

UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO HENRIQUEZ UREÑA

**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
Y RECURSOS NATURALES
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA**

INVESTIGACIÓN POR MEDIO DE FROTIS SANGUÍNEO DEL PROTOZOO
HEPATOZOOON SPP. EN CANINOS EN LA CIUDAD DE SANTO DOMINGO, R.D.



TRABAJO DE GRADO
PRESENTADO POR:

ABDIEL D. REYES DÍAZ
WILMARIE MIRANDA MELÉNDEZ

PARA LA OBTENCIÓN DE TÍTULO DE
DOCTOR EN MEDICINA VETERINARIA

SANTO DOMINGO, D.N

2018

Índice

Introducción.....	i
-------------------	---

Objetivos.....	iii
----------------	-----

CAPÍTULO I

Primera parte: Revisión de Literatura

A. Antecedentes.....	1
B. Generalidades.....	4
C. Taxonomía del Parásito.....	5
D. Etiología.....	5
E. Epidemiología.....	6
F. Ciclo de Vida.....	6
G. Transmisión.....	8
H. Taxonomía del Vector (<i>R. sanguineus</i>).....	8
I. Taxonomía del Vector (<i>A. maculatum</i>).....	9
J. Signos Clínicos.....	9
K. Lesiones.....	11
L. Diagnóstico.....	11
M. Diagnóstico Diferencial.....	12
N. Tratamiento.....	12
O. Prevención y Control.....	13
P. Importancia Médica y Veterinaria.....	13

CAPÍTULO II

Segunda Parte: Materiales y Métodos

A. Localización del Estudio.....	15
B. Tamaño de la Muestra.....	15
C. Selección de la Muestra.....	16
D. Equipo y Materiales.....	16
E. Metodología para la Toma de Muestras.....	17
F. Procesamiento de Muestra.....	17

CAPÍTULO III

Tercera Parte: Resultados

A. Resultados.....	19
--------------------	----

CAPITULO IV

Cuarta parte: Discusión

A. Discusión.....	21
-------------------	----

CAPITULO V

Quinta parte: Conclusión y Recomendaciones

A. Conclusión.....	23
--------------------	----

B. Recomendaciones.....	24
-------------------------	----

CAPITULO VI

Sexta Parte: Referencias Bibliográficas

A. Bibliografía.....	25
----------------------	----

B. Fuentes No Literarias.....	25
-------------------------------	----

CAPÍTULO VII

Séptima Parte: Anexos

Anexos.....	28
-------------	----

Introducción

Hoy día, las garrapatas son una de las causas principales de enfermedades parasitarias presentadas en las clínicas veterinarias alrededor del mundo e incluso, se han reportado muchos casos de enfermedades zoonóticas transmitidas por las mismas entre las que se encuentran: Enfermedad de Lyme, Ehrlichiosis, Anaplasmosis, Babesiosis y Fiebre Maculosa de las Montañas Rocosas, etc.

La Hepatozoonosis es una enfermedad parasitaria causada por un protozoo parásito sanguíneo, *Hepatozoon spp*, dentro del cual se han evidenciado dos especies que afectan principalmente al perro, aunque han sido descritas también en coyotes, felinos, hienas y chacales, estas son: *Hepatozoon canis*, quien tiene como huésped definitivo a la garrapata *Rhipicephalus sanguineus* y el *Hepatozoon americanum* quien tiene como huésped definitivo a la garrapata *Amblyoma maculatum*. Ambas transmiten la enfermedad al ser ingeridas por el huésped intermediario.

