

HEPATOOZONOSIS CANINA EN VENEZUELA. HALLAZGOS CLÍNICOS Y DE LABORATORIO

Canine hepatozoonosis in Venezuela. Clinical and laboratory findings

Omaira del C. Parra M.

Cruz María Arraga de Alvarado

Unidad de Investigaciones Clínicas
Facultad de Ciencias Veterinarias
Apartado 15252, Delicias 4003-A
Universidad del Zulia
Maracaibo, Estado Zulia, Venezuela

RESUMEN

Se reporta el estudio de 17 pacientes infectados con *Hepatozoon canis* atendidos en la Policlínica Veterinaria de la Universidad del Zulia durante los años 1992 al 1995, así como las experiencias con varias terapias descritas en la literatura. La enfermedad se presentó en perros de diferentes razas, en edades comprendidas entre los 3 meses y 8 años. El 17.6% de los pacientes presentó fiebre, el 70.5% temperatura normal y el resto hipotermia. Otros síntomas clínicos frecuentes fueron depresión (58.8%), anorexia (17.6%), apetito caprichoso (41.2%), pérdida de peso (76.5%), incoordinación de los miembros posteriores (29.4%), caída del tren posterior (23.5%), convulsiones (11.8%) y otros signos en menor grado. En el laboratorio se evidenció: anemia (87%), leuconormia (35.3%), leucocitosis (35.3%) y leucopenia (29.4%), neutrofilia (58.8%) y neutrófilos normales (35.3%). La hepatozoonosis se acompañó de *E. platys* (41.2%), *E. canis* (5.9%), *E. ewingii* (5.9%) y con microfilarias (11.8%). A siete (7) animales se les realizó química sanguínea resultando 85.7% con valores normales de glucosa y 14.2% con hipoglicemia; 85.7% con hipoalbuminemia e hiperglobulinemia. La fosfatasa alcalina se mantuvo aumentada en 42.8% de los pacientes. La mejor respuesta al tratamiento se logró con trimetoprim sulfametoxazol.

Palabras claves: Hepatozoonosis, caninos, hematología, química sanguínea, tratamiento.

ABSTRACT

An study of 17 *Hepatozoon canis* infected patient attended in the Veterinary Policlinic at the University of Zulia during 1992 - 1995 is reported as well the results with different therapies according with the literature. The disease affected dogs of different breeds and ages (3 months to 8 years). Fever was presented by 17.6% of the patients, 70.5% exhibit normal temperature and hypotermia the rest of the patients. Depression (58.8%), anorexia (17.6%), normal appetite (41.2%) capricious appetite (41.2%), weight loss (76.5%), limb incoordination (29.4%), lumbar paralysis (23.5%), convulsion (11.8%) were present. Other signs were showed less frequently. At the laboratory it was found: anemia (87%), normal WBC (35.3%), leukocytosis (35.3%), leukopenia (29.4%), neutrophilia (58.8%) and normal neutrophils (35.3%). Hepatozoonosis appear as mixed infection with *E. platys* (41.2%), *E. canis* (5.9%), *E. ewingii* (5.9%) and microfilarias (11.8%). Blood chemistry was done in seven patients, normal glucose values were seen in 85.7% and hypoglycemia in 14.2%; hypoalbuminemia and hypergammaglobulinemia in 85.7%. High alkaline phosphatase values were found in 42.8% of the dogs. Trimetoprim sulfametoxazol gave the best therapeutic result.

Key words: Hepatozoonosis, canines, haematology, blood chemistry, treatment.

INTRODUCCIÓN

La hepatozoonosis canina es una enfermedad infecciosa, transmitida por la ingestión de garrapatas infectadas por un protozoario, el *Hepatozoon canis*, el cual invade a los neutrófi-

los y monocitos circulantes en sangre. También invade al músculo estriado y a órganos parenquimatosos, entre ellos el hígado y el bazo.

Esta enfermedad ha sido reportada en África, Asia, Francia, Italia, Islas del Océano Pacífico e Índico y en los Estados Unidos de Norteamérica, donde fue reportada por primera vez en la Costa del Golfo de Texas, luego en Luisiana y Oklahoma [2,3,8,9,11,12,15,22,23,31,32,33]. En Venezuela (1984) fue reportada por primera vez en Barquisimeto - Estado Lara, como hallazgo histopatológico, cuando observaron a nivel del bazo los esquizontes de *Hepatozoon canis* [6].

El agente etiológico de esta enfermedad se encuentra ubicado en el phylum *Apicomplexa*, clase *Sporozoasida*, orden *Eucoccidiomida*, familia *Haemogregarinidae*, con su género *Hepatozoon* y su especie *Hepatozoon canis*, siendo éste el que afecta principalmente a los caninos domésticos. También ha sido reportada en gatos, chachales, coyotes, zorros, hienas, leopardos e inclusive en el hombre [7,8,9,33,37]. Existen otras especies de *Hepatozoon*, tales como el *H. muris* y el *H. balfouri* que infectan a reptiles, aves, roedores, marsupiales y otros mamíferos insectívoros [7,8,9,11,23,38]. La transmisión de la enfermedad se lleva a cabo principalmente a través de la ingestión de la garrapata *Rhipicephalus sanguineus* [2,3,8,9,10,12,13,15,19], que contiene los oocistos esporulados de *H. canis*. Sin embargo, existen otros tipos de vectores que también pueden intervenir en este mecanismo tales como, los mosquitos, los piojos, las pulgas [8] y otros tipos de garrapatas, como el *Haemaphysalis campanulata*, la *H. longicornis*, el *H. flava*, el *Ixodes ovatus* y el *I. nipponensis* [24,27,29].

La transmisión de la enfermedad también puede llevarse a cabo por vía placentaria, ya que ha sido detectada la presencia de gametocitos o gamontes de *H. canis* en cachorros de 16 a 60 días de nacidos, los cuales estaban libres de garrapatas [28]. Se ha intentado transmitir la enfermedad por medio de la inoculación de sangre y tejido de perros contaminados usando la vía subcutánea e intraperitoneal, sin llegar a conseguir lo deseado [9].

El ciclo evolutivo de éste protozoario se caracteriza por presentar una fase sexual y una asexual. La fase sexual ocurre en el vector, cuando este ingiere sangre que contiene gametocitos o gamontes de *H. canis*. Los gametocitos llegan al intestino de la garrapata, donde se asocian en pares y se unen para formar el cigoto u oocineto. El oocineto penetra la pared del intestino e ingresa al hemocele de la garrapata, para transformarse en oociste [8,9,11,12]. Craig [9], cita que estos oocistos contienen de 12 a 24 esporozoitos.

