

Reporte de caso

PARASITOLOGIA

Hepatozoon Canis en Colombia

Victor H. Arcila, MVZ, Esp*;
Vilma Castellanos, Bact, Esp*;
Sheila Díaz, Est MVZ **;
Mónica Sánchez, Est Bact ***

Resumen. La posición geográfica de Colombia y sus condiciones climáticas convierten al país en un nicho biológico ideal para una gran cantidad de agentes, incluyendo los parasitarios, que han sido reportados en países vecinos. Este caso reporta el hallazgo en caninos del parásito hepatozoon. El *Hepatozoon canis* fue reportado en la India en 1905, y desde entonces ha sido estudiado por infectar a perros en todo el mundo (2). La hepatozoonosis es una enfermedad generada por un parásito apicomplejo protozoario sanguíneo, investigado por primera vez en Texas (USA) en 1978, donde los gametocitos de *Hepatozoon canis* fueron identificados en neutrófilos circulantes de 3 perros. La hepatozoonosis es una enfermedad transmitida por las garrapatas *Rhipicephalus sanguineus*, cuya distribución es endémica en Estados Unidos, en los estados de Texas, Oklahoma y Luisiana; además, Brasil, Europa (región mediterránea) Asia (Japón, Malasia, Filipinas y Medio Oriente) y África (3,4,5,6 y 7) lo cual lo hace de importancia mundial. Induce una baja mortalidad pero alta morbilidad. En Colombia se ha sospechado de su existencia.

Palabras clave: caninos, garrapatas, hemoparásitos.

Abstract. The geographical position of Colombia, their climatic conditions make it ideal as a biological niche to a great quantity of agents including the parasitic ones, which have been reported in neighboring countries. This case reports the discovery in canine of the parasite hepatozoon. The *Hepatozoon canis* was reported first in the India in 1905, and from then on it has been shown to infect dogs in the entire world (Macintire, 1999). The hepatozoonosis is an illness generated by an apicomplejo protozoan blood parasite investigated for the first time in Texas (EE.UU) in 1978 where gametocytes of *Hepatozoon* was identified in neutrophils circulating of 3 dogs. (Craig et al. 1978).

The Hepatozoonosis is an illness transmitted by the *Rhipicephalus sanguineus* ticks whose distribution is endemic in States united in the states of Texas, Oklahoma and Louisiana; also Brazil, Europe (mediterranean region) Asia (Japan, Malaysia, Philippines and Middle East) and África.

Key word: dogs, hemoparasites, tick.

* Centro de Investigaciones en Ciencias Animales. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Cooperativa de Colombia. A.A 2019, Bucaramanga, Colombia; **Pasante de Laboratorio Clínico. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Cooperativa de Colombia; *** Pasante Bacteriología. Universitaria de Santander. varcila23_mvz_bga@correoucc.edu.co

Introducción

Los hemoparásitos son agentes de frecuente presentación en las zonas tropicales, afectan grandes y pequeños animales, y son reconocidos como agentes primarios de enfermedades que alteran la producción y el estado de salud de los mismos. El *Hepatozoon canis* se reportó por primera vez en la India, en 1905, y desde entonces se ha demostrado su capacidad infectiva en perros de todo el mundo (1).

Recientemente se identificó el agente causal de la hepatozoonosis estadounidense como una nueva especie, *Hepatozoon americanum*, separada y distinta del *Hepatozoon canis*, los cuales desarrollan signos diferentes aunque guardan un parentesco filogenético. El reconocimiento de *Hepatozoon canis* y *Hepatozoon americanum* como especies distintas fue soportado por los resultados de Western Immunoblotting en suero canino anti-*Hepatozoon canis* y suero anti-*Hepatozoon americanum* contra gamontes de *Hepatozoon canis*. Las secuencias de análisis de 368 bases cerca al extremo 3' del gen 18S rRNA de cada especie revela una diferencia en los pares de un 13,59% (8, 9).

En Brasil, la hepatozoonosis canina es una enfermedad emergente transmitida por garrapatas y caracterizada por diferentes signos clínicos. Los animales en estudio presentaron baja parasitemia similar a lo reportado para el *Hepatozoon americanum*, pero con signos clínicos similares a los reportados para el *Hepatozoon canis*. El *Hepatozoon* presente en Brasil se asemeja mucho más a las especies encontradas en el hemisferio oriental que a *Hepatozoon americanum* de Norte América, o bien podría ser una nueva especie. Trabajos como este consideran que la hepatozoonosis puede ser endémica en ciudades como Brasilia (7, 9).