La Hepatozoonosis ha sido descrita en diversos países de los cinco continentes entre ellos, Estados Unidos, Argentina y España, pero aún no ha sido investigada en República Dominicana. Entendemos que debido a la existencia de la garrapata *Rhipicephalus sanguineus* en el país y a que la enfermedad provocada presenta una signología similar a enfermedades como la *Ehrlichia canis* y *Anaplasma spp.*, la misma debería ser estudiada no sólo para determinar su existencia en el país, sino para poder llegar a un diagnóstico correcto y más aún, por la cantidad de casos sospechosos de *Ehrlichia canis* con resultados negativos en los análisis realizados. De igual modo debemos mencionar que a pesar de que no se ha demostrado la existencia de la garrapata *Amblyoma maculatum* en República Dominicana, no debemos excluirla como posible

vector en el país, puesto que la misma ha sido reportada fuera de los estados donde ha sido reconocida, esto por causa de la relocalización de perros infectados provenientes de áreas endémicas.

Es de nuestro interés llevar a cabo una investigación en la que podamos establecer la posible existencia del *Hepatozoon spp.* en la ciudad de Santo Domingo, RD, determinando así el posible hallazgo de la enfermedad producida por el mismo y de este modo formar un pilar para futuras investigaciones

Objetivos

A. Objetivo primario:

- Determinar la presencia del *Hepatozoon spp.* en caninos en la Ciudad de Santo Domingo, República Dominicana utilizando la técnica de frotis sanguíneo bajo el método de capa buffy.

B. Objetivos secundarios:

- Determinar los signos clínicos y lesiones más observadas en animales positivos a *Hepatozoon spp.*
- Determinar los cambios en la analítica sanguínea de los animales que resultaron positivos.
- Confirmar por PCR la especie del *Hepatozoon* utilizando una muestra de los casos positivos.
- Reportar todo caso positivo a otros parásitos encontrados durante el frotis sanguíneo.

CAPÍTULO I

Revisión Literaria

A. Antecedentes

El *Hepatozoon canis* se describió por primera vez a principios del siglo XX. La primera observación de un parásito intraleucocitario de mamíferos fue hecha por Bentley, en la India en 1904, que publicó una "nota preliminar sobre un leucocitoozo del perro". A partir de la información de Bentley, James en el 1905 examinó la sangre de los perros y encontró el parásito en seis de los 45 animales. Hizo una descripción detallada de la morfología de los parásitos sanguíneos y observó que los perros estaban poco afectados por los parásitos y estaban en buen estado de salud. Hasta ese momento, no se habían descrito parásitos leucocitarios en mamíferos, sólo en aves. Dado que los parásitos encontrados tenían afinidades con las hemogregarinas y representaban un parásito completamente desconocido, sugirió el nombre *Leucocytozoon canis* para la nueva especie. (10, 14)

Poco después, Gerrard (1906) describió un caso de un cachorro enfermo, infectado con *L. canis*. No fue capaz de confirmar o negar si los síntomas presentados por el perro resultaron de la infección. Además, este autor informó que un cachorro saludable que se colocó junto con el perro infectado se enfermó y se infectó con *Leucocytozoon*. Como había muchas garrapatas en el perro enfermo y se encontró una garrapata en el cachorro, sugirió la posibilidad de que las garrapatas fueran los vectores de este nuevo parásito. Fue el primero en asociar las garrapatas con *Leococytozoon canis*. (10)

La infección por *Leucocytozoon canis* se había detectado generalmente en perros

jóvenes descuidados, que desarrollaron una enfermedad grave. Se han descrito formas de desarrollo en la médula ósea de los perros y en el intestino de las ninfas de *Rhipicephalus sanguineus* extraídas de perros fuertemente infectados. Posteriormente, Christophers (1907) confirmó que *R. sanguineus* era el huésped invertebrado de *L. canis*, y describió el ciclo sexual y asexual en esta garrapata. (5)

Miller (1908) describió una hemogregarina intraleucocítica de ratas de laboratorio que se sometieron a gametogénesis y esporogonia en el hemocele del ácaro *Laelaps echidninus*, y lo denominaron *Hepatozoon perniciosum*. Esta fue la primera descripción del género *Hepatozoon*. (6)