Una vez, que el perro ingiere la garrapata infectada, los oocistos esporulados llegan al intestino del perro, donde los esporozoitos son liberados, para penetrar la pared intestinal y así ser transportados por el torrente sanguíneo y linfático a las células mononucleares fagocíticas y endoteliales del bazo, hígado, ganglios linfáticos, músculo, pulmón y médula ósea,

para dar lugar a la fase de esquizogonia o fase asexual [2,8,9,10].

Se han descrito dos tipos de esquizontes, unos que contienen macromerozoitos o macromerontes y otros que contienen micromerozoitos o micromerontes. Los macromerozoitos se transforman de nuevo en esquizontes y se observan a nivel de los tejidos, mientras que los micromerozoitos se introducen en el citoplasma de los neutrófilos y monocitos circulantes en sangre, para transformarse en gametocitos o gamontes [8,9].

Dentro de la sintomatología clínica descrita para esta enfermedad se citan temperaturas que oscilan entre 39.8°C y 40.2°C; anemia, depresión, anorexia o apetito caprichoso, pérdida de peso, vómito, emaciación, diarrea, conjuntivitis, secreciones oculonasales purulentas, estertores pulmonares, linfadenopatías leves generalizadas, esplenomegalia, hepatomegalia, convulsiones, movimientos circulares, tetraplegia, dificultad para caminar, paresia de los miembros posteriores con hiperreflexia del reflejo patelar y reflejos normales, así con también, dolor muscular a nivel lumbar. Entre la sintomatología clínica menos frecuente se presenta, epistaxis, faringitis, glositis, furunculosis intermandibular, pústulas papulosas sub-linguales y gingivales, erupciones pustulares en la región ventral del abdomen y a nivel inguinal [2,3,6,8,9,11,12,13,16,18,20,21,22,32,33,37].

Generalmente el curso de la enfermedad es largo, con períodos de aparente mejoría alternando con episodios de fiebre y dolor muscular. En casos leves los animales muestran mejoría franca, lo que no ocurre en los casos graves. El apetito puede mantenerse normal, inclusive hasta el día de la muerte. Por otro lado, se han observado animales que no manifiestan ningún tipo de sintomatología clínica [2,8,9,12].

A nivel del laboratorio se observa una anemia leve de tipo regenerativa, leucocitosis marcada (20.000 - 200.000 G.B./mm³), con neutrofilia, desviación a la izquierda y en ocasiones eosinofilia y monocitosis [2,8,9,12,13,16,21,32], aunque otros autores [11], reportan valores normales de leucocitos. Se puede presentar hipoglicemia, hipoalbuminemia, hiperfosfate-mia, hiperglobulinemia con gammopatía monoclonal, un aumento de la fosfatasa alcalina y en los casos complicados se puede detectarse un aumento del nitrógeno ureico sanguíneo (NUS o BUN) [2,3,4,9,13,20].

El diagnóstico definitivo está dado por la observación de los gametocitos o gamontes de *H. canis* en el citoplasma de los neutrófilos y monocitos circulantes en sangre, utilizando para ello frotis sanguíneos de capa blanca teñidos con Wright, Giemsa o un colorante similar. Los gametocitos presentan una forma capsular o elipsoidal, que miden aproximadamente de 8 a 12 micrones de largo por 3 a 6 micrones de diámetro, con un núcleo central. Las parasitemias pueden oscilar desde un 1% hasta un 90% [3,8,10,11,12,16,17,20,21,22,25,28,33,37]. En el estudio anatómo-patológico se han observado los esquizontes de *H. canis* formando granulomas a nivel de músculo, bazo, hígado, nódulos linfáticos y médula ósea [2,3,6,8,9,13,14,21,22].

Se han realizado otras técnicas para detallar mejor las características morfológicas del *Hepatozoon canis*, tales como contraste de fase [10,25] y microscopía electrónica [10, 25,26]. Por medio del contraste de fase el gametocito o gamonte se observó como rodeado por una sustancia de contraste, mientras que por medio de un microscopio de transmisión, se evidenció la presencia de una membrana vacuolar parasitófora con una película formada por dos membranas y una estructura fibrilar fina rodeando a la vacuola. Los leucocitos infectados contenían en su citoplasma gran cantidad de vesículas, escasos gránulos, mitocondrias y poca superficie rugosa en el retículo endoplasmático [26]. Droleskey y col. [10], usando microscopio de transmisión estudiaron diferentes estadios de *H. canis* en músculo esquelético y en cultivos *in vitro*.

Shkap y col [35], reportan la presencia de anticuerpos circulantes de *H. canis* usando la técnica de Inmunofluorescencia Indirecta (I.F.I.).

Se han utilizado varios medicamentos como tratamiento para *H. canis* entre ellos oxitetraciclina [9,11,12,30], dipropionato de imidocarb y doxiciclina [3], aceturato de diminaceno [8,9,12,22] y trimetoprim sulfametoxazol. [32] El propósito de este trabajo es describir la sintomatología clínica y los hallazgos del laboratorio, observados en 17 casos de hepatozoonosis, que se han estudiado en la ciudad de Maracaibo - Venezuela desde 1992, cuando fueron observados por primera vez los gametocitos o gamontes de *H. canis* en los neutrófilos circulantes de un cachorro.

MATERIALES Y MÉTODOS

Estudio Clínico

Desde Agosto de 1992 hasta Julio de 1995, 17 caninos de la ciudad de Maracaibo - Venezuela fueron estudiados clínicamente y con ayuda del laboratorio. Cinco (5) eran procedentes de clínicas privadas de la localidad y 12 de la consulta externa de la Policlínica Veterinaria de la Universidad del Zulia. De los 17 casos clínicos estudiados, doce animales fueron machos y cinco fueron hembras; diez animales eran mestizos o criollos, dos de la raza Doberman, uno mestizo Doberman, un Bóxer, un Poodle, un Mastín Napolitano y un Pastor Alemán. La edad de los animales estuvo comprendida entre los 3 meses y los 8 años.

De cada animal se obtuvo información mediante el llenado de la historia clínica, el examen físico y la recolección de sangre para su envío al laboratorio.

Exámenes de Laboratorio

A todos los animales se les tomó una muestra de sangre con el anticoagulante etilendiaminotetracetato de sodio (EDTA), para determinar el volumen globular, por el método del microhematocrito, el conteo de leucocitos, por el método

del hemocitómetro y para preparar los frotis finos sanguíneos, usados para determinar la parasitemia y la fórmula leucocitaria, tal como lo describe Schalm [34]. Se realizaron frotis de capa blanca, para detectar *H. canis* y otros agentes hemotrópicos que pudieran estar presentes en sangre. Estos frotis al igual que los frotis finos fueron teñidos con el colorante rápido Dip Quick Stain (Jorgensen laboratories Inc-Co).

