ésta.

## 6. Conclusiones

Existe una elevada prevalencia de *H. canis* en el área estudiada (30,85%) comparado con otras zonas de Argentina y del mundo.

La sintomatología clínica no siempre es un indicativo claro de la presencia del parásito sino que la presentación es en muchos casos subclínica (65%).

El signo clínico más característico es la anemia (89,7% de los casos) y el resto de parámetros analizados no siempre se alteran (54% de los casos).

La ausencia de desparasitación, pueden favorecer la presentación de *H. canis* y/o de otros procesos transmitidos por artrópodos.

#### 6.1. Conclusions

There is a high prevalence of *H. canis* in the studied area (30.85%) compared to other areas of Argentina and the world.

The clinical symptomatology is not always a clear indication of the presence of the parasite, but the presentation is in many cases subclinical (65%).

The most characteristic clinical sign is anemia (89.7% of cases) and the other analyzed parameters are not always altered (54% of cases).

The absence of deworming may favor the presentation of *H. canis* and/or other processes transmitted by arthropods.

#### 7. Valoración personal

La realización de este trabajo ha supuesto un gran esfuerzo, pero a su vez, muy grato. Un esfuerzo importante a causa de la escasez de información a nivel bibliográfico, si lo comparamos con la bibliografía existente relativa a otros parásitos hemáticos. Este hecho ha supuesto tener que llevar a cabo una búsqueda más exhaustiva, a la vez que andar un poco a ciegas con la previsión de los resultados que íbamos a obtener. También porque para la realización de este trabajo ha habido varias personas involucradas que también han trabajado para coordinarse y que todo se pudiera llevar a cabo, una riqueza que a su vez también añade complejidad a la metodología. A nivel personal ha sido complicado lidiar con los sentimientos que me creaba presenciar la pobreza que rodeaba a la gente y a los perros del barrio, junto con los pocos recursos con los que apenas sobrevivían.

Todo esto ha significado tener que aprender a trabajar en un ambiente desconocido para mí, con medios limitados y con la inevitable necesidad de adaptarse a las circunstancias que se presentaban en cada momento. Sin embargo, y pese a todo, la experiencia ha sido muy satisfactoria, al poder ayudar a las familias con mascotas, determinar si estaban infectadas o no, su estado clínico general con las analíticas y las pruebas laboratoriales, y en caso correspondiente tratarlas y desparasitarlas. Otras aportaciones personales también muy gratas han sido poder trabajar en un ámbito que es de mi agrado e interés y en el que me siento cómoda como es el laboratorio. Me he divertido y he aprendido descubriendo el parásito y conociendo más cosas sobre él, no sólo bibliográficamente si no en el trabajo de campo.

Ha sido muy fácil trabajar en cualquier ámbito y situación con el equipo ya que está formado por maravillosas personas, que son grandes profesionales con muchas ganas de trabajar, de seguir aprendiendo y descubriendo. Ha sido un orgullo para mí el reconocimiento, tanto personal por parte del laboratorio como académico por parte de la universidad, así como a nivel profesional. Considero que fruto de este aprendizaje adquirido, en el día de mañana toda esta formación me podrá servir para ponerla en práctica y poder seguir ayudando a los perros en particular y a la sociedad en general. A su vez, el grupo con el que trabajé me ha hecho saber que a raíz de mi presencia se inició una línea de trabajo en la Cátedra de Parasitología Comparada, laboratorio de Parasitosis Humanas y Zoonosis Parasitarias.

La realización de este trabajo también ha supuesto poner en práctica competencias y habilidades que se he adquirido a lo largo de la carrera universitaria y ha fomentado mi carácter emprendedor por la oportunidad que se brinda desde la Universidad de Zaragoza de poder escoger el tema y los objetivos del TFG con total libertad. Por último y no menos importante destacar que la elaboración de este trabajo no hubiera sido posible sin el asesoramiento, el esfuerzo y la dedicación por parte de la profesora María Jesús Gracia Salinas.

### 8. Bibliografía

- Aktas M, Özübek S. (2017). Transstadial Transmission of *Hepatozoon canis* by *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) in Field Conditions. *Journal of Medical Entomology*, 54 (4): 1044–1048, <https://doi.org/10.1093/jme/tjx050>
- Andersson MO, Tolf C, Tamba P, Stefanache M, Waldenström J, Dobler G, Chițimia-Dobler L. (2017). Canine tick-borne diseases in pet dogs from Romania. *Parasites & Vectors*, 10(1): 155. doi: 10.1186/s13071-017-2092-x.
- Baneth G, Vincent-Johnson N. (2016). *Arthropod-borne Infectious Diseases of the Dog and Cat 2nd Edition*. pp: 109–124. <http://www.crcnetbase.com/doi/pdfplus/10.1201/b19686-9>
- Bowman D. (2011). *Georgis' parasitology for veterinarians*. Elsevier, Amsterdam, 496 pp.
- Cairó J, Font J, Gorraiz N, Pallisera, M, Pons C. (1994). *Hepatozoonosis canina*. Estudio retrospectivo de 8 casos clínicos. *Clínica veterinaria de pequeños animales*, 14 (1): 35-46, ISSN 1130-7064
- Coppo J. (2010). *Interpretación de análisis clínico de perros y gatos*. Salta, Argentina. Editorial Eucasa.
- De Tommasi AS, Giannelli A, de Caprariis D, Ramos RA, Di Paola G, Crescenzo G, Dantas-Torres F, Baneth G, Otranto D. (2014). Failure of imidocarb dipropionate and toltrazuril/emodepside plus clindamycin in treating *Hepatozoon canis* infection. *Veterinary Parasitology*, 200(3-4): 242-5. doi: 10.1016/j.vetpar.2013.12.013.