Siguiendo a Miller (1908), Wenyon (1910) sugirió que el nombre genérico *Leucocytozoon* debería ser cambiado a *Hepatozoon*, cuando se usa para parásitos de mamíferos. Así, el parásito de leucocitos en perros tuvo su nombre cambiado de *Leucocytozoon canis* a *Hepatozoon canis*, y este último se sigue utilizando hoy día. (7)

A principios del siglo XX, se estudió el ciclo biológico de *H. canis* en las garrapatas (el vector biológico) y en los tejidos de los perros (1906, 1911). En las garrapatas, Christophers (1906, 1907) distinguía las formas de desarrollo que precedieron a la reproducción sexual. Fue el primero en sugerir que la infección se produce después de la ingestión accidental de la garrapata.

Wenyon (1911) no observó el proceso de conjugación en el intestino de las garrapatas, pero siguió la formación de grandes ooquistes (100 µm), con 30 a 50 esporocistos y 16 esporozoitos dentro del hemocele de garrapatas. Este autor pensó que la infección y la transmisión ocurrieron a través de las garrapatas adultas, pero Christophers en 1912, demostró que la etapa de la ninfa adquiere la infección de perros infectados,

mientras que los adultos transmiten los protozoos. Posteriormente, se reconoció una especie (*H. canis*) que infectó perros en Europa, África, Asia y los Estados Unidos. (8)

Se suponía que la especie encontrada en USA era una cepa particularmente virulenta de *H. canis*. En 1997, se reconoció una nueva especie infectando perros en los Estados Unidos: *H. americanum*. Las dos especies, *H. canis* y *H. americanum*, tienen diferentes estadios tisulares, síndromes clínicos, vectores y características genéticas y antigénicas.

La infección por el *Hepatozoon canis* puede presentar esquizontes en el bazo, el hígado, los ganglios linfáticos, el riñón, el páncreas, los pulmones y la médula ósea. El estadio de tejido más común de *H. americanum* es un gran quiste, que se encuentra con mayor frecuencia en músculo esquelético. (18)

En el *H. canis* la mayoría de los perros con gametocitos circulantes son asintomáticos. Sin embargo, con parasitemia severa o infección concurrente, los perros pueden presentar fiebre, caquexia, esplenomegalia, anemia y letargo. En la infección con *H. americanum* los signos caracterizados son: fiebre, dolor muscular, rigidez, secreción ocular y pérdida de peso. Las anomalías de la marcha varían desde la rigidez hasta el recostado total. La enfermedad tiene un curso crónico. La muerte ocurre generalmente dentro de 12 meses.

El *H. canis* es más comúnmente diagnosticado mediante la búsqueda de gametocitos circulantes en un frotis sanguíneo completo o de capa leucocitaria, mientras que *H. americanum* es más comúnmente diagnosticado al encontrar quistes o piogranulomas en una muestra de biopsia muscular. (18)

B. Generalidades

La Hepatozoonosis es una enfermedad parasitaria causada por protozoarios del género *Hepatozoon spp.* que afecta principalmente al perro, además de otras especies animales. Los huéspedes definitivos son las garrapatas *Rhipicephalus sanguineus* y *Amblyoma maculata*, quienes transmiten la enfermedad al estas ser ingeridas por el huésped intermediario. Los signos clínicos generados por la hepatozoonosis son inespecíficos y similares a los producidos por otras enfermedades infecciosas de mayor incidencia en la población canina del país como lo son la Ehrlichiosis y la Babesiosis. Sus manifestaciones son más graves en cachorros de menos de 1 año de edad y en perros gerontes.