De 7 animales se obtuvo una muestra de sangre sin anticoagulante, para la determinación de los niveles de glucosa, nitrógeno ureico sanguíneo (NUS o BUN), creatinina, fosfatasa alcalina (FA o ALP), proteínas totales, albúmina y alanino amino transferasa (ALT o SGPT), mediante métodos comerciales (Ciba-Corning, Sigma Diagnostic) usando un analizador de química sanguínea Shimadzu - 750.

De un cachorro no tratado, que murió en forma natural, se obtuvo una muestra de médula ósea y se realizaron frotis por aposición.

Tratamiento

Sólo 15 animales fueron tratados. Un animal fue tratado con oxitetraciclina a la dosis de 22 mg/kg de peso, durante 15 días; en ocho se usó el mismo antibiótico a igual dosis, pero adicionando dos dosis de dipropionato de imidocarb (6 mg/kg de peso), una en el día 1 y otra el día 14 del tratamiento. Dos (2) animales fueron tratados con oxitetraciclina más una dosis de aceturato de diminaceno (3.5 mg/kg) por vía intramuscular, a otros dos se le administró ampicilina (10 mg/kg/7 días), a dos se le administró oxitetraciclina más ivermectina y dipropionato de imidocarb con ampicilina a las dosis anteriores y los dos restantes fueron tratados con trimetoprim sulfametoxazol a la dosis de 30 mg/kg de peso, cada 12 horas por 7 días.

Como tratamiento sintomático en algunos casos se aplicó a dosis terapéutica: Fenilbutazona, Fenobarbital, vitaminas del complejo B, antidiarreico, antipiréticos y fluido terapia.

Los resultados fueron analizados utilizando el programa estadístico S.A.S. (Statistical Analysis System 1991) [36], mediante un estudio de media, desviación estándar y distribución de frecuencias.

RESULTADOS

La enfermedad se presentó en diferentes razas; fue más frecuente en machos y en animales mayores de 2 años de edad. Los síntomas clínicos presentes y su frecuencia pueden ser visualizados en la TABLA I. Al momento del examen físico la temperatura osciló entre los 36.9°C y los 41°C, con una media de 38.8°C, donde 3 (17.6%) de ellos presentaron fiebre, 12 (70.5%) temperatura normal y 2 (11.8%) hipotermia. Durante el examen físico sólo 4 (23.5%) animales presentaron garrapatas (*Rhipicephalus sanguineus*) y uno (5.9%) presentó pulgas (*Ctenocephalides canis*).

El estudio hematológico reveló, que 9 (52.9%) de los animales manifestaron una anemia leve, 7 (41.2%) una anemia moderada, 1 (5.9%) una anemia severa, 6 (35.3%) leuconormia, 6 (35.3%) leucocitosis y 5 (29.4%) leucopenia. Al analizar el hemograma se observó que 10 (58.8%) de los animales presentaron neutrofilia, 6 (35.3%) neutronormia, 1 (5.9%) neutropenia, 7 (41.2%) desviación a la izquierda leve, 2 (11.8%) monocitosis y 1 (5.9%) linfocitosis.

Todos los animales (100%) presentaron *Hepatozoon canis*, con una parasitemia que oscilaba entre 1% y 35%, con una media de 3.64%. De ellos 6 (35.3%) solamente con *Hepatozoon canis*, FIG. 1., 7 (41.22%) acompañado con *Ehrlichia platys*, FIG. 2., 2 (11.8%) acompañado con microfilarias, 1 (5.9%) acompañado con *Ehrlichia canis* y 1 (5.9%) acompañado con *Ehrlichia ewingii*, FIG. 3.

Se le realizó la química sanguínea a 7 animales, uno (1) (14.2%) manifestó hiperglicemia leve, mientras que 6 (85.7%) mantuvieron la glucosa dentro de los límites normales. Los niveles del nitrógeno ureico sanguíneo (NUS o BUN) se encontraron disminuidos en 4 de los casos (57.1%), mientras que 3 animales (42.8%) fueron normales. Así mismo, 4 (57.1%) presentaron hiperproteinemia, 1 (14.2%) hipoproteinemia y 2 (28.5%) mantuvieron los niveles de proteínas totales dentro de los límites normales; del total 6 (85.7%) mostraron hipoalbuminemia y 1 (14.2%) valores normales. La fosfatasa alcalina en 3 (42.8%) animales se presentó aumentada y en 4 (57.1%) la mantuvo dentro de los límites normales. Todos los animales

TABLA I

FRECUENCIA DE SÍNTOMAS CLÍNICOS EN 17 PERROS INFECTADOS CON *Hepatozoon canis*, EN EL PERÍODO 1992-1995 EN LA CIUDAD DE MARACAIBO - VENEZUELA

Síntomas	Nº Anim. Afectados	(%)
Pérdida de peso	13	76.5
Depresión	10	58.8
Apetito caprichoso	7	41.2
Lesiones pustulosas en piel	6	35.3
Deshidratación	5	29.4
Incoordinación de los miembros posteriores	5	29.4
Caída del tren posterior	4	23.5
Linfoadenopatias	3	17.6
Hiperestesia	3	17.6
Secreciones oculares	3	17.6
Secreciones nasales	3	17.6
Diarrea	2	11.8
Convulsiones	2	11.8
Protrusión del tercer párpado	2	11.8
Disnea	2	11.8
Distensión abdominal	2	11.8
Otros síntomas*	1	5.9

* Vómito; tos; gingivitis; falta de tono muscular en miembros posteriores; arqueamiento del dorso; estertores secos; polidipsia; dolor abdominal.

