

**Caso clínico de canino poodle diagnosticado con *Hepatozoon canis* por
PCR en la clínica veterinaria Animal Hospital**

Trabajo de grado para optar por el título de Médica Veterinaria

Sara Úsuga Ospina

**Asesor
David Stiven García Zapata
Médico Veterinario**

**Unilasallista Corporación Universitaria
Facultad de ciencias Agropecuarias
Medicina Veterinaria
Caldas-Antioquia
2021**

Tabla de contenido

Resumen.....	5
Introducción.....	7
Objetivos.....	9
Objetivo general.....	9
Objetivos específicos.....	9
Marco teórico.....	10
Antecedentes históricos.....	10
Etiología.....	11
Epidemiología.....	11
Transmisión.....	12
Ciclo biológico.....	13
Patogenia.....	15
Presentación clínica.....	17
Diagnóstico.....	19
Tratamiento.....	23
Prevención.....	24
Pronóstico.....	26
Descripción del caso clínico.....	27
Discusión.....	36
Conclusiones.....	47
Referencias bibliográficas.....	49

Lista de tablas

Tabla 1. Medicamentos para el tratamiento del Hepatozoon.....	24
Tabla 2. Perfil prequirúrgico básico 18 de marzo.....	30
Tabla 3. PCR en tiempo real 20 de marzo.....	32
Tabla 4. Perfil prequirúrgico básico 22 de marzo.....	33
Tabla 5. Componentes Analíticos Urgent care a/d Hill's.....	43

Lista de ilustraciones

Ilustración 1. Ciclo gametogónico en la garrapata.....	14
Ilustración 2. Ciclo esquizogónico en el perro.....	15
Ilustración 3. Proliferación periostica diafisaria por <i>Hepatozoon canis</i>	17
Ilustración 4. Gamontes <i>H. canis</i> intracitoplasmáticos en neutrófilos.....	20
Ilustración 5. Meronte de <i>Hepatozoon spp</i> en histopatología de Bazo.....	21
Ilustración 6. Requerimiento energético en reposo.....	31

Resumen

Son múltiples los agentes hemotrópicos conocidos en Colombia, causantes de enfermedades en los caninos, encontrando comúnmente reportes de *Anaplasma*, *Ehrlichia canis*, *Babesia canis*, *Dirofilaria immitis*, y en menor medida casos de *Hepatozoon canis*. Sin embargo es importante que el médico veterinario adquiera todos los conocimientos y habilidades necesarias para identificar esta enfermedad y hacer un correcto abordaje terapéutico de la misma, considerando que la hepatozoonosis es una enfermedad emergente en Colombia, es decir, que su incidencia ha aumentado considerablemente en los últimos años, dado que el ambiente tropical de Colombia proporciona condiciones aptas para la proliferación de los vectores que transmiten el *Hepatozoon canis*, principalmente la garrapata *Rhipicephalus sanguineus*, por lo cual cada día será más común encontrar esta enfermedad en nuestro quehacer diario como médicos veterinarios.

En este trabajo se expone un caso de un paciente canino macho de raza poodle diagnosticado con *Hepatozoon canis* por medio de la Reacción en cadena de la polimerasa (PCR), que se presentó en la clínica veterinaria Animal Hospital. Se describen los antecedentes del paciente encontrados mediante la anamnesis y su evolución desde el primer día en hospitalización hasta el alta del mismo, abordando tratamiento farmacológico, ayudas diagnósticas como exámenes de laboratorio (Hemoleucograma, PCR), ecografía abdominal, la evolución y complicaciones durante la hospitalización y después del alta. Se concluye la importancia de la prevención, así como de un diagnóstico temprano y de la elección de pruebas diagnósticas efectivas, siendo la prueba molecular PCR la más indicada.

Palabras clave: Hemotrópicos, *Hepatozoon canis*, PCR

Introducción

Las enfermedades hemotrópicas son de frecuente presentación en zonas tropicales y subtropicales donde el clima es confortable para el desarrollo de sus vectores, pueden afectar grandes y pequeños animales, y son reconocidos como agentes primarios de enfermedades que alteran la producción y el estado de salud de los mismos (Arcila et al., 2005). Entre las enfermedades hemotrópicas caninas transmitidas por vectores invertebrados como las garrapatas se destacan las enfermedades del género *Ehrlichia*, *Anaplasma*, *Babesia* y *Hepatozoon*. Estas enfermedades representan un problema histórico y emergente en diversos lugares del mundo debido a su prevalencia, relevancia veterinaria y potencial zoonótico, siendo algunos considerados problemas de salud pública (Jiménez Celis, 2021).

La hepatozoonosis es una enfermedad sistémica parasitaria de distribución mundial producida por un protozoario del género *Hepatozoon*, conformado por cerca de 300 especies ampliamente distribuidas a nivel mundial (Cala Delgado et al., 2018). 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 (Arcila et al., 2005).

Una de las principales fuentes de transmisión de este parásito es la garrapata marrón del perro (*Rhipicephalus sanguineus*), la cual es muy adaptable a nuestro medio climático. La infección se adquiere a través de la ingestión de la garrapata, la cual actúa como un vector oportunista que se presenta cuando las condiciones higiénico-sanitarias son realmente deficientes; generalmente es encontrada en regiones tropicales y subtropicales de todo el mundo asegurando su distribución potencial y continuidad infectiva para la hepatozoonosis (Martínez & Ruiz, 2018).

La sintomatología en los caninos varía y depende de su estado inmunitario e igualmente si se encuentra coinfectado por otro hemoparásito , en el caso de un animal que este cursando solo con la presencia de la infección por *Hepatozoon canis*, su sintomatología es inespecífica y variada, de esta forma los signos clínicos más referenciados son; anorexia, vómito, decaimiento, letargia, mucosas pálidas, pérdida de peso y linfadenopatía local o generalizada llegando a presentar en casos severos; dolor muscular y articular, principalmente de los miembros, acompañado de ataxia, debilidad del tren posterior, y hasta postración (Jiménez Celis, 2021).

El diagnóstico se realiza generalmente mediante la identificación de gamontes en el citoplasma de neutrófilos (más raramente monocitos) en frotis de sangre teñidos con tinción de Giemsa o Wright. Aun así el diagnóstico molecular mediante la prueba PCR , es el más específico para determinar la presencia del *Hepatozoon canis* (Taylor et al., 2016).

En este trabajo se expone el abordaje y evolución de un paciente canino de raza poodle diagnosticado con *Hepatozoon canis* por medio de PCR en la clínica veterinaria Animal Hospital, y se resalta la importancia de la comprensión y profundización acerca de los factores de riesgo, prevención, métodos diagnósticos y tratamiento de la hepatozoonosis, por parte del Médico Veterinario y de los propietarios de las mascotas.

Objetivos

Objetivo general:

Describir un caso clínico de *Hepatozoon canis* en un paciente canino de raza poodle abordando temáticas como diagnóstico, prevención, tratamiento y evolución.

Objetivos específicos:

- Reunir información actualizada y completa de aspectos epidemiológicos, etiológicos, transmisión, ciclo biológico y patogenia del *Hepatozoon canis*.
- Debatir acerca del diagnóstico de pacientes con *Hepatozoon canis*.
- Realizar seguimiento de la evolución del caso clínico escogido.
- Analizar el manejo terapéutico realizado y comparar resultados obtenidos con la literatura.

Marco Teórico

Antecedentes históricos

La hepatozoonosis canina se describió por primera vez en la India en 1905, con el nombre de *Leucocytozoon canis*, pero investigaciones más tarde realizadas en Malasia lo designaron *Hepatozoon*. El género *Hepatozoon* se denominó así, debido al desarrollo merogónico que se observó en un tipo de cepa de *Hepatozoon muris*, especie que afectaba principalmente el hígado de los roedores (Baneth, 2008). Sin embargo, el hígado no fue el principal órgano afectado para otras especies de *Hepatozoon* que se encontraron más adelante. Posteriormente fue descrito en varios países del mundo, en los Estados Unidos, se describió por primera vez en 1978, para ese entonces todas las infecciones caninas se atribuyeron en un momento a *Hepatozoon canis*. Sin embargo, en 1997 se identificó una nueva especie, *Hepatozoon americanum*, solo presente en los estados del sur del Golfo de California (Baneth et al, 2000).

El primer reporte de *Hepatozoon canis* en Colombia se hizo en 2004 en un canino macho diagnosticado por medio de extendido sanguíneo en el laboratorio del Centro Médico Quirúrgico Veterinario de la Universidad Cooperativa de Colombia, sede Bucaramanga (Cala Delgado et al., 2018). La hepatozoonosis en Colombia fue considerada como enfermedad emergente (Castellano, 2008), luego de haberse documentado la ocurrencia de cinco casos entre 2004 y 2007 en la ciudad de Bucaramanga (Mateus et al., 2007). En el departamento de Antioquia fue expuesto otro caso de *H. canis* en 2009, donde el paciente presentó uveítis y glaucoma, lesiones

asociadas a la infección por este patógeno. Por otro lado, no ha sido reportada la presencia de hepatozoonosis en caninos de otros departamentos de Colombia (Cala Delgado et al., 2018).

Etiología

El *Hepatozoon canis* pertenece al Phylum *Apicomplexa*, Clase *Sporozoea*, Orden *Eucoccidia*, Familia *Haemogregarinidae*, Género *Hepatozoon*, Especie *canis*. Este parásito se encuentra dentro del monocito y el neutrófilo en estadio de gametocito en forma de inclusiones intracitoplasmáticas ovoides de color azul hielo, casi transparentes, que alcanza un tamaño de 5 por 10 μm (Ardila, 2007).

El *Hepatozoon spp* es un hemotrópico comúnmente reportado en perros, pero se ha evidenciado que también afecta a gatos domésticos, se conocen dos variedades de *Hepatozoon* claramente identificadas, con cuadros clínicos diferentes y con distribución en múltiples continentes donde se diferencian e identifican como *Hepatozoon canis* y *Hepatozoon americanum* (Jiménez Celis, 2021).

Otras especies de *Hepatozoon* encontrados son; *H. caimani* en reptiles, *H. polytopis* en serpientes, *H. parus* en aves (Ardila, 2007).