La infección de *Hepatozoon canis* entre los perros está muy extendida. Su distribución corresponde a la presencia de su vector, la garrapata del género *Rhipicephalus sanguineus*: África, Sur de Europa, América del Sur y Asia, incluyendo Oriente Medio, Las islas del Océano Pacífico y el Océano Índico. Los estudios iniciales sobre la seroprevalencia de *Hepatozoon canis* en perros mostraron una variedad de porcentajes: 36% en Portugal, 17,6% en Nigeria, 2,5% en la India, 2,3% en Israel, 2,1% en Tailandia, debido a su frecuencia asintomática. (11, 12, 13, 19)

La distribución del huésped definitivo y del vector del *Hepatozoon americanun* se ha limitado históricamente a las áreas de la costa del Golfo y el sur de la Costa del Atlántico de Norte América. Recientemente, el rango ha aumentado extendiéndose aún más hacia el norte del Golfo y el patógeno ha sido reportado fuera de los estados, presuntamente debido a la relocalización de perros infectados provenientes de áreas endémicas.

C. Taxonomía

Reino: Protista

Subreino: Protozoa

Phylum: Apicomplexa

Clase: Telosporasida

Subclase: Coccidiasina

Orden: Eucoccidiorida

Suborden: Adeleorina

Familia: Haemogregarinidae

Género: Hepatozoon

Especies (caninos): *Hepatozoon americanum*

Hepatozoon canis

D. Etiología

La Hepatozoonosis es una enfermedad causada por un protozoo llamado *Hepatozoon spp.* que se transmite por garrapatas. Se han descubierto aproximadamente 19 especies de las cuales dos son patógenas en caninos: *Hepatozoon canis* y *Hepatozoon americanum*. (1)

Los gametocitos del *H. canis* se encuentran en el citoplasma de monocitos y neutrófilos (Img.1). Se observan en forma de cuerpos de inclusión transparentes o ligeramente con una tinción basofílica, desplazando ligeramente el núcleo de la célula hospedadora. Los gametocitos tienen forma elipsoidal y su tamaño oscila entre 8 y 12 μm de largo por 3 y 6 μm de diámetro y con un núcleo central. Todas las coloraciones clásicas (Giemsa)

o rápidas (Diff-Quick) tiñen con gran claridad los gametocitos.

E. Epidemiología

La Hepatozoonosis se encuentra distribuida en todos los continentes, y es endémica de todos los países que alberguen la garrapata *Rhipicephalus sanguineus*.

El *Hepatozoon canis* se ha encontrado en lugares como Portugal, Francia, Nigeria, India, Israel, Tailandia, America del Sur (Argentina, Brasil, Venezuela) (Img. 3), México, Caribe (Granada).

El *Hepatozoon americanum* se ha encontrado en Texas, Oklahoma, Louisiana, Alabama, Tennessee, Georgia, Florida, California y Washington.

F. Ciclo de Vida

Consta de tres fases: esporogonia, esquizogonia y gametogonia. El ciclo evolutivo inicia cuando el perro ingiere accidentalmente la garrapata *Rhipicephalus sanguineus* (por medio de mordeduras y lamidos) contaminada con ooquistes de *Hepatozoon canis*. Los esporozoitos son liberados de los ooquistes en el intestino delgado del perro. Luego atraviesan la barrera intestinal y a través de la sangre o la linfa en su forma libre se diseminan por todo el organismo: pulmón, bazo, ganglios linfáticos, músculos, etc. (Fig.3)

En cada uno de estos órganos, los esporozoitos penetran en las células hospedadoras: macrófagos o células endoteliales. En su interior el esporozoito se transforma en esquizonte.