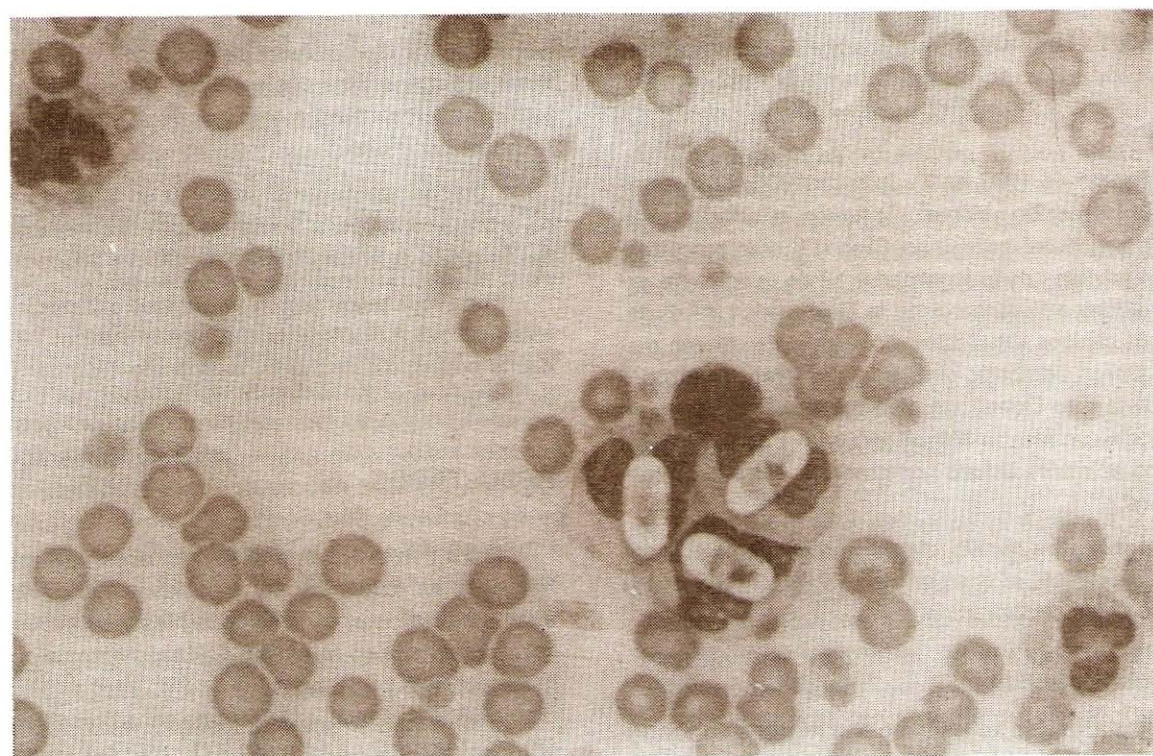


FIGURA 1. TRES NEUTRÓFILOS CONTENIENDO GAMETOCITOS DE *Hepatozoon canis* EN UN FROTIS DE SANGRE PERIFÉRICA DE UN PERRO, ACOMPAÑADOS DE UN LINFOCITO, UN MONOCITO Y UN EOSINÓFILO.

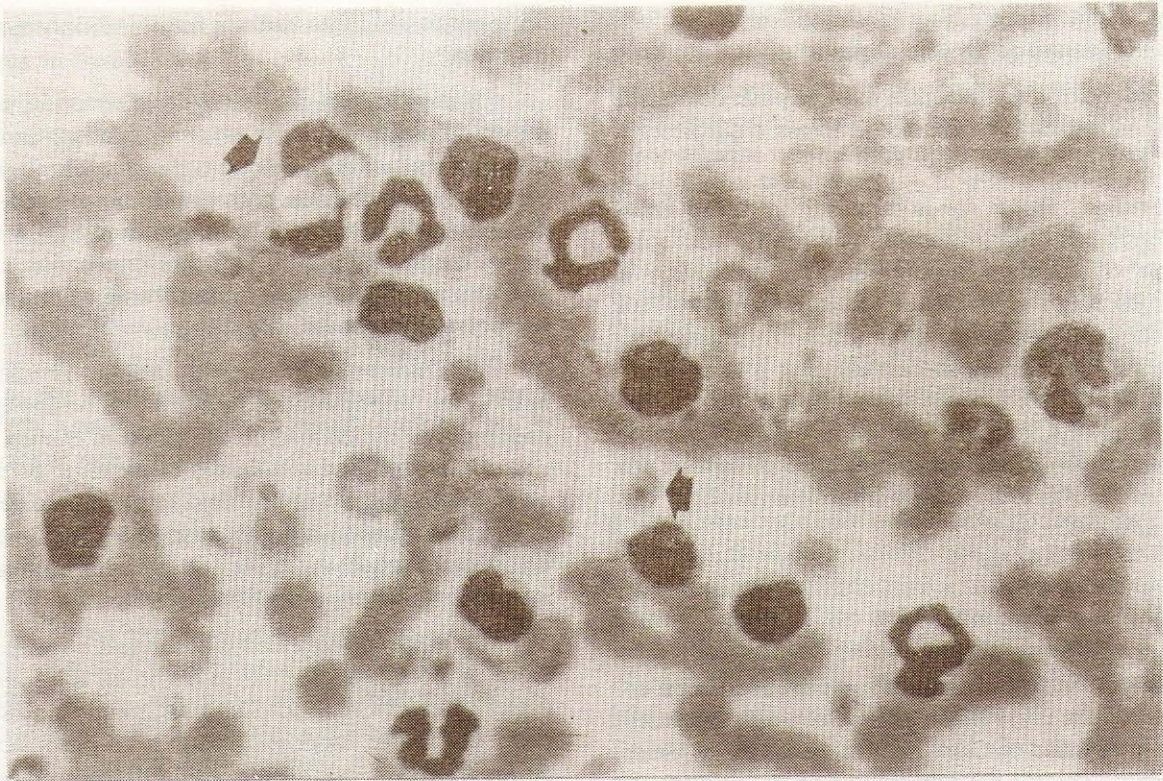


FIGURA 2. FROTIS DE SANGRE PERIFÉRICA DE UN PERRO DONDE SE INDICA CON FLECHA UN NEUTRÓFILO PARASITADO CON *Hepatozoon canis* Y UNA PLAQUETA CON *Ehrlichia platys*.