Investigadores de diversas partes del mundo han encontrado que los pacientes caninos portadores pueden ser asintomáticos y no presentar signos de la enfermedad, aunque al valorarlos serológicamente presentan títulos de anticuerpos contra el parásito, lo cual los ha llevado a concluir que esta infección puede no ser patógena, a menos que se trate de un factor activante como la inmunosupresión, una infección concurrente por otros agentes, una elevada parasitemia o animales muy jóvenes expuestos al agente (1, 5).

Ciclo de vida, transmisión y patogenia. Presenta un ciclo de vida típico de las coccidias con alternancia

de hospedadores (3). El microorganismo requiere dos huéspedes para completar su ciclo de vida. El huésped definitivo del *Hepatozoon canis* es la *Rhipicephalus sanguineus*, la garrapata parda del perro, aunque se han identificado oocistos de *H. Americanum* en *Amblyomma maculatum*, la garrapata de la costa del golfo.

Las garrapatas ingieren gametocitos cuando se alimentan del huésped intermedio que es el perro. Los gametocitos se fusionan dentro de la garrapata para formar un oocineto, que finalmente se desarrolla en un oocisto que contiene muchos esporocistos. Cada uno de estos esporocistos contiene a su vez 12 a 24 esporozoitos. En consecuencia, una garrapata infectada contiene cientos de microorganismos infectivos. El canino debe ingerir la garrapata para infectarse, ya que los microorganismos no migran a la boca de la garrapata (esto se puede lograr al rascarse y morderse las áreas infestadas). Una vez ingeridos, se liberan los esporozoitos en el interior del tubo digestivo, de donde son llevados por la sangre o linfa a diversos tejidos del cuerpo donde son fagocitados por los macrófagos (5). En las células endoteliales (hígado, bazo, médula, entre otros) tiene lugar la multiplicación asexual o esquizogonia con varias generaciones (3). Una vez dentro de las células, los patógenos forman esquizontes, que sufren división asexual. Dentro de los esquizontes se forman los merozoitos y se liberan para formar más esquizontes o infectar otros leucocitos y convertirse en gametocitos circulantes. El ciclo de vida se completa cuando una garrapata ingiere los gametocitos (5, 10) y se pasa a otro canino o bien es deglutida al momento de rascado con los dientes.

En perros infectados el quiste es la etapa más común del microorganismo. Generalmente se presenta como una estructura ovoide de 250-500 μm de diámetro, con membranas laminares de color azul pálido. Con frecuencia sólo hay un núcleo en el quiste, aunque algunas veces se pueden observar dentro del esquizonte múltiples merozoitos en desarrollo. Estos quistes se encuentran en el músculo cardiaco y esquelético, ganglios linfáticos, bazo y páncreas, sin reacción inflamatoria. Se cree que cuando los quistes maduran se rompen y liberan los merozoitos que son fagocitados por macrófagos, lo que inicia una reacción piogranulomatosa intensa y multifocal. A simple vista, los piogranulomas se pre-

sentan como múltiples focos de color blanco a pardo, de 1 ó 2 mm de diámetro, dispersos en la totalidad de los órganos internos. También se pueden encontrar piogranulomas en la fascia y el periostio del hueso, lo que provoca un incremento de las actividades osteoblástica y osteoclástica, y engrosamiento de las superficies óseas. Las lesiones vasculares incluyen degeneración fibrinoide de los vasos, mineralización y proliferación de la íntima vascular y vasculitis piogranulomatosa que puede ocasionar trombosis. En casos crónicos, se puede observar piogranulomas en riñón, nefritis intersticial linfocítica y glomerulonefritis mesangioproliferativa. La enfermedad crónica puede propiciar el depósito de amiloide en bazo, ganglios linfáticos, intestino delgado y riñones (5, 10).

Investigadores israelitas han logrado generar transmisión experimental del parásito en ninfas de garrapatas *Rhipicephalus* criadas en laboratorio, usando técnicas de alimentación o por inyección percutánea con sangre canina infectada por gamontes (6)

El periodo de incubación es de 2-4 semanas. La prepatencia de 4-6 semanas y la patencia posiblemente de varios años (3).