La evolución del parásito es la misma en los diferentes tejidos. Hay dos tipos de esquizontes: los macroesquizontes y los microesquizontes. Si el esquizonte se transforma

en macroesquizonte en el interior de las células hospedadoras, a la muerte de éstas se liberan los merozoitos que colonizan de nuevo otras células hospedadoras produciéndose macroesquizontes, formando así un ciclo de esquizogonia. (4)

El número de ciclos de esquizogonia puede ser ilimitado. Los esquizontes pueden también evolucionar a microesquizontes que una vez liberados del interior de las células hospedadoras darán lugar a los micromerozoitos. Éstos al penetrar en el interior de los leucocitos, formarán los gametocitos, apareciendo en la sangre circulante del perro. Esta es la fase más conocida y que observan en los frotis sanguíneos de un animal parasitado. Cuando los leucocitos parasitados son ingeridos por *Rhipicephalus sanguineus*, en el interior de la garrapata se liberan los gametocitos. La unión de dos gametos forma un cigoto móvil, que atraviesa la pared intestinal de la garrapata y se aloja en el hemocele transformándose en un cigoto que se desarrollará para dar lugar a un ooquiste maduro. En su interior contiene 30/50 esporoquistes y cada uno de éstos encierra alrededor de 16 esporozoitos. (4)

El ciclo de vida de *Hepatozoon americanum* es esencialmente el mismo, excepto que el huésped de garrapata definitivo es *Amblyoma maculatum*, El gametocito es idéntico en apariencia, pero la parasitemia generalmente afecta a <0,1% de los leucocitos. Por el contrario, la parasitemia es un hallazgo común en perros con *H. canis*, y 1-90% de leucocitos pueden ser infectados. Otra diferencia en el ciclo de vida de *H. americanum* es la presencia de una fase de tejido quístico que no se observa en las infecciones por *H.canis*.(17)

Se ha estimado que cada perro ingiere aproximadamente 9.100 esporozoitos de *H. canis* por cada garrapata infectada, la cual contiene un promedio de 17 ooquistes. (11)

G. Transmisión

La transmisión natural del *Hepatozoon spp.* se produce cuando el perro ingiere de forma accidental el vector infectado, ya sea la garrapata *Rhipicephalus sanguineus* (*H. canis*) o la garrapata *Amblyoma maculatum* (*H. americanum*). Al momento no se han observado casos de transmisión a través de picaduras ni por vía trans-mamaria. Sin embargo, la presencia de gametocitos o gamontes del *H. canis* ha sido detectada en cachorros de 16 a 60 días de nacidos estando estos libres de garrapatas, lo que sugiere su transmisión por vía placentaria. (19)

H. Taxonomía del Vector: *Rhipicephalus sanguineus*

Reino: Animal

Phylum: Artrópoda

Sub-phylum: Chelicera

Clase: Aracnida

Grupo: Parasitiformes

Orden: Acarina

Suborden: Ixodoidea

Familia: Ixodidae

Género: *Rhipicephalus*

Especie: *Rhipicephalus sanguineus*

I. Taxonomía del Vector: *Amblyoma maculatum*

Reino: Animal

Phylum: Artropoda

Sub-phylum: Chelicera

Clase: Aracnida

Grupo: Parasitiformes

Orden: Acarina

Suborden: Ixodoidea

Familia: Ixodidae

Género: *Amblyoma*

Especie: *Amblyoma maculatum*

J. Signos Clínicos

Es difícil diferenciar cuáles son los signos clínicos de la hepatozoonosis y cuáles los de las otras enfermedades asociadas. Algunos autores consideran al *Hepatozoon canis* como asintomático y su diagnóstico ocurre mayormente de forma casual o en exámenes rutinarios realizados para confirmar otras enfermedades. La fiebre persistente e intermitente, letargia, pérdida de peso, anemia y leucocitosis, son los signos que con mayor frecuencia aparecen. Ante la presencia del *Hepatozoon americanum* los signos más comunes reportados son la diarrea, anorexia, abatimiento, dolor generalizado, paresis o parálisis lumbar y supuración oculo-nasal, anemia, leucocitosis extrema, elevación en la fosfatasa alcalina y niveles bajos de glucosa en sangre. El dolor generalizado provoca que los perros algunas veces sean incapaces de desplazarse y se quejan a la mínima

manipulación. Esta hiperestesia puede ser debida a las reacciones periósticas o a la inflamación muscular. En general la fiebre no responde a un tratamiento antibiótico, y oscila entre 39,4 – 40,8 °C, pudiendo ser la causa de la letargia. (1, 2)