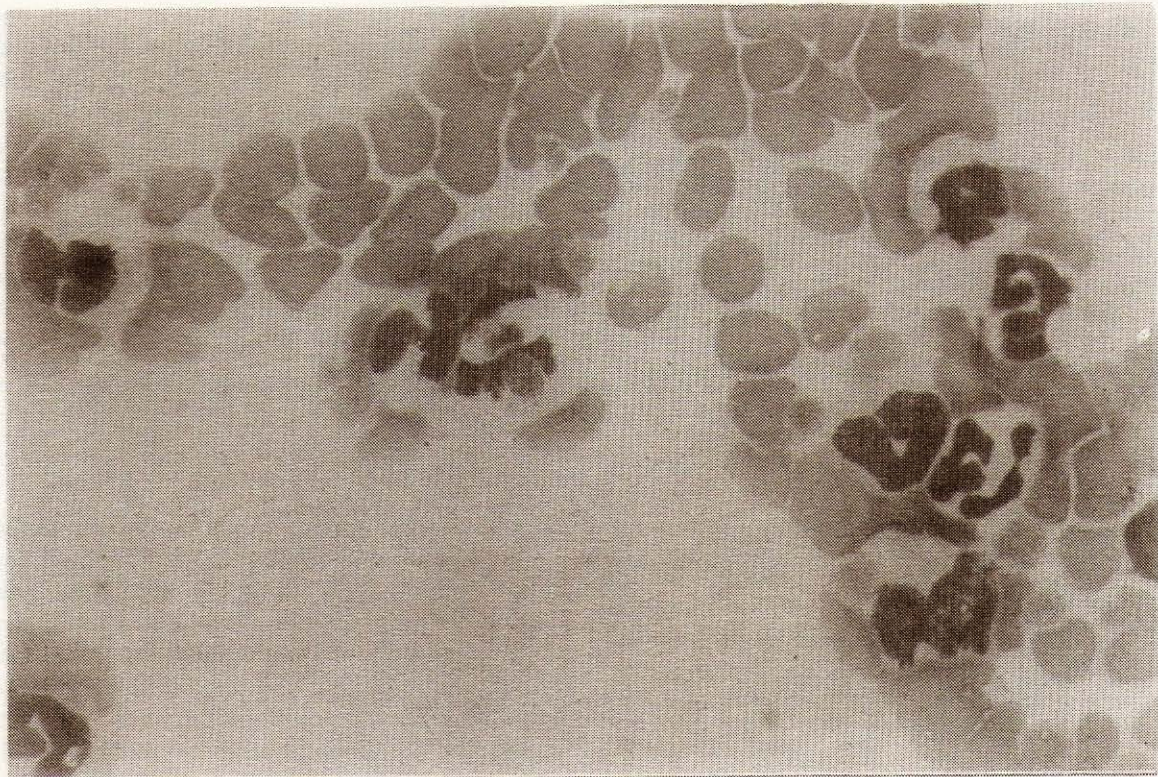


FIGURA 3. INFECCIÓN MIXTA CON *Hepatozoon canis* Y *Ehrlichia ewingii* EN UN NEUTRÓFILO EN SANGRE PERIFÉRICA.

(100%) mantuvieron la creatinina y la alanino amino transferasa (ALT o SGPT) dentro de los valores normales.

En la observación de la médula ósea se pudo detectar la presencia de neutrófilos conteniendo gamontes o gametocitos de *H. canis*, FIG. 4.

Los animales tratados con la combinación de Oxitetraciclina más Dipropionato de Imidocarb, mejoraron en cuanto a sintomatología clínica, pero la parasitemia se mantuvo y al poco tiempo los animales murieron. Los que fueron tratados con oxitetraciclina más aceturato de diminaceno, oxitetraciclina más ivermectina, solamente con oxitetraciclina y la combinación de dipropionato de imidocarb más ampicilina, no manifestaron ninguna mejoría, mientras que los que fueron tratados con trimetoprim sulfametoxazol más ampicilina mostraron una respuesta más favorable, en cuanto a la sintomatología y al grado de parasitemia.

DISCUSIÓN

La hepatozoonosis canina es una enfermedad poco conocida en Venezuela. En 1992, en el Laboratorio de Diagnóstico Clínico de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad del Zulia se detectó por primera vez un caso, mediante la observación de gametocitos o gamontes en frotis de capa blanca y frotis fino sanguíneo, donde la parasitemia alcanzó

35%; desde esa fecha hasta la actual (1995) hemos recopilado 17 casos.

Recientemente se ha tenido información sobre la presencia de esta enfermedad en otra ciudad venezolana (Valencia). Esto es indicativo de que la hepatozoonosis se encuentra en otras partes del país, pero al igual que ocurrió con la *Ehrlichia canis* y la *E. platys* en los años ochenta [1], la enfermedad no era reconocida por los Médicos Veterinarios. Una vez que se alertó de su presencia se comenzaron a presentar casos en diferentes ciudades del país.

Esta enfermedad afecta a caninos de cualquier edad, sexo y raza, manifestándose mayormente en animales adultos, posiblemente debido a su comportamiento crónico. En muchos casos la enfermedad la adquiere el cachorro, pero no es sino en el estado adulto cuando existe debilitamiento de la respuesta inmune y aparece la enfermedad [2,3,9,11]. Se han detectado anticuerpos humorales por serología, los cuales no son protectores para futuros retos [9].

La sintomatología clínica observada en los pacientes estudiados, tienen relación con lo citado en la literatura [2,3,6,8,9,11,12,13,16,18,20,21,22,32,33,37], siendo los síntomas más comunes: apetito caprichoso, pérdida de peso, incoordinación de los miembros posteriores, caída del tren posterior y dolor muscular. Otros autores, citan como signos más comunes anorexia, hiperestesia muscular, dolor lumbar y letargia [3], ha-