Epidemiología

El *H. canis* se encuentra y se ha reportado su presencia en casi todos continentes teniendo afinidad por lugares cálidos o sectores tropicales, los cuales favorecen la presencia y supervivencia de la garrapata *Rhipicephalus sanguineus* transmisora de la enfermedad. Por su parte el *Hepatozoon americanum* está presente en Estados Unidos, se ha extendido por la costa del Golfo de Texas, luego en Louisiana, Alabama, Georgia

y Oklahoma y al igual que el *H. canis* también afecta a caninos pero es considerada la especie más patógena (Ardila, 2007).

El *Hepatozoon canis* se ha diagnosticado en Europa, Asia, África y América. En América se han presentado reportes de *H. canis* en Brasil, Estados Unidos de Norteamérica, Venezuela, Paraguay, Argentina y Colombia (Cala Delgado et al., 2018). Mantiene su ciclo biológico en el *Rhipicephalus sanguineus*, en un proceso estacional, no presenta predilección por sexo, raza o edad debido a la disponibilidad del vector, el cual es un oportunista aprovechando las malas condiciones higiénico-sanitarias. Es común encontrar la hepatozoonosis asociada con Parvovirus canina, Ehrlichiosis, Babesiosis, Dirofilariosis, Distemper, Leishmaniosis (*L. infantum*) o en animales inmunosuprimidos (Ardila, 2007).

Transmisión

Las infecciones naturales con *H. canis* se adquieren a través de la ingestión de la garrapata marrón del perro, *Rhipicephalus sanguineus*, infectada con oocistos maduros o esporulados, mientras que las infecciones por *H. Americanum* se producen por medio de la garrapata de la costa del Golfo, *Amblyomma maculatum* (Ewing & Panciera, 2003). La hepatozoonosis canina no presenta predisposición para alguna raza o sexo en particular, sino que se cree que su presentación está asociada a las características conductuales que favorecen el contacto del animal con la garrapata (Martín & Pallisera, 1994).

Es de transmisión transestadial se presenta típicamente en ambientes cuyas condiciones higiénico-sanitarias son inadecuadas, aunque normalmente necesita factores concomitantes para desarrollarse clínicamente (suele ser una parasitosis que

aparece acompañado a otros procesos), por lo que, al agente etiológico se le califica como oportunista) (Martínez & Ruiz, 2018).

El *Hepatozoon canis* infecta un amplio rango de mamíferos como lo son el perro, chacal, hiena, coyote, zorro, león, leopardo, gineta, gato, otros mamíferos, reptiles y aves. Además, en cachorros ha sido reportada la transmisión vertical (Ardila, 2007).

Ciclo biológico

Presenta un ciclo de vida típico de las coccidias con alternancia de hospedadores. El microorganismo requiere dos huéspedes para completar su ciclo de vida. El huésped definitivo del *Hepatozoon canis* es *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 (Arcila et al., 2005). El ciclo de vida está compuesto por una fase sexual o gametogonia y una fase asexual o esquizogonia.

La fase sexual se desarrolla en la garrapata que se infecta inicialmente por la ingestión de sangre con monocitos y neutrófilos contaminados por isogamontes del huésped vertebrado infectado, en este momento inicia la fase de gametogonia al fecundarse el macrogameto y el microgameto, formando oocinetos; en el hemocele de la garrapata se produce la esporogonia con el resultado de numerosos esporocistos (estadio de gametocito), cada uno se replica y evoluciona (reproducción sexual) con 12 a 24 esporozoítos en su interior (Ardila, 2007) (Ilustración 1).

Cuando el huésped ingiere la garrapata (perro) con oocistes, los cuales liberan los esporozoítos, estos últimos penetran la pared intestinal y son transportados por sangre o linfa hasta células endoteliales del sistema mononuclear fagocítico (SMF) en diferentes órganos (bazo, médula ósea, nódulos linfáticos e hígado o también en músculo

esquelético, miocardio o pulmones), donde se desarrolla la fase asexual llamado esquizogonia (o también llamado perigonio), donde la esquizogonia da lugar al desarrollo de macroesquizontes y de microesquizontes en los que se formarán los macromerozoítos y micromerozoítos. Los neutrófilos y los monocitos, se infectan al fagocitar los micromerozoítos o al ser penetrados directamente por ellos para la gametogénesis. Una vez dentro, evolucionan a gametocitos y el ciclo vuelve a iniciarse cuando una garrapata ingiere los leucocitos infectados (Ardila, 2007) (Ilustración 2).

Ilustración 1. Ciclo gametogónico en la garrapata, (Ardila, 2007).

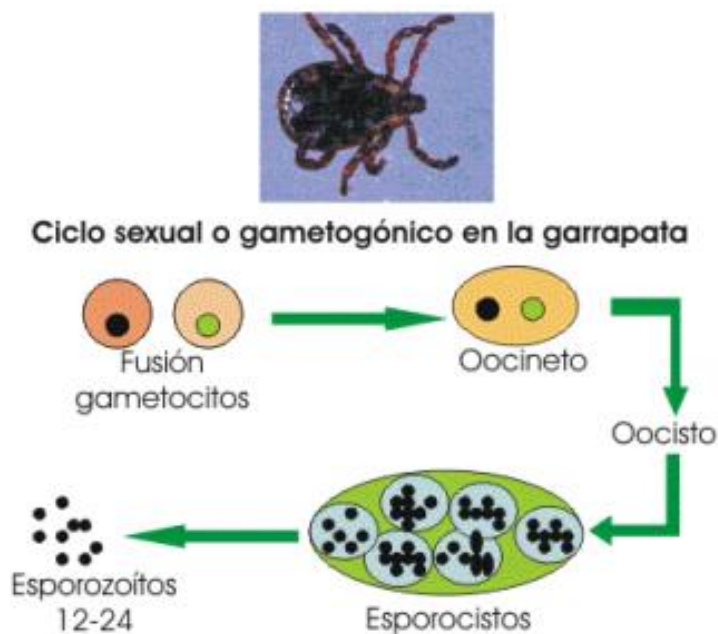
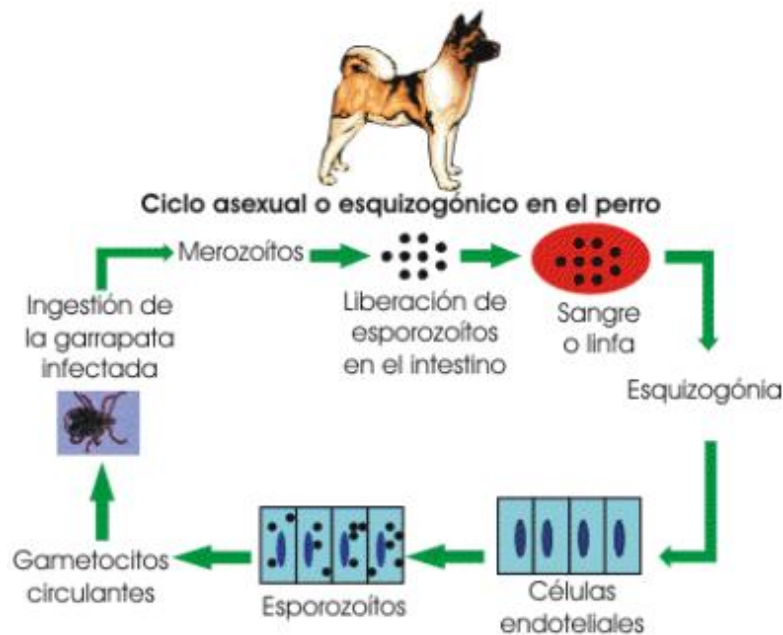


Ilustración 2. Ciclo esquizogónico en el perro, (Ardila, 2007).



Patogenia

La patogénesis de la infección por *H. canis* se encuentra influenciada por condiciones de deficiencia inmunológica; las patologías que debilitan las respuestas inmunitarias aumentan la susceptibilidad frente a nuevas infecciones con *H. canis* o permiten que las infecciones existentes se reactiven. Es común encontrar la hepatozoonosis asociada a otra enfermedad infecciosa como parvovirus, erlichiosis, babesiosis, anaplasmosis, dirofilariosis, distemper, leishmaniosis; o en animales inmunosuprimidos ya sea por una enfermedad concomitante o terapias inmunodepresoras. De esta manera los signos clínicos se hacen más evidentes pero son menos específicos y causan la muerte del canino entre las 4 y 8 semanas de iniciada la signología clínica (Martínez & Ruiz, 2018).

El periodo de incubación es de dos a cuatro semanas, la prepatencia es de cuatro a seis semanas y la patencia posiblemente varios años. Los esporozoítos penetran la pared intestinal causando daños epiteliales, en las células endoteliales del músculo esquelético, miocardio, pulmones, bazo, nódulos linfáticos e hígado; en este estadio los parásitos pueden persistir en las células como estructuras quísticas durante un tiempo variable sin inducir respuesta inflamatoria alguna. Sin embargo, cuando los micromerozoítos se liberan ocurre una respuesta inflamatoria granulomatosa que produce dolor y la replicación alrededor de los huesos provoca una marcada reacción perióstica engrosando las superficies óseas (Ardila, 2007) (Ilustración 3).

En los órganos afectados observamos aumento de tamaño por lesiones vasculares por la degeneración fibrinoide de los vasos, mineralización y proliferación de la íntima vascular, presencia de granulomas parasitarios y piogranulomas, infiltrado celular, depósito de sustancia amiloide crónica en los diferentes órganos (amiloidosis), vasculitis, glomerulonefritis o glomerulonefritis mesangioproliferativa, trombosis y necrosis (Ardila, 2007).

La infección por *H. canis* puede ser subclínica en algunos animales, pero produce enfermedades graves y mortales en otros. La enfermedad leve es común y se asocia generalmente con niveles bajos de *H. canis* (parasitemia 1-5%). Una enfermedad más grave se presenta en perros con una alta parasitemia (con aproximadamente el 100% de los neutrófilos circulantes parasitados), en estos casos se suele presentar letargo, fiebre y pérdida grave de peso. Los caninos que presentan tanto leucocitosis como una parasitemia alta pueden tener un número masivo de gamontes circulantes (>50,000/ μ L de sangre) (Taylor et al., 2016).