Signos clínicos. Es una enfermedad que se manifiesta únicamente en perros, aunque se ha demostrado su presencia en otros cánidos como coyotes y zorros. Los signos: fiebre episódica, caquexia, miositis crónica y proliferación perióstica con dificultad para moverse, dolor muscular generalizado y atrofia muscular. Adicionalmente se puede presentar diarrea sanguinolenta y flujo nasooocular (2, 11).

La experiencia con el microorganismo identificado como *Hepatozoon canis* es radicalmente diferente en Estados Unidos, en donde el parásito parece ocasionar un síndrome clínico preciso, caracterizado por miositis crónica, debilidad y muerte.

Se ha reportado un aumento del tamaño de los ganglios linfáticos, fiebre, adelgazamiento, apatía, pelaje sin brillo. Se han encontrado lesiones múltiples necróticas en todos los órganos atacados (hígado, bazo y otros). Los síntomas pueden variar dependiendo de la intensidad (3).

Los signos clínicos más comunes relacionados con la infección con *H. americanun* en Estados Unidos son: fiebre, pérdida de peso crónica, exudado ocular

muco-purulento, dolor e irregularidades de la marcha. Estos signos pueden aumentar o disminuir según el grado de infamación piogranulomatosa, la temperatura rectal puede aumentar hasta 41,1 °C, pero la fiebre no responde a los antibióticos. Signos como la hiperestesia, rigidez anormal del cuello y presencia de fiebre pueden confundirse con meningitis, pero el análisis del líquido cefalo-raquídeo (LCR) no muestra datos de importancia. Muchos de los perros con *H. americanum* se remiten a neurología por sospecha de enfermedad neurológica (5).

Pequeños quistes monozoicos encontrados en el bazo de perros infectados con *Hepatozoon canis* son descritos en caninos infectados natural o experimentalmente. Estas formas del *H. canis* se asemejan a quistes formados por otras especies de *Hepatozoon* que infectan a ranas, lagartos, e iguanas como huéspedes intermediarios. Los quistes de *H. canis* difieren en tamaño y morfología de los grandes quistes del *H. americanum*, la segunda especie de *Hepatozoon* conocida por infectar a perros (12).

Diagnóstico. El diagnóstico puede ser general o específico. El general, en región endémica, se realiza por los signos de anemia leve, leucocitosis con neutrofilia y proliferación periostica extensa. El diagnóstico específico se realiza por identificación de los microorganismos en frotis de sangre (en neutrófilos y monocitos) o en biopsia de músculo (prueba más confiable). En la mayor parte del mundo la enfermedad se diagnostica por la detección de los gametocitos; estos se presentan como cuerpos de inclusión intracelular encapsulado y oblongo en el citoplasma de neutrófilos o monocitos.

Craig y col en 1978 reportaron una marcada leucocitosis con neutrofilia (35.000 – 51.000/mm³). La parasitemia varió de menos del 1% hasta un 60% de los neutrófilos circulantes. Se reportó proliferación perióstica. Otros hallazgos hematológicos comunes incluyen anemia leve no regenerativa y conteo de plaquetas normal o elevado. Las anomalías más comunes en la química sérica incluyen ligero aumento de la fosfatasa alcalina, hipoglucemia e hipoalbuminemia (13).

Un factor de dificultad para el diagnóstico consiste en que los parásitos en los leucocitos aparecen sólo después de disminuir los síntomas clínicos, de

ahí que se identifiquen antes los esquizontes en im-
 prontas de punción de médula ósea o biopsia de bazo
 o hígado (3).

Descripción microscópica. Son estructuras citoplas-
 máticas únicas, grandes, oblongas u ovals que miden
 normalmente 5 x 10 µm, con material granular de co-
 lor púrpura situado excéntricamente (gametocitos),
 ubicándose en neutrófilos y monocitos que se tiñen de
 azul pálido (14).