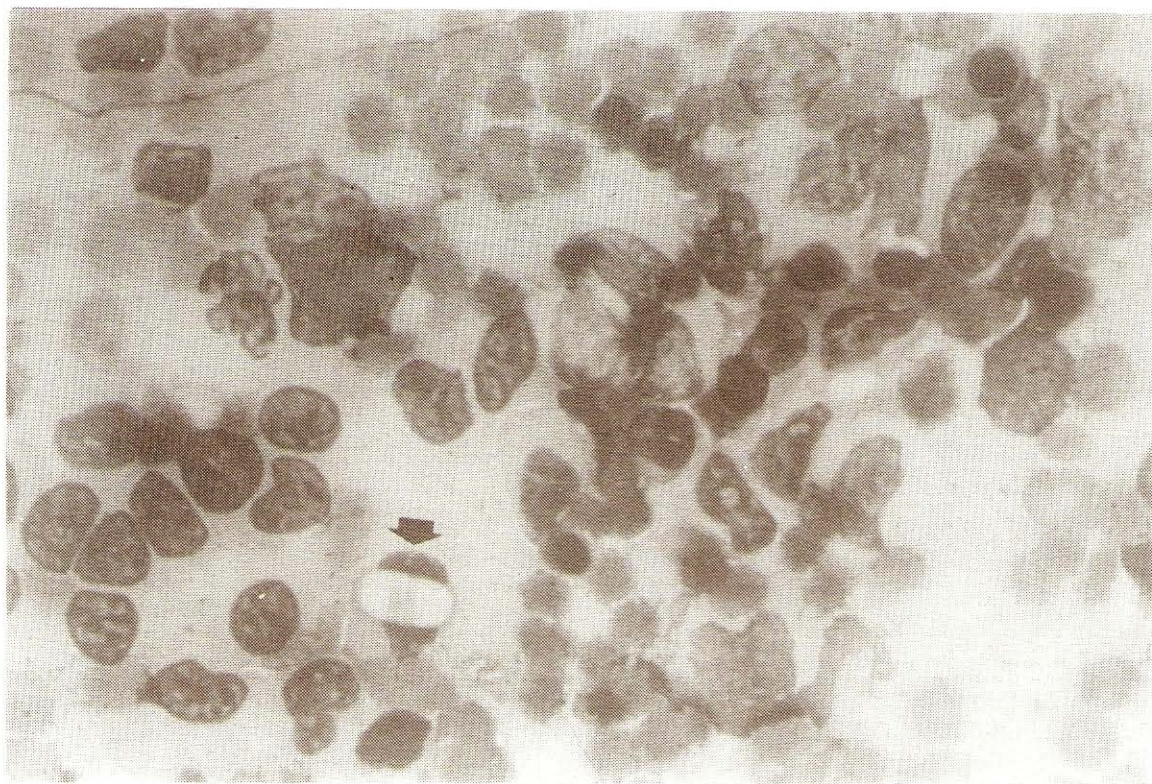


FIGURA 4. FROTIS DE ASPIRADO DE MÉDULA ÓSEA DONDE SE SEÑALA UN NEUTRÓFILO CON GAMETOCITO DE *Hepatozoon canis*.

ciendo ellos una diferenciación entre la hepatozoonosis oriental y la descrita en Texas [3,8,9].

En la mayoría de los reportes se cita que los casos de hepatozoonosis cursan con fiebre [8,9,11,12,13,16,20,21,30,32,33,37], sin embargo otros [3,12] reportan temperaturas normales, incluyendo casos donde la parasitemia llegaba al 90%. En el presente estudio se observaron sólo 3 pacientes con fiebre, de los cuales dos presentaban sólo *Hepatozoon* y uno acompañado de *E. platys*. Doce casos tenían temperatura normal, de los cuales tres sólo presentaban *Hepatozoon*, 6 se acompañaban con *E. platys*, uno (1) con *E. canis* y 2 con microfilarias. Los dos animales restantes presentaron hipotermia (36.9 y 37.7°C), estando el primero infectado también con *E. ewingii* y muriendo rápidamente.

La sintomatología nerviosa manifestada por estos animales, tal como convulsiones, caída del tren posterior e incoordinación, se debe a la capacidad que tiene éste agente de atravesar la barrera hematoencefálica, ya que se ha observado la presencia de los gamontes en el citoplasma de neutrófilos circulantes en el líquido cefalorraquídeo [32]. Esta enfermedad se puede confundir con un Distemper canino o una Ehrlichiosis, pero la diferencia está en que la mayoría de los casos de hepatozoonosis, se mantiene el apetito normal o se hace caprichoso, mientras que en los animales con las citadas enfermedades, existe anorexia parcial o total.

Siete (7) de los pacientes en el estudio presentaron alteración neuromuscular. Según la información recopilada [8,9,13], estos cambios pueden ser causados por inflamación muscular debido a la presencia de los esquizontes o a reacción periostial severa. Craig y col. [8,9] observaron en los estudios radiográficos proliferación periostial a nivel de las vértebras cervicales, torácicas y lumbares, así como también en la pelvis, radio, húmero, fémur, ulna, fíbula o peroné y tibia. Esta lesión fue más común en perros jóvenes que en adultos, es decir que no todos los perros infectados desarrollan este tipo de lesión. En nuestro estudio, sólo tres pacientes fueron examinados radiológicamente y se encontraron normales.

Se han descrito casos de infecciones mixtas con *Ehrlichia platys*, *Ehrlichia canis*, *Babesia canis*, *Babesia gibsoni*, *Toxoplasma gondii*, *Leishmania*, *Distemper canino* y *Dirofilaria immitis* [5,8,11,12,14,17,20,22,31,37].

Al igual que Penzhorn y col. [31], Beaufils y col. [5] en Sur Africa, nosotros logramos observar la presencia *H. canis* y *E. ewingii* en el citoplasma de los neutrófilos segmentados. Las infecciones mixtas con *E. platys*, *E. canis*, *E. ewingii* y microfilarias, complicaron la sintomatología clínica de los animales, tal como lo describieron Kontos y col. [20]. Los porcentajes de parasitemias coinciden con los citados por la mayoría de los autores [8,11,14,16,20,21,22,28,33], no así con lo citado por Baneth y col. [3] donde alcanzaron a 70 y 90% de los neutrófilos. Esto quizás se debió a la amplia dispersión de los esquizontes de *H. canis* a nivel de los tejidos de sus pacientes.

El agente transmisor, en la mayoría de los pacientes fue el *Rhipicephalus sanguineus*, sin embargo, hay que hacer notar que uno de los animales presentó abundantes pulgas (*Ctenocephalides canis*), por lo que podemos tener otro agente transmisor responsable de esta enfermedad, tal como lo describen otros autores [8,24,27,29].

En el estudio hematológico notamos que no todos los animales presentaron leucocitosis y neutrofilia, tal como lo cita la literatura [2,8,9,13,16,21]. Nuestras diferencias pudieran ser debidas a que las muestras no tenían altas parasitemias como en otros casos reportados [3,8]. Ella coincide con la información suministrada por Elias y col. [11], donde tampoco en todos los casos consiguieron leucocitosis y neutrofilia. En algunos de los casos de leucopenia, la infección por *H. canis* estaba asociada a *E. platys*, en otras no, sin embargo no se usó el método serológico para descartar la presencia de *E. canis*, que es causal de leucopenia, sino que fue usado el método hematológico que sólo puede demostrar altas parasitemias de este agente, las cuales son raras. Esto pudiera ser razón del bajo conteo leucocitario, ya que esta demostrado la presencia frecuente de *Ehrlichia canis* y *E. platys* en nuestra región [1]. Coincidimos con Makimura y col. [22] en la observación de los gametocitos o gamontes de *H. canis* en médula ósea.