Ilustración 3. Proliferación periostica diafisiaria por *Hepatozoon canis* (Pérez Tort, 2012).



Presentación clínica

Las manifestaciones clínicas son muy diversas y de diagnóstico presuntivo difícil. Las mismas pueden ir desde procesos asintomáticos hasta casos muy graves con signos multisistémicos, sin embargo, y en base a la literatura actualizada, los dos signos notificados con mayor frecuencia en caninos domésticos son “fiebre intermitente y emaciación” siendo más graves en cachorros menores de 1 año de edad y en perros gerontes. La caquexia es la manifestación física más constante y la atrofia muscular se hace más evidente, generalmente, en la región temporal de la cabeza (Meder et al., 2015).

Otras alteraciones comúnmente referenciadas son anemia, diarrea, anorexia, decaimiento, letargia, mucosas pálidas, linfadenopatía local o generalizada hepatoesplenomegalia y trastornos neuromusculares que van desde una paraparesia

hasta una paraplejía. En casos graves se ha notificado fiebre que no responde a la terapia con antibióticos acompañada por hiperestesia muscular dorsal que se manifiesta por resistencia a la movilidad, rigidez cervical y del tronco; Los perros, en esta última presentación, adoptan la posición de “la voz de su amo” que se manifiesta por decúbito caudal como sentado pero de aspecto rígido dirigiendo su mirada perdida como si oyera, pero sin poder responder, a la voz de su amo. En estos casos, el dolor lumbar asociado a la infección periostial de *Hepatozoon*, se asemeja a la enfermedad medular espinal de tipo traumática o degenerativa (Meder et al., 2015).

Existen algunos reportes de casos clínicos confirmando el diagnóstico de hepatozoonosis con presentación de debilidad del tren posterior, postración, claudicación de cuarto grado, mialgias e intenso dolor a la palpación en huesos largos por lesiones osteolíticas y reacción perióstica en los mismos, con características radiológicas similares a una neoplasia, de igual manera se han reportado casos de afección articular (poliartritis) con presencia de merontes de *H. canis* en cápsula articular, con identificación del agente por técnicas de biología molecular; hallazgo poco frecuente y escasamente reportado en la literatura internacional con limitada información de la patogenia de las lesiones articulares generadas por protozoarios debido a que no está totalmente clara (Martínez & Ruiz, 2018).

La signología clínica presenta períodos inconstantes de remisión intercalados con episodios de fiebre y dolor. Las enfermedades concomitantes así como todos los factores que generan estrés del paciente (hacinamiento, mala alimentación y maltrato) son determinantes para la progresión y gravedad de la hepatozoonosis en caninos domésticos. Por último, lo caninos domésticos pueden superar la fase de enfermedad

clínica sintomática de manera espontánea, aunque los microorganismos persisten por años en los tejidos del animal (Meder et al., 2015).

Diagnóstico

Diagnóstico Clínico: Basado en la historia, la exploración física y los síntomas clínicos, sólo puede ser sospechosos de *Hepatozoon canis* cuando el perro presenta una fatiga injustificada, un adelgazamiento progresivo de origen desconocido, fiebres recurrentes resistentes al tratamiento con antibióticos o una reacción perióstica en la radiografía, nos puede hacer pensar en la posibilidad de una hepatozoonosis. Al ser una enfermedad que no presenta sintomatología clínica específica y al estar en la mitad de los casos asociada a otras patologías parasitarias, bacterianas o víricas nos obliga a realizar un diagnóstico diferencial con leishmaniosis, ehrlichiosis, babesiosis, filariosis, parásitos intestinales, etc. (Martín & Pallisera, 1994).

Entre los hallazgos hematológicos comunes se reporta una marcada leucocitosis con neutrofilia, 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 (Arcila et al., 2005).

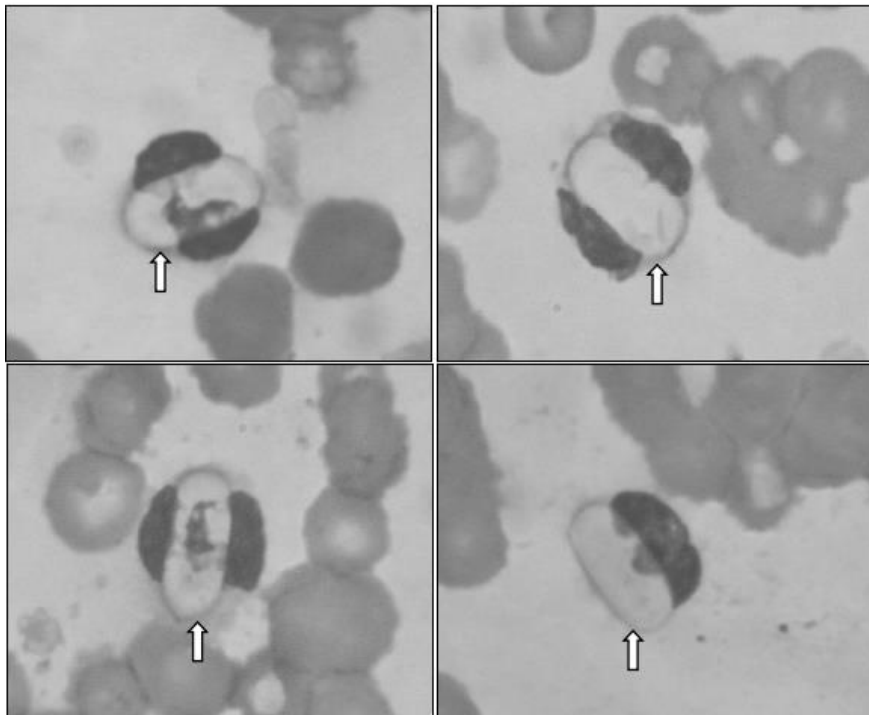
Frotis de Sangre Periférica: El diagnóstico etiológico más común y primario para confirmar la presencia clínica, subclínica o de huésped portador de *Hepatozoon canis*, se realiza mediante la visualización del protozooario dentro de los leucocitos sanguíneos (monocitos y neutrófilos) en un frotis de sangre periférica de extensión fina o de médula ósea, utilizando tinciones de Romanovsky (Jiménez Celis, 2021).

Con este estudio se detecta por microscopía la presencia de gamontes en forma elipsoidal u oval intraleucocitaria, elongados y con extremos redondeados, siendo sus

dimensiones alrededor de 11 x 4 μm , se detectan en el citoplasma de los neutrófilos y rara vez en el de monocitos; se colorean de azul pálido. Están envueltos por una membrana gruesa, ocupan el centro de los neutrófilos comprimiendo y desplazando su núcleo lobulado hacia la membrana celular, con un citoplasma escasamente coloreado y un núcleo generalmente desplazado hacia uno de los polos, compacto y basófilo (Jiménez Celis, 2021) (Ilustración 4).

Estos extendidos se deben realizar en forma inmediata una vez extraída la sangre porque a medida que pasa el tiempo el gametocito desaparece dejando una cápsula sin teñir dentro de los leucocitos, y de esta forma si no se realiza adecuadamente en los tiempos estipulados puede no ser visible y arrojar un falso reporte negativo (Adagio et al., 2014).

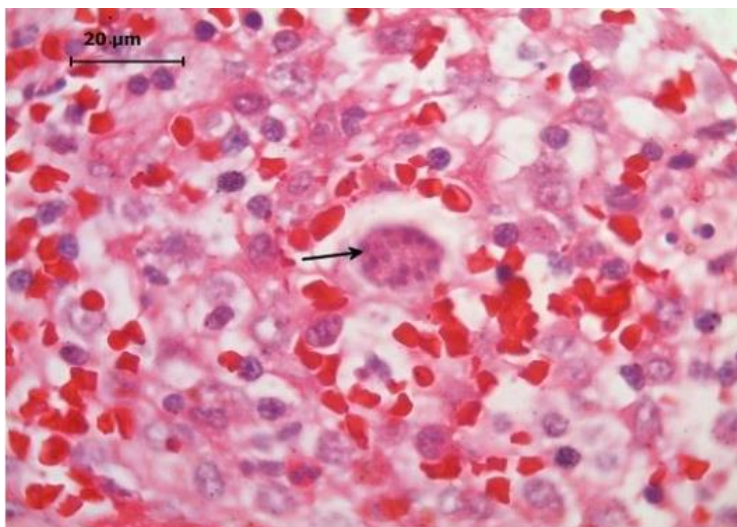
Ilustracion 4. Gamontes *H. canis* intracitoplasmaticos en neutrofilos, (Meder et al., 2015)



Buffy coat: En los casos con fuerte sospecha de *Hepatozoon canis* donde no se detectan gamontes en un extendido simple de sangre, puede hacerse un extendido de la capa leucocitaria o costra flogística (buffy coat), que aumenta las chances de encontrar gamontes cuando las parasitemias son bajas (Caffe, 2013). La costra flogística es obtenida a través del microhematocrito debido a que se logra la leucoconcentración. Esta técnica ha demostrado tener más del doble de sensibilidad con respecto al extendido o frotis de sangre entera (Linares, 2011).

Análisis Histopatológico: En la biopsia de tejido muscular se pueden visualizar los micro y macromerozoitos, así como piogranulomas no encapsulados (Martín & Pallisera, 1994). La única forma de diferenciar la especie de *Hepatozoon* por análisis histopatológico es por muestras obtenidas del músculo, debido a que el meronte de *H. americanum* realiza la merogonia en él, a diferencia del meronte de *H. canis* que realiza merogonia en diversos tejidos como el bazo (Ilustración 5), medula ósea, linfonódulos e hígado, excepto en el músculo estriado (Mejía, 2016).

Ilustración 5. Meronte de *Hepatozoon spp* en histopatología de Bazo, (Mejía, 2016).