Diagnóstico por serología. El *Hepatozoon canis* es
 un parásito apicomplejo transmitido por garrapatas
 a los perros e infecta neutrófilos y tejido parenqui-
 matoso. Los gametocitos del parásito *Hepatozoon*
canis presentes en los neutrófilos y monocitos de
 sangre periférica estimulan la producción de anti-
 cuerpos, los cuales pueden ser detectados por prue-
 ba de anticuerpos fluorescentes indirectos (IFA).
 Mediante esta técnica se facilita la investigación de
 la respuesta humoral a este protozoo y la evaluación
 de la posible relación antigénica entre el *Hepatozoon*
 aislado a partir de diferentes especies de huéspedes
 y regiones geográficas (15).

Para estudiar las características antigénicas de
 este parásito, se desarrolló una técnica para la purifi-
 cación de gamontes a partir de neutrófilos de sangre
 periférica. Los glóbulos blancos fueron separados
 por gradientes de densidad y los gamontes fueron
 liberados a partir de los neutrófilos huésped por
 cavitación con nitrógeno. Porciones de gamontes
 purificados fueron separados y examinados por mi-
 croscopía electrónica de barrido y los restantes ga-
 montes purificados fueron usados como una fuente
 de antígenos para caracterizar la respuesta inmune
 humoral por análisis de western blot. Los anticuer-
 pos séricos a partir de perros infectados permitieron
 identificar más de 15 antígenos contra gamontes y
 el patrón antigénico observado con el suero, a partir
 de los perros infectados natural y experimentalmen-
 te, fueron cercanamente similares. Cuatro bandas de
 proteínas inmunodominantes de un peso molecular
 relativo de 107, 88, 63, y 28 kDa fueron reconocidas
 para todos los sueros examinados (16).

Una prueba seroepidemiológica fue realizada
 para investigar la prevalencia de anticuerpos reacti-
 vos a los antígenos de *Hepatozoon canis* en muestras

al azar de zorros rojos (*Vulpes vulpes*) en Israel. De
 84 sueros de zorro evaluados, un 24% fue positivo
 para *H. canis* usando una prueba de ensayo inmu-
 noabsorbente ligada a enzimas (ELISA). La hepa-
 tozoonosis parece ser endémica en las poblaciones
 del zorro rojo salvaje en Israel, y a su vez los zorros
 pueden servir como un reservorio para la infección
 de los perros domésticos y de otras especies caninas
 salvajes (11). Se considera que la hepatozoonosis no
 se transmite al ser humano (10).

Tratamiento. La literatura internacional reco-
 mienda manejo terapéutico basado en fármacos como
 el Diaceturato de Diminaceno, el dipropionato de
 imidocard y el fosfato de primaquina, en dosis reco-
 mendadas para caninos.

El pronóstico es considerado malo pues se obtie-
 ne una respuesta favorable frente al tratamiento pero
 no la curación del paciente y este es considerado un
 portador asintomático del parásito.

Presentación del caso

Durante junio de 2004 se recibió en consulta clínica
 un canino de raza mestizo Pitbull. Los propieta-
 rios desconocían la edad por fecha de nacimiento
 y se estimó en 2-3 años aproximadamente y con 22
 kg de peso vivo. Después de valoración clínica, el
 animal presentaba una dermatitis seca, escamosa no
 pruriginosa, la valoración de los sistemas no indica-
 ban ninguna anormalidad de tipo clínica; por esto
 se solicitó como prueba complementaria un cuadro
 hemático para determinar las variaciones en la línea
 celular blanca. El paciente no presentaba cuadros
 sistémicos de ningún tipo y su estado de ánimo fue
 considerado normal, con estados de atención y aler-
 ta adecuados.

Al realizar el extendido se encontró un cuer-
 po ovalado asociado a algunas células de la línea
 blanca. Se repitió la toma de la muestra conside-
 rando la probabilidad de un error analítico o de
 procedimiento, pues la estructura no era reconocida
 e inicialmente se consideró como un posible con-
 taminante, encontrándose de nuevo la estructura
 únicamente asociada a glóbulos blancos, específi-
 camente neutrófilos y monocitos, como se aprecian en
 las fotografías siguientes.