Se reporta que la glucosa se encuentra disminuida en la mayoría de los casos de hepatozoonosis [2,9]. Gaunt y col. [13], citan a Goodenow, quien afirma que la pseudohipoglucemia se presenta en muestras con abundante leucocitos, debido al aumento del catabolismo de la glucosa. En nuestro estudio, las glucosas se encontraron dentro de los valores normales, como también lo fueron la mitad de los conteos leucocitarios; también pudo influir el que el procesamiento de las muestras fue de inmediato, de manera de evitar la glicosilación citada por el mismo autor. El paciente con hiperglicemia leve (132 mg/dl) se explica ya que se encontraba febril (41°C), deshidratado con proteínas totales de 9.6 g/dl, albúmina 3.74 g/dl y fibrinógeno 1800 mg/dl.

Según Baneth y col. [3], el incremento de la fosfatasa alcalina, descrito también por Barton y col. [4], probablemente indica lesiones hepáticas o aumento de la actividad osteoblástica. Tres de nuestros pacientes mostraron fosfatasas alcalinas que fluctuaban entre 202 y 392.5 U/L, dos de ellas coinciden con valores de NUS muy bajos (2.61 y 5.62 mg/dl) y la otra con NUS normal (16.8 mg/dl), lo que nos hace pensar en posibles lesiones hepáticas crónicas.

En estudios anteriores [20] se han observado altas concentraciones de proteínas totales, lo cual coincide con nuestros hallazgos en el 57% de los pacientes, donde los valores se mantuvieron entre 8.4 y 10.2 g/dl. Aunque en nuestro estudio no se realizó electroforesis, la determinación de albúminas nos permitió demostrar hipoalbuminemia en el 85.7% de los pacientes con valores que fluctuaron entre 1.45 y 2.17 g/dl e hiperglobulinemia en el 85.7% de los casos, con concentraciones de 5.35 a 8.27 g/dl, tal como lo describe la literatura [3,4,9].

Aunque se aplicaron varios regímenes terapéuticos, no se obtuvieron resultados exitosos. Baneth y col. [3], reportan el tratamiento exitoso en un caso y otro no exitoso, cuando aplicaron Dipropionato de Imidocarb a razón de 5 mg/kg de peso, vía intramuscular y repitiendo de nuevo a los 14 días, acompañado de Doxiciclina a la dosis de 10 mg/kg de peso, vía oral, cada 24 horas por 14 días. Otros autores [8,9,12,22], reportan haber obtenido buenos resultados con el uso de Aceturato de Diminaceno a una dosis de 2 mg/kg de peso, vía intramuscular, diariamente por 3 días. Otros han utilizado Trimetoprim Sulfadiazina a razón de 30 mg/kg de peso por vía intravenosa, por 5 días [32].

Al igual que a otros autores, el tratamiento con Aceturato de Diminaceno más Oxitetraciclina no brindó buenos resultados [3,8,9]; los animales mejoraron sintomáticamente por un tiempo y luego sufrieron una recaída y murieron. Lo mismo ocurrió cuando se aplicó la combinación de oxitetraciclina más dipropionato de imidocarb [3,11,12]. Sin embargo, nosotros al igual que Prathaban y col. [32], observamos buena respuesta al utilizar trimetoprim sulfametoxazol. En este caso los animales mejoraron sintomáticamente y aún se mantienen con vida. Por esta razón se hace necesario investigar otros agentes terapéuticos antiprotozoarios que existen en el mercado, para evaluar su efectividad contra el *H. canis*.

Como tratamiento sintomático se recomienda el uso de antiinflamatorios no esteroideos y aspirina para eliminar el dolor, la fiebre y la inflamación [2,8,9].

AGRADECIMIENTO

Las autoras expresan su agradecimiento a los Profesores de las Clínicas de Pequeños Animales, Internos y Residentes de la Consulta Externa de la Policlínica Veterinaria de L.U.Z., por remitirnos sus casos Clínicos. Así como también, a los Internos y Residentes del Laboratorio de Diagnóstico de la Policlínica Veterinaria de L.U.Z. por su colaboración en el procesamiento de las muestras.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Arraga de A., C.M. Ehrlichiosis Canina en Maracaibo, Estado Zulia - Venezuela: reporte de 55 casos. Revista Científica. Universidad del Zulia - Venezuela. 2 (2):41-52. 1992.
- [2] Baker, J.L.; Craig, T.M.; Barton, C.L.; Scott, D.W. *Hepatozoon canis* in a dog with oral pyogranulomas and neurologic disease. Cornell Veterinary. 78:179-183. 1988.
- [3] Baneth, G.; Harmelin, A.; Presentey, B. *Hepatozoon canis* infection in two dogs. Journal of the American Veterinary Medical Association. 206 (12):1891-194. 1995.
- [4] Barton, C.L.; Russo, E.A.; Craig, T.M. Canine Hepatozoonosis: a retrospective study of 15 naturally occurring cases. Journal of the American Animal Hospital Association. 21:125-134. 1985.
- [5] Beaufilus, J.P.; Legroux, J.P. Presence simultanée d'Ehrlichia s.p. et d'*Hepatozoon canis* dans des granulocytes de chien: a propos de 2 cas. Pratique Médicale and Chirurgicale de l'Animal de compagnie. 27 (1):81-86. 1992.
- [6] Bracho V., G.A. Reporte de un caso de hepatozoonosis en canino. II Jornadas Científicas Veterinarias de la Región Centro Occidental. 1-4. 1984
- [7] Conceicao, F.M.; Abranches, P.; Silva, M.C.; Janz, J.G. Hepatozoonosis in foxes from Portugal. Journal of Wildlife Diseases. 24 (2):344-347. 1988.
- [8] Craig, T.M.; Smallwood, J.E.; Knauer, K.W.; Mcgrath, J.P. *Hepatozoon canis* Infection in dogs: Clinical, Radiographic and Haematologic Findings. Journal of the American Veterinary Medical Association. 173 (8):967-972. 1978.
- [9] Craig, T.M. Hepatozoonosis. En Enfermedades Infecciosas de Perros y Gatos. Editado por Greene. Primera edición en español Interamericana Macgraw-hill, México. 816-823. 1993.
- [10] Droleskey, R.E.; Mercer, S.H.; Deloach, J.K.; Craig, T.M. Ultrastructure of *Hepatozoon canis* in the dog. Veterinary Parasitology. 50 (1/2):83-99. 1993.
- [11] Elias, E.; Homans, P.A. *Hepatozoon canis* infection in dogs: Clinical and haematological findings; treatment. Journal Small Animal Practic. 29:55-62. 1988.
- [12] Ezeokoli, C.D.; Ogunkoya, A.B.; Abdullahi, R.; Tekdek, L.B.; Sannusi, A.; Ileonobade, A.A. Clinical and Epidemiological studies on canine hepatozoonosis in Zaria Nigeria. Journal Small Animal Practic. 24:455-460. 1983.
- [13] Gaunt, S.; Craig, T.M. Extreme neutrophilic leukocytosis in a dog with hepatozoonosis. Journal of the American Veterinary Medical Association. 182 (4):409-410. 1983.
- [14] Harmelin, A.; Dubey, J.P.; Yarobson, B.; Nyska, A.; Orgad, V. Concurrent *Hepatozoon canis* and *Toxoplasma gondii* infections in a dog. Veterinary Parasitology. 43 (1/2):131-136. 1992.
- [15] Hoskins, J.D. Canine Haemobartonellosis, Canine Hepatozoonosis and Feline Cytauxzoonosis. Veterinary Clinics of North American Small Animal Practice. 21 (1):129-140. 1991.
- [16] Ibrahim, N.D.; Rahamathulla, P.M.; Nyoku, C.D. Neutrophil myeloperoxidase deficiency associated with canine hepatozoonosis. International Journal for Parasitology. 19 (8):915-918. 1989.