Serología: Se pueden realizar pruebas serológicas, como la prueba de inmunofluorescencia indirecta (IFI) para detectar anticuerpos de *Hepatozoon canis*, aclarando que no es una de las más utilizadas, por su baja viabilidad en un antígeno satisfactorio a buscar (Jiménez Celis, 2021). Los gametocitos del parásito *Hepatozoon canis* presentes en los neutrófilos y monocitos de sangre periférica estimulan la producción de anticuerpos, los cuales pueden ser detectados por pruebas 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 (Martínez & Ruiz, 2018).

Diagnóstico Molecular. La reacción en cadena de la polimerasa, conocida como PCR, es la prueba más específica y de mejor diagnóstico que también es usada para monitorear la progresión de la infección, es la indicada para determinar la presencia del *Hepatozoon canis* (Jiménez Celis, 2021). Los métodos de biología molecular son considerablemente más sensibles para detectar infecciones causadas por *H. canis* en las que la parasitemia es tan baja que no es visualizada mediante extendidos sanguíneos. Entre estos, se incluye la reacción en cadena de la polimerasa estándar seguida de digestión por enzimas de restricción y secuenciación (Arcila et al., 2005).

La reacción en cadena de la polimerasa, es una técnica molecular que consiste en la amplificación in vitro de un fragmento de ADN específico. El método utiliza secuencias cortas de ADN llamados cebadores para seleccionar la parte del genoma a amplificar. Consiste en un ciclo de tres pasos (Desnaturalización, Alineación, Extensión) que se repite un número específico de veces (Roche, 2019).

Las enzimas de restricción también conocidas como endonucleasas son proteínas de origen bacteriano que reconocen y cortan secuencias específicas de ADN de doble cadena. Estas enzimas se pueden clasificar en tres grupos: las tipo I y III que tienen la capacidad de metilar y cortar el ADN y las tipo II que solo cortan el ADN (Santillán et al., 2018).

La secuenciación del ADN es una técnica de laboratorio utilizada para determinar la secuencia exacta de las bases (A, C, G, T) en una molécula de ADN. La secuenciación permite determinar si un gen o la región que regula un gen contienen cambios, llamados variantes que están vinculados a un trastorno (National human genome research institute, 2019).

Tratamiento

Un gran número de productos antiprotozoos, así como antibióticos, han sido utilizados para el tratamiento del *Hepatozoon canis* (Tabla1). Existen criterios y resultados muy diferentes según los autores, pero en general coinciden en que ninguno es totalmente eficaz (Martín & Pallisera, 1994).

La infección se trata con dipropionato de imidocarb a dosis de 5- 6 mg/kg vía subcutánea o intramuscular cada 14 días hasta que los gamontes dejen de estar presentes en los frotis de sangre, debe ser utilizado hasta la obtención de 2 o 3 resultados negativos consecutivos de frotis sanguíneo (Sasanelli et al, 2010). La eliminación de gamontes en sangre periférica es lenta, requiriendo al menos 8 semanas de tratamiento. (Baneth, 2008). Para evitar los efectos anticolesterasa se debe administrar al mismo tiempo una dosis de atropina (0.04 mg/kg) vía subcutánea. También se puede utilizar doxiciclina oral 10mg/kg al día durante 21 días en combinación con imidocarb. (Taylor

et al., 2016). Es importante realizar un tratamiento sintomático de órganos y tejidos dañados, con protectores hepáticos, glucosa, antiinflamatorios no esteroideos, etc (Ardila, 2007).

El tratamiento es recomendado para todos los perros infectados ya que la parasitemia puede aumentar con el tiempo y desarrollar una infección grave (Valencia, 2016).

Tabla 1. Medicamentos para el tratamiento de *Hepatozoon canis*, (Ardila, 2007).

Medicamento	Dosis (mg/kg)	Vía	Intervalo (horas)	Duración (días)
Aceturato de diminaceno	3,5	IM	-	1
Dipropionato de imidocarb	5	SC	-	única o a los 14
Fosfato de primaquina	0,5	SC	-	1
Toltrazurilo	5-10	SC/PO	24	3-5
Trimetoprim-Sulfadiacina*	15		12	
Pirimetamina*	0,25		24	
Clindamicina*	10		8	-

Prevención

Como profilaxis se empleará la lucha contra las garrapatas, así como evitar la depredación, ya que se ha demostrado como forma de posible contagio. La prevención de la infección por *H. canis* consiste en un control eficaz de las garrapatas vectores en los perros y en el medio ambiente. El control de los parásitos externos incluye principalmente el manejo y el uso de ectoparasiticidas; el régimen de tratamiento, la vía de administración y, si fuera necesario, la frecuencia de los tratamientos debe de estar claramente especificado en cualquier medida de control de ectoparásitos. Para tratar una infestación por estas garrapatas y reducir los riesgos de Enfermedades Transmitidas por Garrapatas (ETG) se debe evitar o limitar el acceso del perro a zonas con una alta densidad de garrapatas o en épocas del año donde se sabe que la actividad de la

garrapata es más alta; aplicar frecuentemente acaricidas de acción residual y resistentes al agua ya que estos también eliminan todos los estadios en desarrollo y los adultos no alimentados; inspeccionar a los animales regularmente, en particular, hacia el final del período en el que están protegidos, haciendo limpieza regular de los animales para evitar que estos ingieran las garrapatas cuando se acicalan o rascan (Martínez & Ruiz, 2018).

Con base al comportamiento de *R. sanguineus*, es importante orientar estrategias de control fundamentadas en la frecuencia de aplicación de productos ixodicidas, los cuales pudiesen emplearse con mayor frecuencia durante los meses de mayor actividad parasítica y considerando la aplicación de tratamientos, tanto en hospedadores como en el ambiente interno y externo a los sitios de albergue del canino; así mismo, cuando algunas condiciones particulares del ambiente pudiesen favorecer la formación de microhábitats idóneos para la multiplicación del ixódido; ya que se ha demostrado que los factores climáticos ejercen un impacto directo sobre la dinámica poblacional de *R. sanguineus* (Martínez & Ruiz, 2018).

Dentro de la clínica de las pequeñas especies, los métodos de aplicación de ixodicidas en el animal más frecuentes son: baños por aspersion, derrame dorsal “pour-on” o pipetas, tratamiento parenteral y/o tratamiento con collares. Los tratamientos preventivos están encaminados a evitar que este ectoparásito infeste al perro y tenga la oportunidad de transmitirle cualquier agente patógeno, o bien, causarle importantes trastornos metabólicos derivados de la prolongada ingestión de sangre. Al aplicar un tratamiento contra garrapatas debe tenerse en cuenta la capacidad ixodicida del producto empleado. Por ello, existen varios compuestos que son adecuados para el control de este tipo de ácaros en perros, como lo son: los organofosforados, los piretroides, las

amidinas y los fenilpirazoles. Adicionalmente el control medioambiental con acaricidas debe incluir los lugares donde residen los animales, como perreras y casas, y donde la infestación por *R. sanguineus* o *Ixodes* sea evidente, ya que los estadios que no viven en el hospedador están ampliamente distribuidos en el exterior y en lugares inaccesibles. Las garrapatas que se extraen manualmente de un animal deben de destruirse cuidadosamente, para evitar estar expuestos a cualquier fluido de la garrapata que contenga patógenos potencialmente peligrosos, evitando así, que éstas encuentren posteriormente un hospedador humano (Martínez & Ruiz, 2018).

Pronóstico

El pronóstico de los perros tratados con bajas parasitemias es generalmente bueno, aun cuando se requiere de repetidas dosis de dipropionato de Imidocarb, a una dosis de 5 - 6 mg/kg, vía subcutánea o intramuscular con un intervalo de 14 días. Usualmente, una o dos aplicaciones son suficientes, pero en infecciones severas, podría ser necesario 8 semanas o más de tratamiento. Se obtiene una respuesta favorable frente al tratamiento pero no la curación del paciente y este es considerado un portador asintomático del parásito (Mejía, 2016).

Descripción del caso clínico

El día 18 de marzo del 2021, ingresa a consulta general un paciente canino de raza poodle a la Clínica Veterinaria Animal Hospital. La propietaria reporta que el paciente “empezó a estar muy decaído y a dejar de comer, y además presentaba dificultad para pararse. El día anterior a la consulta se cayó a causa de la debilidad y estuvo defecando heces de consistencia blanda. El sábado anterior a la consulta lo revisaron unos médicos veterinarios a domicilio, los cuales lo canalizaron y le administraron suero y vitaminas, también le tomaron un examen de sangre (Perfil básico: Hemoleucograma, Alanina aminotransferasa (ALT), Creatinina) en el cual se halló una leucocitosis de 28.000 Leu/ul (valor normal 6.000-15.000 Leu/ul) y una leve hemoconcentración. Le mandaron medicamentos, pero no presentó mejoría ya que seguía sin comer nada”. La propietaria reporta que hace unas semanas estuvieron de paseo en la costa y que el paciente no ha sido desparasitado desde hace más de un año.

En el examen clínico general se evidenció un paciente hipodinámico a la manipulación, con constantes fisiológicas dentro del rango normal para su especie, exceptuando la temperatura (36.4°C). A la inspección de la cavidad oral se encontraron las membranas mucosas pálidas y secas. Se evidencian garrapatas en espacios interdigitales y a nivel del dorso. A la palpación, los linfonódulos no se encontraron reactivos y tanto el reflejo tusígeno como el palmo percutor resultaron negativos. A la auscultación cardiopulmonar no se evidenció ninguna alteración, pero a la palpación abdominal se halló una marcada distensión abdominal.

Hallazgos en el examen físico:

- Temperatura: 36.4 °C
- Peso: 9.6 kg
- Índice de condición corporal: 3.5 /5
- Tiempo de llenado capilar: 3 Segundos
- Frecuencia cardiaca: 119 latidos por minuto
- Frecuencia respiratoria: 22 respiraciones por minuto
- Reflejos: Normoreflexia
- Pulso: normal
- Características del pulso: fuerte y concordante

Listado de Problemas:

1. Membranas mucosas pálidas y secas
2. Inapetencia
3. Hipodinámico
4. Distensión abdominal
5. Hipotermia

Como diagnósticos diferenciales se plantea Hemoparásitos, Insuficiencia cardiaca congestiva (ICC), Hepatitis, Insuficiencia Renal Aguda (IRA). Y como diagnostico presuntivos hemoparásitos.