La anorexia y la pérdida de peso van íntimamente relacionadas, pero en los casos crónicos, la Hepatozoonosis es una enfermedad que produce caquexia del animal. Esta enfermedad presenta una evolución de tipo cíclico. El perro puede presentar episodios de aparente remisión sin tratamiento alguno, pero posteriormente vuelven a aparecer períodos de recaída clínica sin causa aparente. Si el animal se recupera, los períodos asintomáticos son cada vez más largos, y si empeora más cortos. (1)

Dentro de los hallazgos de laboratorio clínico se encuentran:

- Anemia - por lo general normocítica normocrómica regenerativa.
- Leucocitos - puede estar dentro del rango normal o con leucocitosis leve.
- Eosinofilia - es la alteración más común que se observa.
- Linfocitosis
- Neutrofilia
- Monocitosis
- Trombocitopenia - se produce en aproximadamente un tercio de los perros.
- Hiperproteinemia con hiperglobulinemia e hipoalbuminemia.
- La anorexia o la disminución de la ingesta de proteínas y/o pérdida glomerular considerable debida a una glomérulo nefritis.
- Aumento en la actividad de la fosfatasa alcalina (FAS-ALP).
- Aumento de la creatina cinasa (CK) por daño muscular.

K. Lesiones

Las lesiones macroscópicas son poco específicas: adelgazamiento, atrofia muscular, caquexia y a veces adenopatías, hepato y/o esplenomegalia, congestión pulmonar, reacciones periósticas en los huesos largos. No existe relación entre la duración de la enfermedad y el tipo o gravedad de las lesiones óseas. Durante la evolución de este proceso patológico algunas lesiones desaparecen y otras se instauran nuevamente. Los esquizontes pueden encontrarse en diversos órganos y en el tejido muscular estriado, liso y cardíaco en diferentes estadios de evolución. A veces existen lesiones necróticas con infiltrado de células polinucleares. Se han descrito depósitos de sustancia amiloide en riñón y bazo. (5)

L. Diagnóstico

El diagnóstico definitivo de *Hepatozoon spp.* se puede realizar por medio de frotis sanguíneo o biopsia del tejido muscular. En el frotis de sangre periférica teñido por método rápido Diff-Quick o Bio-Wright, se pueden visualizar los gametocitos en el interior del citoplasma de los neutrófilos o monocitos parasitados. El grado de parasitemia es muy variable, pero un frotis negativo no puede descartar la existencia de Hepatozoonosis. La biopsia de tejido muscular puede ser necesaria para diagnosticar la enfermedad. En ella se pueden visualizar micro y macromerozoitos, así como piogranulomas no encapsulados. Existe una serie de signos hematológicos entre lo que se encuentran: leucocitosis con neutrofilia y desviación a la izquierda, presencia de monocitosis, eosinofilia inconstante y anemia de tipo no regenerativo. Los valores bioquímicos en sangre que pueden estar alterados son: la urea (en casos en los que exista

una insuficiencia renal), la glucosa (normal o algo disminuida).

Aún cuando exista inflamación del tejido muscular, la C.P.K. (creatín-fosfoquinasa) suele ser normal. Las fosfatasas alcalinas sufren un ligero aumento. La albúmina desciende y el fósforo inorgánico aumenta.