## PARASITOSIS HEMATICAS

### Hepatozoonosis canina en la República Argentina

- Eiras Df, Vezzanid, Fonatanarosa Mf., Scodellaro C., Basabe J. (2006). *Hemoparásitos caninos en Buenos Aires. Aspectos diagnósticos y epidemiología de la Hepatozoonosis, Babesiosis y Dirofilariosis canina*. Congreso; VI Congreso Nacional de la Asociación de Veterinarios Especializados en Animales de Compañía de Argentina.
- Estrada. (2015). *Garrapatas: morfología, fisiología y ecología*. Editorial Servet
- Ibrahim ND, Rahamathulla PM , Njoku CO. (1989) Neutrophil myeloperoxidase deficiency associated with canine hepatozoonosis. *International Journal for Parasitology*, 19(8):915-918 DOI: 10.1016/0020-7519(89)90119-7.
- 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
- Kaur P, Deshmukh S, Singh R, Bansal BK, Randhawa CS, Singla LD. (2012). Para-clinico-pathological observations of insidious incidence of canine hepatozoonosis from a mongrel dog: a case report. *Journal of Parasitic Diseases*. 36(1):135-8. doi: 10.1007/s12639-011-0092-x.
- Macintire DK y Vincent-Johnson N. (2001). Hepatozoonosis canina. En Kirk Bonagura (Ed). *Terapéutica veterinaria de pequeños animales*, 3° edición (331 – 334). España: McGraw Hill Interamericana.
- Morales Amella MJ, Serrano Serrano M., Sánchez Marco A., Sáez-Benito Ferrer JM, Jáuregui Latorre E, López Girón M. (1993). Caso clínico de *Hepatozoon canis*. *Clínica Veterinaria de Pequeños Animales*, 13 (4) 243-251.
- Pardo Martínez D. (2015). Diagnóstico de *Hepatozoon canis* en caninos domésticos de esperanza (FCV-UNL) (Santa Fe), Argentina <http://repository.udca.edu.co:8080/jspui/bitstream/11158/587/1/DIAGN%C3%93STIC%0%20DE%20HEPATOZOON%20CANIS%20EN%20CANINOS%20%281%29.pdf>

- Pérez G, Petetta L. (2012). Estudio de 50 casos de hepatozoonosis en caninos naturalmente infectados en el Gran Buenos Aires, Argentina. *Revista Veterinaria Argentina*, 29 (293): 1- 10.
- Qamar M, Malik MI, Latif M, Ain QU, Aktas M, Shaikh RS, Iqbal F. (2017). Molecular Detection and Prevalence of *Hepatozoon canis* in Dogs from Punjab (Pakistan) and Hematological Profile of Infected Dogs, 17(3):179-184. doi: 10.1089/vbz.2016.1999.
- 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.
- Roopali B, Priyanka Mahadappa, S. P. Satheesha, H. Sandeep, Vivek Kasaralika, N. A. Patil. (2017). Acute hepatozoonosis in dogs: a case report. *Indian Society for Parasitology* 2017.
- Suh GH, Ahn KS, Ahn JH, Kim HJ, Leutenegger C, Shin S. (2017). Serological and molecular prevalence of canine vector-borne diseases (CVBDs) in Korea. *Parasitology Vectors*, 10(1):146. doi: 10.1186/s13071-017-2076-x.

9. Anexos

1. Encuesta epidemiológica

ENCUESTA Nº : FECHA: ...../...../.....
Domicilio: .....
Casa Nº: ..... TE: .....
Barrio: .....
Entrevistante: .....

Autorizo a la Facultad de Ciencias Veterinarias a realizar las prácticas necesarias a mi mascota
Firma.....
Aclaración.....DNI.....

FILIACION

Nombre del dueño .....
E-mail : .....
Nombre del perro ..... Raza .....
Sexo ..... Edad ..... Pelaje/color .....
Característica diferencial .....

ESTADO CLÍNICO

Peso Normal .....Obeso.....Delgado.....Caquexia.....
Pelaje Hirsuto .....Normal.....
Estado de ánimo depresivo?..... Lo nota cansado? .....
Anorexia?.....
Tos?..... De qué tipo? .....
Secreción oculonasal?..... Tipo.....
Conjuntivitis?.....
Algún síntoma raro?.....
Poliuria/polidipsia?.....Estimación?.....
Convulsiones?.....Frecuencia y duración?.....
Debilidad del tercio posterior?.....Derecho y/o izquierdo?.....
Fiebre?.....
Ectoparásitos .....pulgas.....garrapatas.....piojos..... miasis.....
Endoparásitos ..... Tipo .....
Historial de parásitos .....
Tomó antiparasitarios? ..... Cuándo? .....Cuál? .....