Como plan diagnostico se plantea que de acuerdo a la respuesta terapéutica y evolución del paciente se recomienda realizar ecografía abdominal, hemoleucograma y química sanguínea. Se indica a los propietarios que el paciente debe ser hospitalizado con el fin de estabilizarlo.

Se canaliza paciente en miembro anterior derecho (MAD) y se instaura la siguiente terapéutica intrahospitalaria:

- Fluidoterapia a un mantenimiento de 40mg/Kg/día
- Omeprazol 1mg/kg IV cada 24 horas
- Dipirona 28mg/kg IV cada 8 horas
- Bonavit 2ml totales IV cada 12 horas
- Hemolitan 10 gotas VO cada 12 horas
- Alimentación asistida

Evolución:

Durante el primer día en hospitalización se toman muestras de sangre de la vena cefálica del miembro anterior izquierdo (MAI) y se remiten al laboratorio clínico para la realización de un perfil básico (Hemoleucograma, Alanina aminotransferasa (ALT), Creatinina). Este mismo día llegan los resultados, en donde se reporta un aumento significativo de la ALT hallándose en 437.80 U/L (valor de referencia 15-84 U/L). En la línea roja se encuentra una disminución en el valor de los eritrocitos, hemoglobina y del hematocrito indicando la presencia de anemia, además se halla una disminución en el valor de las proteínas plasmáticas. Con respecto a la línea blanca se encuentra un aumento en los leucocitos y de los neutrófilos, los linfocitos por el contrario se encontraban disminuidos, también se encontró un aumento de los neutrófilos en banda (Tabla 2).

En el frotis sanguíneo se encuentra la presencia de Efecto rouleaux en cantidad escasa, Leucocitosis marcada, Neutrofilia absoluta, Linfopenia relativa, Aumento

absoluto de bandas (Desviación a la izquierda regenerativa) y la presencia de macroplaquetas en cantidad escasa (Tabla 2).

Tabla 2. Perfil prequirúrgico básico 18 de marzo

Parámetro	Resultado	Unidad	Rango
ALT	437.80	U/L	15-84
Creatinina	1.04	mg/dl	0.5-1.5
Eritrocitos	2920000	Eri/ul	5300000-8830000
Hemoglobina	7.1	g/dl	12.7-16.3
Hematocrito	20.7	%	39.2-58.8
Reticulocitos	1.4	%	0-1
Anisocitosis	+		
Macroцитos	+		
Crenocitos	++		
Policromatofilia	+		
Microцитos	+		
Hipocromia	+		
Rec. de plaquetas	439000	plt/uL	160.000-461.000
VPM vol promedio	5.0	fL	6.7-11.1
Proteinas plasmaticas	44	g/L	55-78
Leucocitos	34000	Leu/ul	6.000-15.000
Neutrófilos	80	%	50-73
Linfocitos	12	%	25-33
Bandas	6	%	0-4
Células inmaduras	2	%	0

Hallazgos frotis sanguíneo

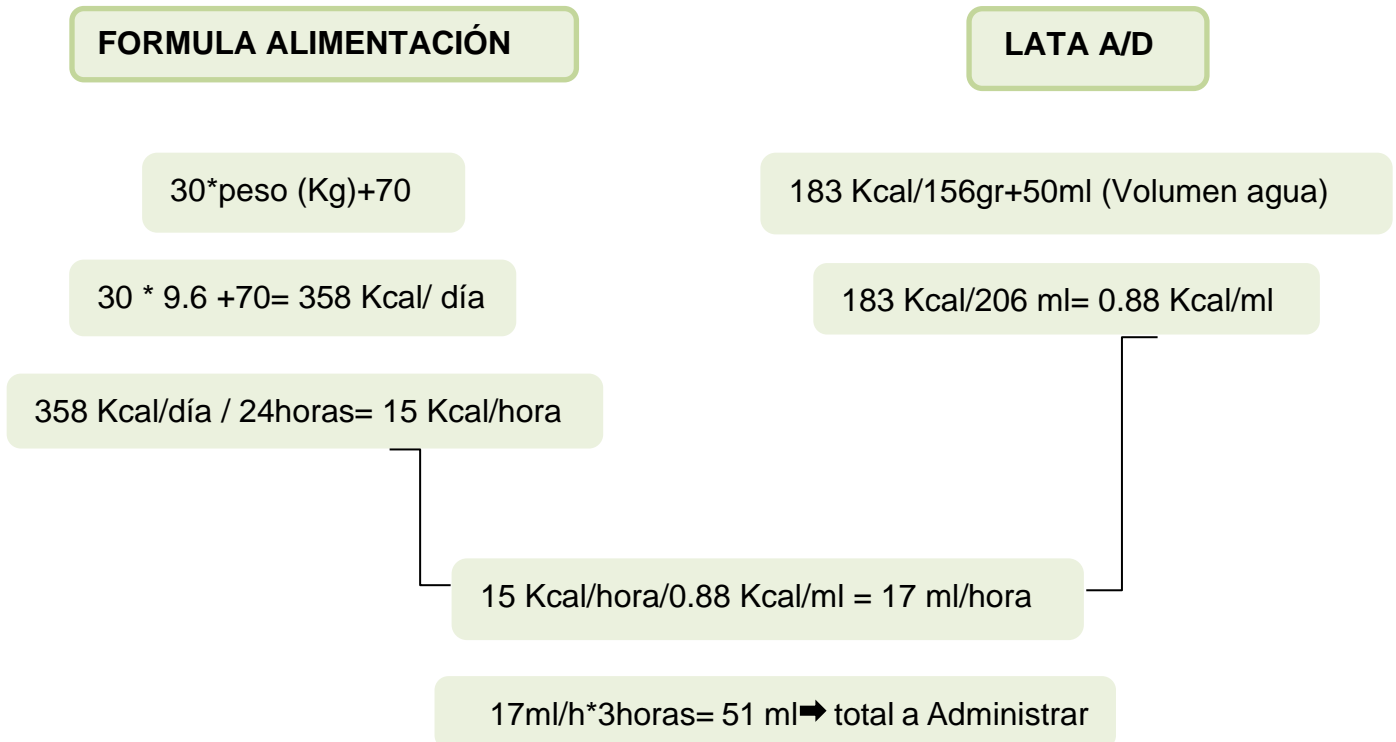
- Efecto rouleaux en cantidad escasa
- Leucocitosis marcada, neutrofilia absoluta, linfopenia relativa, aumento absoluto de bandas
- Macroplaquetas en cantidad escasa

Fuente: Información obtenida de TESTLAB Laboratorio Clínico Veterinario, realizado por Lisbeth Jurany Deossa Upegui, (2021).

En el segundo día en hospitalización se reporta que el paciente permanece hipodinámico. Se le instaura sonda nasogástrica para alimentación asistida y se le calcula un requerimiento energético en reposo para el paciente con una lata Urgent care a/d de Hills (Ilustración 6). Se continúa con el tratamiento indicado. Se realiza ecografía

abdominal donde se evidencia (Masa biliar Mucocele, Linfadenomegalia Mesentérica, Linfoma multicéntrico). A lo largo del día se realiza medición de la glicemia, la cual permanece estable (dentro del rango 70-138mg/dL).

Ilustración 6. Requerimiento energético en reposo.



Se habla con la propietaria sobre lo delicado del caso, y se le indica que el paso a seguir sería una laparotomía exploratoria para llegar a un diagnóstico más preciso, pero que sin embargo esta no sería la solución del problema, además se le dice que el problema podría estar relacionado con una enfermedad transmitida por las garrapatas que ha presentado el paciente. El pronóstico del paciente es reservado.

Al tercer día en hospitalización no se evidencia mejoría, el paciente continúa hipodinámico, se le ofrece alimento el cual no acepta, por lo cual se continúa alimentando

por sonda. Se le indica a lo propietaria que lo ideal sería realizar PCR en tiempo real para descartar la presencia de hemoparásitos dado el cuadro clínico del paciente y los hallazgos en los exámenes anteriormente realizados, la propietaria autoriza realizar el PCR en tiempo real. Se continúa con el tratamiento instaurado anteriormente.

Este mismo día (20 de marzo del 2021) se obtienen los resultados del PCR en tiempo real los cuales confirman la presencia de un hemoparásito llamado *Hepatozoon canis* (Tabla 3).

Tabla 3. PCR en tiempo real

Examen	Resultado	Tipo de prueba
Hepatozoon spp	Positivo 55 copias/ul	Tiempo real
Babesiosis	Negativo	Tiempo real
Dirofilariosis	Negativo	Tiempo real
Rickettsiales (Anaplasma, Ehrlichia, Rickettsia spp)	Negativo	Tiempo real

Fuente: Información obtenida de TestMol Centro de diagnóstico especializado, realizado por Cesar Muñoz, (2021).

Al cuarto día se reporta que el paciente sigue muy decaído, pero alerta al medio, tolera la alimentación asistida, no presenta episodios de vómito. Se habla con la propietaria sobre lo delicado del cuadro y sobre el tiempo de evolución, sobre la administración de un medicamento llamado Dipropionato de imidocard el cual según la literatura es el indicado para tratar esta patología y los riesgos que este conlleva. Se mantiene a la espera de aprobación. Se administra el tratamiento instaurado y el pronóstico sigue siendo reservado.

El quinto día el paciente se observa alerta y adinámico, consume agua tolerándola sin vómitos. Se realizan exámenes de control (perfil básico) los cuales muestran resultados similares a los anteriores, exceptuando por una anemia mucho más marcada,

en el frotis sanguíneo se evidencia la presencia de vacuolas citoplasmáticas y el valor de la ALT se encuentra disminuido con respecto al de la primera química sanguínea realizada (Tabla 4). Este mismo día se administra la primera dosis de dipropionato de imidocarb (0,25ml SC). Se decide que el paciente es apto para dar de alta explicando a los propietarios los riesgos de la anemia marcada que presenta.