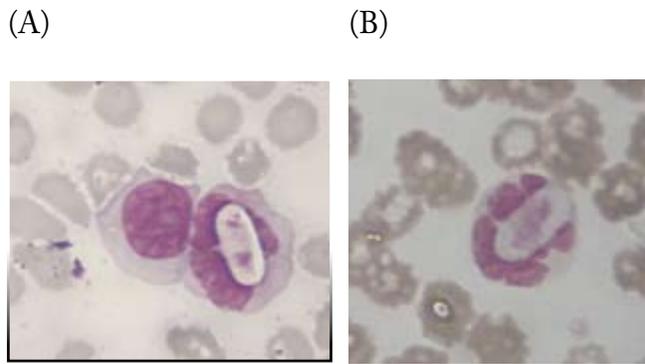


Figura 1. Cuerpo de inclusión en monocito (A). Cuerpo de inclusión en segmentado (B). Fotos 100 X. Centro Médico Quirúrgico Veterinario, Universidad Cooperativa de Colombia.

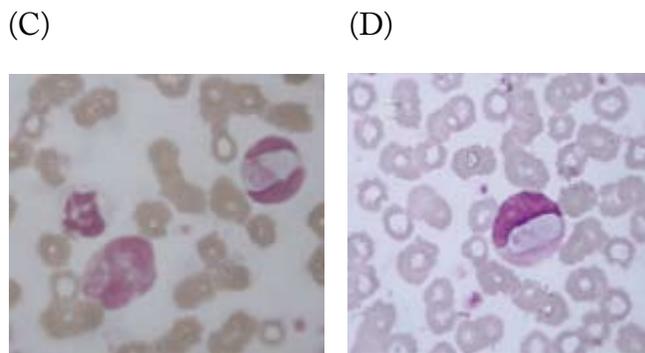


Figura 2. Cuerpo de inclusión en célula de la línea blanca (C). Cuerpo de inclusión en monocito (D). Fotos 100 X. Centro Médico Quirúrgico Veterinario, Universidad Cooperativa de Colombia. (100 X).

Los análisis de laboratorio arrojaron los siguientes resultados (los valores entre paréntesis indican los rangos normales):

Hematocrito:	44%	(40-45%)
Hemoglobina:	14,6 g	(13-16)
Glóbulos blancos:	15.750 x mm ³	(11.000-13.000)
Diferencial:	Neutrófilos 48% (64-67)	
	Linfocitos 31%	(10-30)
	Eosinófilos 16%	(1- 5)
	Monocitos: 5%	(1-5)
	Morfología de glóbulos rojos: Normal	

Al analizar los resultados se encontró una ligera leucocitosis (aumento en el número total de células blancas) con incremento en la línea de eosinófilos (eosinofilia) asociada posiblemente a la dermatitis. Se podría pensar que frente al parásito se logre estimulación inmunológica con incremento para esta línea celular, pero sin alteraciones en otros grupos celulares que hicieran pensar en otro proceso infeccioso. El cuerpo de inclusión fue comparado inicialmente con fotografías de libros, hallándose semejanza morfológica con el *Hepatozoon canis*, el cual no es un agente endémico en nuestro país y los reportes son escasos pues no han sido confirmados. Las fotografías fueron enviadas a expertos en áreas endémicas, que han trabajado sobre aspectos morfológicos del parásito, para determinar la similitud con el posible agente, confirmando el hallazgo.

El canino problema fue sometido a tratamiento basado en antibiótico Cefadroxilo (20 mg/kg), tabletas de 200 mg, con dosis de una tableta cada 24 horas durante 7 días. Igualmente se le administró una dosis de Ganapulus® cuya base genérica es oxitetraciclina (7%) y 4-4 diaceturato de di-aminodibenzamidina (3,5%), en una única dosis de 2 ml por vía intravenosa. Pasados 7 días se re-evaluó al paciente y se realizó un nuevo extendido, encontrándose una sola célula blanca contaminada con el parásito. El propietario no reportó cambios en el comportamiento del paciente y las lesiones en piel habían desaparecido. 7 días después, de nuevo se realizó un extendido o frotis sin encontrar inclusiones en el paciente, y por lo cual no se consideró necesario su retorno a la clínica.