- [17] Jittapalapong, S.; Tipsawake, S. Survey of blood protozoa and blood parasites of pet dogs in Samut-Prakan Province. *Kasetsart Journal Natural Sciences*. 25 (1):75-82. 1991.
- [18] Kalra, J.S.; Gupta, M.P.; Kwatra, M.S. *Hepatozoon canis* infection in a dog: a case report. *Indian journal of Veterinary Medicine*. 9 (2):117-118. 1989.
- [19] Kontos, V.; Koutinas, A. Canine hepatozoonosis: a review article: *Bulletin of the Hellenic Veterinary Medical Society*. 41 (1):44-50. 1990.
- [20] Kontos, V.; Koutinas, A. Canine hepatozoonosis: a review of 11 naturally occurring cases. *Bulletin of the Hellenic Veterinary Medical Society*. 41 (2):73-81. 1990.
- [21] Mandakhalikar, M.V.; Shastri, V.V.; Naladkrar, B.W.; Rajurkar, S.R.; Morengaonkar, S.D. *Hepatozoon canis* infection in a pup - a case report. *Journal of Veterinary Parasitology*. 6 (1):57-58. 1992.
- [22] Makimura, S.; Kinjo, H.; Mantouelo, J.A.; Ogawa, H.; Yamasaki, K.; Matsuyama, K.; Tateyama, S.; Usui, H. Three cases of *Hepatozoon canis* Infection in dogs in Miyazaki Prefecture. *Journal of the Japan Veterinary medical Association*. 44 (9):928-932. 1991.
- [23] Mercer, S.H.; Jones, L.P.; Rappole, J.H.; Twedt, D.; Laack, L.L.; Craig, T.M. *Hepatozoon* s.p. in wild carnivores in Texas. *Journal of Wildlife Disease*. 24 (3): 574-576. 1988.
- [24] Murata, T.; Shiramizu, K.; Hara, Y.; Inoue, M.; Shimoda, K.; Nakama, S. First case of *Hepatozoon canis* infection of a dog in Japan. *Journal of Veterinary Medical Science*. 53 (6):1097-1099. 1991.
- [25] Murata, T.; Inoue, M.; Kanoe, M.; Horio, M.; Shimadu, M.; Yokoyama, M.; Taura, Y.; Nakama, S. Fine structure of gamont of *Hepatozoon canis*. *Japanese Journal of Tropical and Hygiene*. 21 (1/2):107-110. 1993.
- [26] Murata, T.; Inoue, M.; Kanoe, M.; Kono, Y.; Ishida, M.; Horio, M.; Shimadu, M.; Yokoyama, M.; Taura, Y.; Nakama S. Ultrastructure and cytochemical characteristics of leukocyte infected with *Hepatozoon canis*. *Journal of Veterinary Medical Science*. 55 (6):1043-1045. 1993.
- [27] Murata, T.; Aminoto, A.; Shiramizu, K.; Hara, Y.; Inoue, M.; Kanoe, M.; Uzuka, Y.; Taura, Y.; Nakama, S. Survey of canine *Hepatozoon canis* infection in the Western part of Yamaguchi prefecture. *Journal of the Japan Veterinary Medical Association*. 46 (5):395-397. 1993.
- [28] Murata, T.; Inoue, M.; Tateyama, S.; Taura, Y.; Nakama, S. Vertical Transmission of *Hepatozoon canis* in dogs. *Journal of Veterinary Medical Science*. 55 (5):867-868. 1993.
- [29] Murata, T.; Shimoda, K.; Inoue, M.; Shiramizu, K.; Kanoe, M.; Taura, Y.; Nakama, S. Seasonal periodical appearance of *Hepatozoon canis* gamont in the peripheral blood. *Journal of Veterinary Medical Science*. 55 (5):867-868. 1993.
- [30] Ogunkoya, A.B.; Adejanju, J.B.; Aliu, Y.O. Experiences with the use of Imizol in treating canine blood parasites in Nigeria. *Journal Small Animal Practic*. 22:775-777. 1981.
- [31] Penzhorn, B.L.; Lange, A.L. *Hepatozoon* and *Ehrlichia* in the same canine neutrophil. *Journal of the South African Veterinary Association*. 61 (3):95. 1990.
- [32] Prathaban, S.; Jayathangaraj, M.G.; Rasheed, A.M.A.; Dhanapalan, P.; Gnanaprakasam, V. Canine Cerebral *Hepatozoonosis* - a case report. *Indian Veterinary Journal*. 69 (1) 67-68. 1992.
- [33] Rosati, S. Segnalazione di *Hepatozoon canis* nella provincia di Imperia, Italy. *Annali della Facolta di Medicina Veterinaria di Torino*. 31:156-162. 1986.
- [34] Schalms, O.W.; Jain, N.C. *Veterinary Hematology*. Fourt edition. Lea & Febiger. Philadelphia. 20-86. 1986.
- [35] Shkap, V.; Baneth, G.; Pipano, E. Circulating Antibodies the *Hepatozoon canis* Demonstrated by Immunofluorescence. *Journal Veterinary Diagnostic Investigation*. 6 (1): 121-123. 1994.
- [36] Statistical Analysis System. User's Guide S.A.S Institute Inc., Cary University North of California U.S.A. 1991.
- [37] Van, S. *Hepatozoönose* in "n Kat. *Journal of the south African Veterinary Association*. 50 (3):215-216. 1979.
- [38] Watkins, B.M.; Nowell, F. *Hepatozoon* in grey squirrels (*Sciurus carolinensis*) trapped near reading berkshire. *Journal of zoology*. 224 (1): 101-112. 1991.