Tabla 4. Perfil prequirúrgico básico 22 de marzo

Parámetro	Resultado	Unidad	Rango
ALT	366.67	U/L	15-84
Creatinina	0.74	mg/dl	0.5-1.5
Eritrocitos	1600000	Eri/ul	5300000-8830000
Hemoglobina	3.4	g/dl	12.7-16.3
Hematocrito	11.00	%	39.2-58.8
Reticulocitos	1.0	%	0-1
Macroцитos	+		
Policromatofilia	+		
Hipocromia	++		
Rec. de plaquetas	284000	plt/uL	160.000-461.000
VPM vol promedio	9.00	fL	6.7-11.1
Proteinas plasmaticas	52	g/L	55-78
Leucocitos	68000	Leu/ul	6.000-15.000
Neutrófilos	85	%	50-73
Linfocitos	6	%	25-33
Bandas	6	%	0-4

Hallazgos frotis sanguíneo

- Efecto rouleaux en cantidad moderada
- Leucocitosis marcada, neutrofilia absoluta, linfopenia relativa, aumento absoluto de bandas, vacuolas citoplasmáticas
- Macroplaquetas en cantidad moderada

Fuente: TESTLAB Laboratorio Clínico Veterinario, realizado por Luis Rúa Ceballos, (2021).

El 23 de marzo del 2021 se reporta que el paciente permanece alerta durante el día, pero bastante hipodinámico, tolera la alimentación asistida, consume poca alimentación voluntariamente, se administra tratamiento instaurado y se da de alta con las siguientes indicaciones por petición de la propietaria la cual decidió seguirlo tratando con otro médico veterinario:

- Omeprazol Inyectable 4mg, Administrar vía intravenosa 3 ml cada 24 horas durante 5 días inicialmente (AM)
- Dexametasona inyectable 4mg/ml, Administrar vía intravenosa 2 ml cada 12 horas durante 5 días (AM-PM)
- Oxitetraciclina inyectable 50mg/ml, Administrar vía intravenosa 2 ml cada 24 horas durante 5 días (AM) Diluido en bureta.
- Azatioprina tableta 50mg, Administrar vía oral $\frac{1}{2}$ tableta cada 24 horas durante 6 días (AM)
- Bonavit ,Administrar vía intravenosa 1 ml cada 12 horas durante 5 días (AM-PM)
- Hemolitan Gotas, Administrar vía oral 10 gotas cada 12 horas durante 10 días (AM-PM)
- Silimarina Cap. 150mg, Administrar vía oral 1 capsula cada 24 horas durante 15 días.

Como recomendaciones se indica: Revisión y exámenes de control (perfil básico) en 3 días (26 de marzo), continuar haciendo controles semanales. Próxima dosis de imidocarb (0,25ml SC) el próximo 5 de abril, Garantizar consumo de alimento (ofrecer

pollo o carne cocido solo en agua, sin sal ni condimentos). Traer de inmediato si se percibe dificultad respiratoria, inapetencia, vómitos o cualquier otra novedad.

El 24 de marzo del 2021, Un día después de haber sido dado de alta, el paciente ingresa por urgencias en donde es atendido de inmediato, pero al revisarlo este ya había fallecido.

Discusión

La hepatozoonosis canina es una enfermedad poco conocida en Colombia. Sin embargo desde junio del año 2004 cuando se hizo el primer descubrimiento en el Laboratorio del Centro Médico Quirúrgico de la Universidad Cooperativa de Colombia, seccional Bucaramanga, Se han encontrado varios casos de esta patología y hoy ya es un hecho su incursión en nuestro medio (Mejía, 2016), lo que nos ha permitido realizar estudios para comprender su comportamiento, factores de riesgo y la importancia de la prevención y control de este agente y de su principal vector, dado que Colombia cuenta con sitios cálidos y sectores tropicales, que favorecen la presencia y supervivencia de la garrapata *Rhipicephalus sanguineus* transmisora de la enfermedad, características de Colombia que pudieron influir en este caso en el contagio con *H. canis*, ya que la propietaria reportó que había estado de paseo en la costa colombiana, lugar que cuenta con las características climáticas y geográficas para el desarrollo de las garrapatas, las cuales también se detectaron durante la inspección del paciente. Vale la pena resaltar que el paciente no estaba al día con su plan sanitario y como ha sido mencionado anteriormente lo más importante para prevenir esta enfermedad es realizar un control integrado del vector utilizando ectoparasiticidas en el paciente y productos para hacer control de la garrapata en el ambiente.

Varios autores han diagnosticado la hepatozoonosis asociada con otras enfermedades: Leishmaniosis, ehrlichiosis, piroplasmosis, filariosis, demodicosis, moquillo canino, etc. Como es el caso de Martin y Pallisera, los cuales realizaron un estudio retrospectivo de 8 casos clínicos de *hepatozoon canis*, en este estudio el motivo

de consulta general fue abatimiento, anorexia, pérdida de peso y la presencia de ectoparásitos, en especial garrapatas, fue una característica de todos los pacientes. Tres de los casos fueron positivos a ehrlichiosis y otros tres a leishmaniosis diagnosticados por la técnica de inmunofluorescencia indirecta, en otro caso por medio de un análisis de heces se detectaron la presencia de ancylostomas y solamente en un caso no se diagnosticó ninguna enfermedad asociada a la hepatozoonosis (Martín & Pallisera, 1994). En este caso clínico por el contrario al paciente no se le diagnosticó ninguna enfermedad concomitante, aun así, también presentó una sintomatología clínica bastante inespecífica: inapetencia, decaimiento, debilidad, distensión abdominal, hipotermia. Lo cual nos demuestra que aunque en la mayoría de los estudios nos dicen que el desarrollo de un estado crónico o grave de la enfermedad, depende en gran medida de la coexistencia de otras patologías o de estados de inmunosupresión. No siempre es así ya que en este paciente no se diagnosticó ninguna otra enfermedad.

Los resultados de laboratorio de un paciente con hepatozoonosis muestran generalmente anemia con una leucocitosis elevada. Hay marcada neutrofilia con desvío a la izquierda y en algunos casos eosinofilia y/o monocitosis. En la bioquímica sanguínea se observa hiperproteinemia (por hiperglobulinemia) e hipoalbuminemia. Hay aumento de la fosfatasa alcalina y también puede encontrarse elevada la urea, creatinina y fósforo inorgánico (Palomeque, 2019). Los resultados encontrados en este caso son muy similares a los descritos anteriormente, hallando una disminución en el valor de los eritrocitos, hemoglobina y del hematocrito indicando la presencia de anemia, leucocitosis elevada de 34.000 Leu/ul y 68.000 Leu/ul en el primer y segundo hemoleucograma respectivamente, neutrofilia con presencia de bandas como indicador de desviación a la

izquierda y aunque no se midieron proteínas diferencias (Albumina y Globulinas) en ambos hemogramas se encontró hipoproteinemia lo cual se puede relacionar con la injuria que causa este hemotrópico a nivel del hígado, sitio de síntesis de las proteínas. La enzima ALT se encontró bastante incrementada en 437.80 y 366.67 U/L (valor normal 15-84 U/L). Esta enzima se suele incrementar con facilidad debido a que se encuentra principalmente a nivel del citoplasma de los hepatocitos y cualquier daño en la permeabilidad de la membrana del hepatocito puede provocar su aumento, por tal razón solo se considera significativo su incremento cuando está por encima de dos a tres veces de su valor normal, niveles sobre 300–400 U/L sugieren necrosis hepatocelular moderada y puede presentarse en forma secundaria a disfunción de otros órganos (Hardy, 1983). En este caso la marcada elevación de la ALT puede estar asociada tanto a las alteraciones musculo esqueléticas (ya que la ALT también se localiza a nivel del musculo estriado esquelético) como a las alteraciones a nivel hepático que provoca este hemotrópico. La creatinina se encontró dentro del rango normal para la especie, mientras que para la urea no se realizaron mediciones.

El Diagnóstico molecular por medio de la PCR, es hoy en día la prueba más específica e indicada para la identificación del *Hepatozoon canis*. Sin embargo, cuenta con algunas limitaciones, siendo de difícil acceso en muchas regiones de Colombia que no cuentan con laboratorios dotados con todos los equipos requeridos o simplemente por el alto costo de esta prueba. Por lo cual es necesario recurrir a métodos más tradicionales como lo es el examen microscópico de frotis de sangre, el cual es una técnica simple que se usa con frecuencia para el diagnóstico de esta infección.

En el 2005, se realizó un reporte de caso de *Hepatozoon canis* en Colombia, de un canino de raza Pitbull, al cual se le solicitó un cuadro hemático para determinar las variaciones en la línea celular blanca y al realizar el extendido se encontró un cuerpo ovalado asociado a algunas células de la línea blanca. Se repitió la toma de la muestra considerando la probabilidad de un error analítico o de procedimiento, pues la estructura no era reconocida e inicialmente se consideró como un posible contaminante, encontrándose de nuevo la estructura únicamente asociada a glóbulos blancos, específicamente neutrófilos y monocitos (Arcila et al., 2005).

Con lo anterior se puede decir, que, aunque el frotis de sangre periférica es una de las técnicas más utilizada y de más fácil acceso para el diagnóstico del *Hepatozoon canis*, no es un método diagnóstico tan efectivo, ya que muchas veces el laboratorio no cuenta con el conocimiento para la identificación de los gamontes, considerándolos como artefactos o contaminantes en los extendidos. Por otra parte el porcentaje de positividad en los extendidos de sangre periférica no alcanza el 5%, porque los gamontes no se pueden detectar cuando la parasitemia es muy baja o intermitente, además en la preparación del frotis los gametocitos pueden abandonar la célula del huésped después de extraer la sangre y dejar tras de sí, una capsula vacía difícil de observar sobre el fondo blanco de la preparación, sobre todo si la muestra no se prepara inmediatamente tras la extracción de sangre (Mejía, 2016).

Algunos autores han cuantificado las probabilidades de encontrar una célula parasitada con la capsula de *H. canis*, afirmando que en caso de que el animal presente parasitemia, se encontrarán parasitados solo entre 1 y 2 leucocitos por cada 1000 que se encuentren circulantes. Esto sugiere que los laboratorios clínicos deberían establecer

técnicas moleculares de manera rutinaria ó técnicas alternativas de diagnóstico más eficientes (Martínez & Ruiz, 2018).