Discusión

Las garrapatas de la especie *Rhipicephalus sanguineus* son comunes en el medio tropical, parasitando caninos de todas las edades. Sin embargo, agentes parasitarios como el *Hepatozoon canis*, que utiliza la garrapata como un huésped intermediario, no había sido reportado como un agente común en Colombia. Ahora pueden determinarse las posibles fuentes de entrada mediante seguimientos epidemiológicos y su comportamiento bajo condiciones tropicales, así como su respuesta adaptativa en un entorno donde abundan tanto los huéspedes intermedios como los definitivos y donde

agentes como la *Ehrlichia* spp. se han tornado en un problema frecuente. Por eso, es importante adelantar estudios que permitan determinar qué otros vectores pueden haber permitido la entrada del parásito al país, qué signos acompañan el proceso de infección en el huésped intermediario (caninos) y, una vez identificado, lograr su clasificación taxonómica.

Conclusiones

Se determinó la presencia del parásito *Hepatozoon* sp. en un paciente canino.

El comportamiento clínico del paciente no corresponde a la descripción de la literatura para este agente patógeno. El animal respondió satisfactoriamente al tratamiento instaurado, según el protocolo recomendado para este parásito.

Referencias

- (1) Macintire DK. Canine Infectious Diseases: From Clinics to Molecular Pathogenesis, URL: 1999, www.ivis.org
- (2) Craig TM, Smallwood JE, Knauer KW, McGrath JP. *Hepatozoon canis* infection in dogs: clinical, radiographic and hematologic finding. J Am Vet Med Assoc. Oct 15, 1978; 173 (8): 967-972.
- (3) Mehlhorn H, Düwel D, y Raether W. Manual de parasitología veterinaria. Editorial Grass-Iatros; p. 56.
- (4) Birchard SJ y Sherding RG. Manual clínico de las pequeñas especies. McGraw Hill Interamericana; 1996, vol 1.
- (5) Macintire DK y Vincent-Johnson N. Hepatozoonosis canina en terapéutica veterinaria de pequeños animales. Kirk Bonagura XIII. Vol 1. Tercera Edición en Español. Editorial McGraw Hill Interamericana. 2001.
- (6) Baneth G, Samish M, Alekseev E, Aroch I, Shkap V. Transmission of *Hepatozoon canis* to dogs by naturally-fed or percutaneously-injected *Rhipicephalus sanguineus* ticks. J Parasitol Jun 2001; 87(3):606-11.
- (7) Paludo GR, Dell'Porto A, De Castro e Trindade AR, McManus C, Friedman H. *Hepatozoon* spp.: report of some cases in dogs in Brasilia, Brazil. Vet Parasitol Dec 30 2003; 118(3-4):243-8.
- (8) Baneth G, Barta JR, Shkap V, Martin DS, Macintire DK, Vincent-Johnson N. Genetic and antigenic evidence supports the separation of *Hepatozoon canis* and *Hepatozoon americanum* at the species level. J Clin Microbiol Mar 2000; 38(3):1298-301.
- (9) Shimon H. White Cell Parasites of dogs and cats. URL: <http://www.uwm.edu.pl/esvp/lectures/LECT-HARRUS.doc>. 2003
- (10) Georgi JR, y Georgi ME. Parasitología en clínica canina. Editorial Interamericana McGraw Hill. 1994: pp. 91-94.
- (11) Fishman Z, Gonen L, Harrus S, Strauss-Ayali D, King R, Baneth G. A serosurvey of *Hepatozoon canis* and *Ehrlichia canis* antibodies in wild red foxes (*Vulpes vulpes*) from Israel. Vet Parasitol Jan 5 2004; 119(1):21-6.
- (12) Baneth G, Shkap V. Monozoic cysts of *Hepatozoon canis*. J Parasitol Apr 2003; 89(2):379-81.
- (13) Bowman D y Pearce E. Hepatozoonosis: en la consulta veterinaria en 5 minutos (canina y felina) por Tilley y Smith. Editorial Intermédica. 1998.
- (14) Reagan WJ, Sanders TG, DeNicola DB. Hematología veterinaria. Atlas de especies domésticas comunes. Editorial Harcourt Brace. 1999; p. 44.
- (15) Baneth G, Shkap V, Samish M and Jaffe CJ. *Hepatozoon canis*: A Method for Isolation of Gametocytes from Parasitized Neutrophils and its Application for Antigenic Profiling by Western Blotting. The Journal of Eukaryotic Microbiology. 1998.
- (16) Baneth G, Shkap V, Samish M, Jaffe CL (b). Antigenic analysis of gamonts of *Hepatozoon canis* purified from leukocytes. J Parasitol Apr 2000; 86(2):289-94.