En una investigación realizada en una clínica veterinaria ubicada en Esperanza (Santa Fe, Argentina), se realizó la comparación de dos técnicas de microscopía (frotis sangre completa y frotis de capa leucocitaria), en el cual se analizaron un total de 48 muestras, del total de caninos incluidos en el estudio: 12 machos (25%) y 36 hembras (75%), se encontró 8 de ellos positivos a *H. canis*; lo cual corresponde al 16,7% del total de animales muestreados (48), aparentemente sanos. Se identificó el protozooario en solo 3 frotis de sangre entera (6.3%), las demás muestras se diagnosticaron por medio del extendido de capa leucocitaria o buffy coat (16,7%), demostrando ser más eficiente este tipo de técnica para la visualización de los gamontes dentro de los neutrófilos (Martínez & Ruiz, 2016). Por tal razón en el caso de no disponer de PCR se debe realizar citología de capa leucocitaria porque tiene una sensibilidad mayor (70%) en comparación con la evaluación citológica de un frotis sanguíneo rutinario (18%) (Otranto, 2011).

Otra posibilidad diagnóstica es la histopatología o citología de tejidos de órganos hemolinfáticos, en donde pueden detectarse merontes. Se lleva a cabo en médula ósea, bazo e hígado. Este es el caso del estudio realizado por Catherine Mejía en el año 2016, en la cual el análisis histopatológico de una muestra de bazo permitió llegar al diagnóstico definitivo, siendo el bazo el órgano donde más frecuentemente se aloja el parásito; allí se pueden visualizar los merontes maduros de *Hepatozoon spp* con merozoítos en su interior dispuestos en la periferia, llamados “radios de rueda” (Mejía, 2016). La histopatología de órganos hemolinfáticos es una prueba mucho más sensible para el diagnóstico del hepatozoonosis comparada con el frotis sanguíneo, sin embargo

no ha sido muy implementada para diagnosticar esta enfermedad, quizás porque se requiere un procedimiento un poco más invasivo como lo es realizar una laparotomía exploratoria y pocas veces los propietarios acceden a realizarla. Por medio de la histopatología se obtiene un diagnóstico de *Hepatozoon spp*, pero no es posible diferenciar la especie (*H. canis*, *H. americanum*), siendo entonces la biopsia muscular un método confiable para la obtención de un diagnóstico definitivo que permite identificar el meronte de *H. americanum* dentro de una célula hospedera en el centro del quiste, sin embargo este también es un procedimiento invasivo que implica un riesgo quirúrgico (Mejía, 2016).

Integrar otras ayudas diagnosticas permite evidenciar alteraciones asociadas al *Hepatozoon canis* como la Ecografía en donde se suele evidenciar incremento de tamaño de órganos diana como hígado, bazo y ganglios linfáticos(Cala Delgado et al., 2018) . Acorde con la bibliografía encontrada en este paciente también se halló un aumento de tamaño de los nódulos linfáticos mesentéricos y en un principio se determinó que era un hallazgo compatible con linfoma multicéntrico, neoplasia maligna del tejido linfoide, por la afectación de múltiples nódulos linfáticos. Sin embargo este hallazgo no se confirmó y más tarde se determinó que el aumento de tamaño de estos nódulos está asociado a la hepatozoonosis en donde ocurren cambios inflamatorios por la acumulación de células inflamatorias en los sitios donde ocurre la merogonia de *Hepatozoon spp* (bazo, linfonodos, hígado, médula ósea), este acúmulo de células se presenta al momento de la ruptura del meronte y la subsecuente muerte de células hospederas (Mejía, 2016).

La literatura describe las lesiones osteolíticas y reacciones periósticas como manifestaciones clínicas características del *Hepatozoon canis* (Martínez & Ruiz, 2018) . En este caso clínico no se pudo confirmar este hallazgo ya que, aunque el paciente presentaba una debilidad bastante marcada y dificultad para reincorporarse nunca se realizó un estudio radiológico sistemático, para detectar si existían o no reacciones periósticas.

Abordando el manejo de la terapéutica instaurada en el caso clínico y comparándolo con la bibliografía encontrada, se evidencia que el tratamiento sintomático que fue administrado inicialmente fue adecuado, ya que al ingresar a hospitalización se realizó un manejo con : Fluidoterapia, Omeprazol como protector gástrico, Dipirona como analgésico, antipirético y antiinflamatorio, Bonavit como multivitamínico altamente concentrado de Calcio, Fosforo, vitamina A, D3 , vitaminas del Complejo B, y como estimulante del apetito. Además Hemolitan, el cual es un suplemento especial que contiene vitaminas y oligoelementos que favorecen la producción de células sanguíneas, dada la anemia marcada que presentaba el paciente y se implementó tanto alimentación asistida como alimentación por sonda. Sin embargo no se implementó ningún antibiótico para el tratamiento de este hemotrópico, sino hasta el quinto día de hospitalización, que se administró la primera y única dosis de Dipropionato de Imidocarb. Todo esto se debe a que la clínica del paciente era bastante inespecífica como ha sido mencionado anteriormente, además del tiempo de espera en la autorización de la prueba PCR por parte de la propietaria.

La selección del tipo de alimento para la alimentación vía sonda nasogástrica fue correcto, porque la lata Urgent care a/d de Hill's cuenta con componentes necesarios

para suplir el requerimiento energético de este paciente como grasa y proteína en alta cantidad, también cuenta con numerosos antioxidantes que fortalecen el sistema inmunológico y contiene vitamina B y Zinc para apoyar el estado de convalecencia en el que se encontraba este paciente. Además, posee importantes niveles de potasio, electrolito importante para contrarrestar el desgaste a nivel musculo esquelético que genera la hepatozoonosis (Tabla 5). (Hill's pet nutrition, 2018)

Tabla 5. Componentes Analíticos Urgent care a/d Hill's

Componentes Analíticos	%	UI/KG
Proteína	10.6	
Grasa	7.9	
Fibra bruta	0.02	
Ceniza bruta	2.4	
Humedad	76.0	
Ácidos gramos omega 3	0.6	
Ácidos grasos omega 6	1.6	
Calcio	0.30	
Fósforo	0.28	
Sodio	0.21	
Potasio	0.28	
Magnesio	0.03	
Vitamina A		47.277
Vitamina D3		369

Fuente: (Hill's Pet Nutrition, 2018)

La fórmula de alta del paciente contó con algunos ajustes necesarios para mejorar el cuadro del paciente, entre ellos se le instauro Dexametasona (0.9mg/kg) SID, IV, para controlar la inflamación y evitar depósito de inmunocomplejos en hígado, riñones, pulmones y médula ósea, Oxitetraciclina (10mg/kg) SID, IV, como antibiótico indicado para el manejo de hemoparásitos , Azatriopina (2mg/kg) como inmunomodulador y Silimarina (15mg/kg) como coadyuvante en el tratamiento de la disfunción hepática generada por el hepatozoon canis dado los altos niveles de la ALT .

Por otra parte en el primer hemoleucograma realizado el 18 de marzo del 2021 el paciente presentaba un hematocrito del 20% y aunque según los resultados del

hemograma podemos determinar que se trataba de una anemia macrocítica hipocrómica regenerativa por la presencia de reticulocitos los cuales son eritrocitos inmaduros que salen a circulación como respuesta de la médula ósea frente a la anemia, el hematocrito no mejoró, por el contrario en el hemograma de control realizado el 22 de marzo ya se encontraba en un 11%. Según la literatura en anemias crónicas el paciente suele compensar bien la anemia sin necesidad de transfusión, pero cuando se tienen Hematocritos de 12-15% en perros ya es necesario realizar una transfusión (Fragió et al., 2009), por lo cual se considera que este era un paciente apto para transfusión y tal vez esta anemia tan marcada influyó en el desenlace fatal del paciente. En este caso no se realizó una transfusión sanguínea, ya que es un procedimiento muy costoso y la propietaria no contaba con los medios económicos necesarios.

Otra alternativa para tratar las anemias y que no fue considerada para este paciente es la administración de hierro parenteral. Múltiples ensayos han demostrado una respuesta eritropoyética más rápida y prolongada con hierro parenteral que con suplementos orales como el hemolitan que se administró en este paciente. El hierro intravenoso posee una rápida biodisponibilidad para la eritropoyesis y acelera la recuperación de la anemia, su efecto eritropoyético se manifiesta a partir del día 7 al 10 de tratamiento, y se consigue una respuesta positiva en 2 a 4 semanas. La administración de hierro intravenoso consigue concentraciones máximas plasmáticas de hierro a los 10 minutos, incorporación de hierro a la médula ósea en menos de una hora y una tasa de utilización para la eritropoyesis del 59 al 99% a las 4 semanas (González et al., 2009). En los caninos el hierro dextrano es muy utilizado, se puede manejar a una dosis de 10-20mg/kg por vía intramuscular o intravenosa continuando con la terapia de hierro oral.

Se suele preferir la vía intramuscular para la aplicación de preparaciones de hierro debido a que por la vía intravenosa se han provocado muchas reacciones anafilácticas, de igual manera se debe inyectar una pequeña dosis de hierro IM para detectar reacciones de hipersensibilidad (Mederilab, 2020).

Con respecto a la eficacia de los fármacos comúnmente utilizados para el tratamiento de la hepatozoonosis canina, se ha determinado que a pesar de que el dipropionato de imidocarb es el fármaco recomendado para la hepatozoonosis, su utilización no garantiza la cura parasitológica. En un ensayo realizado por Ogunkoya en 1981, se logró la eliminación de los gamontes de la sangre de perros en el 98% de los casos dentro de las 24 horas posteriores a la administración de una única dosis. Sin embargo, en muchos casos se produjo la reaparición de la parasitemia pocas semanas después. También se ha estudiado el dipropionato de imidocarb en asociación con otras drogas con pobres resultados administrando en forma conjunta (Guendulain et al., 2017).

Mediante el uso de toltrazuril también se han demostrado resultados dispares en el tratamiento de las infecciones por Hepatozoon. Beauflis et al en 1996 utilizó en perros infectados (10 mg/kg), por vía oral, durante seis días, ocurriendo la remisión de los signos clínicos y la normalización de los parámetros hematológicos, pero no se eliminó la infección. Con respecto al uso del toltrazuril en asociación con otras drogas Voyvoda et al en 2004 utilizaron con éxito toltrazuril con trimetoprim-sulfametoxazol en un caso clínico, aunque el tratamiento con trimetoprim-sulfametoxazol se realizó durante 25 días y debió repetirse el toltrazuril, ya que en la primera administración no se logró la eliminación completa del parásito (Guendulain et al., 2017).

Por otra parte, Pasa et al en el 2011 realizaron un estudio usando una asociación de dipropionato de imidocarb y toltrazuril en seis perros, concluyendo que la incorporación de toltrazuril no produjo un beneficio adicional con respecto a la terapia con dipropionato de imidocarb como única droga (Guendulain et al., 2017).

Conclusiones

Las enfermedades causadas por hemotrópicos son cada día más comunes en nuestro medio, causando una sintomatología bastante similar en todos los casos, lo que hace que el diagnóstico clínico de la enfermedad sea tan complicado y por ende sea indispensable recurrir a diferentes pruebas o análisis de laboratorio. En el caso de la hepatozoonosis siempre que sea posible lo más indicado es realizar una PCR, ya que no se puede concluir que, si no se observan gamontes circulantes en el extendido de sangre periférica, los pacientes ya han eliminado la infección porque ésta puede persistir con muy baja parasitemia.

Es un hecho que las condiciones climáticas de nuestro país favorecen la adaptabilidad y reproducción de la garrapata *Rhipicephalus sanguineus* vector del *H. canis*, por lo cual es clave la educación y compromiso de los propietarios con el cumplimiento de los protocolos sanitarios de las mascotas y la implementación de métodos preventivos como collares, pipetas, desparasitaciones y fumigaciones periódicas.

Realizar un diagnóstico temprano de la enfermedad, mediante un examen clínico completo, una anamnesis detallada y un buen método diagnóstico de laboratorio, permite realizar un correcto abordaje terapéutico de la enfermedad y favorecer la evolución y pronóstico para el paciente.

El Dipropionato de Imidocarb es el fármaco más usado y con mejor respuesta en el tratamiento de hepatozoonosis canina, aun así hasta la fecha ningún tratamiento ha logrado disminuir por completo la infección parasitaria, aunque si es posible lograr la remisión de los signos clínicos. Por todo esto se destaca la importancia de realizar más

investigaciones con el fin profundizar sobre el uso de los fármacos actualmente utilizados u otros fármacos para el tratamiento de esta enfermedad.

Referencias Bibliográficas

- Arcila, V. H., Castellanos, V., Díaz, S., & Sánchez, M. (2005). Hepatozoon canis en Colombia. *Rev Spei Domus*, 1, 40-45.
- Ardila, A. M., Cala, F. A., Vargas, G., Arcila, V. H., & Castellanos, V. (2007). Reporte de casos clínicos con Hepatozoon canis en el Centro Médico Quirúrgico Veterinario de la Universidad Cooperativa de Colombia. *Redvet. Revista electrónica de Veterinaria*, 8(5), 1-12.
- Adagio, L., Miguel, M., Meder, A., Rio, F., Giménez, M., Hierro, J., & Palezza, J. (2017). Hepatozoonosis canina. Primeros 4 casos documentados en la Ciudad de General Pico-Provincia de La Pampa-Argentina/Canine Hepatozoonosis. First four cases documented in General Pico-La Pampa province–Argentina. *Ciencia Veterinaria*, 16(2), 9-22
- Baneth, G. H. (2008). Infección por Hepatozoon canis. *Greene, CE Enfermedades infecciosas del perro y el gato*, 3, 766-73.
- Baneth, G., Barta, J., Shkap, V., Martin, D., Macintire, D., & Vincent-Johnson, N. (2000). Genetic and antigenic evidence supports the separation of Hepatozoon canis and Hepatozoon americanum at the species level. *Journal of clinical microbiology*, 38(3), 1298-1301.
- Castellano, Vilma. (2008). Hepatozoonosis canina, enfermedad emergente en Colombia. *Spei Domus*, 4, (9), 1-3. Recuperado de wb.ucc.edu.co/sdmvz/files/2013/06/articulo-1-vol-4-n-9.pdf

- Cala Delgado, D. L., Noguera Gaona, A. K., Álvarez Rubio, N. C., & Aguinaga, J. Y. (2018). Primeros casos de infección canina con *Hepatozoon canis* en la ciudad de Cúcuta, Colombia. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 29(4), 1562-1570.
- Caffe G. Diagnóstico de *Hepatozoon canis* en barrios periféricos de la Ciudad de Córdoba; Tesis de Especialidad en Clínica de Pequeños Animales. Universidad Católica de Córdoba. 2013
- Cairó Vilagran, J., Font Grau, J., Gorraiz, J., Martín, N., Pallisera, M., & Pons, C. (1994). Hepatozoonosis canina. Estudio retrospectivo de 8 casos clínicos. *Clínica veterinaria de pequeños animales*, 14(1), 0035-46.
- Ewing, S. A., & Panciera, R. J. (2003). American canine hepatozoonosis. *Clinical microbiology reviews*, 16(4), 688-697.
- Fragío, C., Daza, M., & García, E. (2009). Transfusiones sanguíneas en perros y gatos. *Clínica veterinaria de pequeños animales*, 29(4), 0229-238.
- González, Z. M., Barrasa, A. G., Lorenzo, L. R., & Renau, A. R. (2009). Hierro intravenoso. *Cirugía Española*, 86(4), 196-203.
- Guendulain, C., González, G., Babini, S., Caffaratti, M., González, P., Bessone, A., ... & Tissera, M. C. (2017). Evaluación de la eficacia de algunos fármacos para el tratamiento de la hepatozoonosis canina. *Analecta Veterinaria*, 37(1), 002-002.
- Hardy, R.M. (1983). Disease of the liver. Textbook of Veterinary Interna Medicine Ed. Ettinger S.J. p 1372–1434 Saunders. Philadelphia.
- Hill's pet nutrition. (2018). Hill's prescription diet a/d alimento para perros y gatos con pollo.

- Jiménez Celis, J. W. (2021). Actualización epidemiológica de hemoparásitos y sus efectos clínicos en animales de compañía (Doctoral dissertation, Universidad Cooperativa de Colombia, Facultad de Ciencias Económicas, Administrativas y Contables, Medicina Veterinaria y Zootecnia, Bucaramanga).
- Linares, M. C., & Cuervo, P. (2011). *Hepatozoonosis canina en la provincia de Mendoza, Argentina. Hallazgos clínicos y de laboratorio* (Doctoral dissertation, Tesis de grado. Facultad de Ciencias Veterinarias y Ambientales, Universidad Juan Agustín Maza).
- Martínez, D. M. P., Ruiz, M. F., & Muñoz, J. I. (2018). Diagnóstico de hepatozoon canis en caninos domésticos de esperanza (fcv-unl)(santa fe), Argentina. *Zoociencia*, 5(2), 1-11.
- Mateus, A., Cala, F., Vargas, G., Arcila, V., Castellanos, V. (2007). Reporte de casos clínicos con hepatozoon canis en el centro médico quirúrgico veterinario de la universidad cooperativa de colombia. *Redvet*, vol. viii (5), 1 – 12.
- Mederilab. (2020). Deficiencia de hierro en perros y gatos. Recuperado de <https://mederilab.com/deficiencia-de-hierro-en-perros-y-gatos/>
- Mejía Valencia, C., & Acevedo Naranjo, C. M. (2016). Diagnóstico histopatológico de esplenitis no supurativa en un canino producida por hepatozoon spp. Un reporte de caso.
- Meder, A., L, A., & Miguel, M. (2015). Hepatozoonosis. Recuperado de <https://www.vetcomunicaciones.com.ar/uploadsarchivos/hepatozoonosis.pdf>

National human genome research institute. (2019). Secuenciación del ADN.

Recuperado de <https://www.genome.gov/es/about-genomics/factsheets/Secuenciacion-del-ADN>

Otranto, D., Dantas-Torres, F., Weigl, S., Latrofa, M. S., Stanneck, D., Decapariis, D., ... & Baneth, G. (2011). Diagnosis of *Hepatozoon canis* in young dogs by cytology and PCR. *Parasites & vectors*, *4*(1), 1-6.

Palomeque, S. M. (2019). *Hepatozoonosis canina: hallazgos hematológicos y bioquímicos en perros de la ciudad de Córdoba, Argentina* (Doctoral dissertation, Universidad Nacional de La Plata).

Pérez Tort, G., & Petetta, L. (2012). Estudio de 50 casos de hepatozoonosis en caninos naturalmente infectados en el Gran Buenos Aires, Argentina. *Veterinaria Argentina*, *24*(293), 1-10.

Roche. (2019). Laboratorio de diagnóstico molecular. Recuperado de https://www.roche.com.ar/es/productos/diagnostica/diagnostico_de_laboratorio/laboratorio_de_diagnostico_molecular.html

Santillan, O., & Checa, A. (2018). Método: digestión por enzimas de restricción.

Recuperado de <http://conogasi.org/articulos/metodo-digestion-por-enzimas-de-restriccion/>

Sasanelli, M., Paradies, P., Greco, B., Eyal, O., Zaza, V., & Baneth, G. (2010). Failure of imidocarb dipropionate to eliminate *Hepatozoon canis* in naturally infected dogs based on parasitological and molecular evaluation methods. *Veterinary parasitology*, *171*(3-4), 194-199.

Taylor, M., Coop, R., & Wall, R. (2016). *Veterinary Parasitology*, 4th edn: Wiley Blackwell.

Valencia, L. (2016). Revisión de tema en ehrlichiosis y hepatozoonosis canina; y comparación con un posible caso de co-infección en un paciente canino atendido en la Clínica Veterinaria Lasallista hermano Octavio Martínez López f.s.c. *Lasallista*, 36. Published. Recuperado de http://repository.lasallista.edu.co/dspace/bitstream/10567/1824/1/Revision_ehrlichiosis_hepatozoonosis_canina.pdf