El diagnóstico clínico, basado en la historia, la exploración física y los signos clínicos, sólo puede ser sugerente de la enfermedad. “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.” (8)

M. Diagnóstico Diferencial

Al ser una enfermedad que no presenta signología 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 enfermedades como leishmaniosis, ehrlichiosis, babesiosis, filariosis, parásitos intestinales, meningitis, discospondilitis, poliartritis, panosteitis, etc. Los signos radiográficos pueden ser muy evidentes o inexistentes. En las inserciones musculares de los huesos se produce una proliferación perióstica manifiesta. Pueden aparecer en los huesos largos y en la columna vertebral, siendo más frecuentes en perros menores de un año, que en perros viejos. (1, 2)

N. Tratamiento

Un gran número de productos antiprotozoos, así como antibióticos, han sido utilizados para el tratamiento de la Hepatozoonosis. Actualmente parece ser que la

combinación de dipropionato de imidocarb y oxitetraciclina resulta la más adecuada para el manejo de la parasitemia. Pero se discute su eficacia específica frente al *H. canis*, ya que también son activos contra la piroplasmosis y la ehrlichiosis. Cuando exista la leishmania asociada al *H. canis*., el antimonio de N-metilglucamina debe añadirse a esta terapéutica. El tratamiento de tipo paliativo para disminuir el dolor está basado en fármacos como la aspirina, fenilbutazona y flumixín. Los glucocorticoides a largo plazo parece que empeoran la enfermedad.

O. Prevención y Protección

Está fundamentalmente orientada a eliminar el vector-hospedador intermediario: ya sea la garrapata *Rhipicephalus sanguineus* o *Amblyoma maculatum*. Entre los métodos utilizados para estos fines están la aplicación de ixodicidas contenidos en baños por aspersion, derrame dorsal “pour-on” o pipetas, tratamiento parenteral y/o tratamiento con collares. También es importante intentar diagnosticar los perros portadores asintomáticos, ya que constituyen un reservorio importante de la enfermedad.

Actualmente no existe ningún tratamiento reportado que desarrolle una acción profiláctica o preventiva frente al contagio por *Hepatozoon spp*, aunque existen investigaciones en las cuales el uso de Toltrazuril con dosis de 20mg/kg SID por 10 días ha mostrado ser de utilidad en el manejo de la parasitemia.

P. Importancia en Medicina Veterinaria

La importancia de esta enfermedad radica en que prácticamente su diagnóstico pasa desapercibido. Al ser una enfermedad de escaso conocimiento en República

Dominicana, no se diagnostica correctamente ni se realiza el tratamiento adecuado para manejarla y de este modo brindar una mejor calidad de vida al animal.

CAPITULO II

Materiales y Métodos

A. Localización del estudio

Este estudio se realizó en diferentes áreas de la ciudad de Santo Domingo, República Dominicana, debido a la gran cantidad de casos de garrapapitosis existentes en la capital. El total de animales muestreados fue de 200 caninos, esto indistintamente de su edad, raza, y sexo.

B. Tamaño de la muestra

Debido a que no existe un estudio previo que indique la prevalencia de *Hepatozoon spp.* En la isla de República Dominicana, se utilizó el promedio de los valores de investigaciones internacionales, siendo este un 12.1 % (promedio de los estudios de Portugal, India, Nigeria, Israel, Tailandia). De acuerdo a la prevalencia estimada de un 12.1%, un límite de confiabilidad de 95% y un error de 5% el tamaño de la muestra resultó en un mínimo de 164 perros.

El tamaño de la muestra resultó de la siguiente fórmula:

$$N = \frac{P(1-P) Z^2}{E^2}$$

Dónde: N= Tamaño de la muestra

P= Prevalencia esperada

Z= Coeficiente de confianza

E= Precisión

$$N = \frac{0.121 (1-0.121) (1.96)^2}{(0.05)^2} = 164$$

El estudio se realizó a 200 caninos, tanto pacientes de clínicas veterinarias con hogar, así como animales rescatados y/o animales que habiten en las calles de la ciudad.

C. Selección de muestras

La selección de muestras fue realizada a caninos de diferente raza, sexo y edad, cuyo denominador común haya sido contacto o infestación con garrapatas. A cada canino se le llenó un formulario para su identificación donde aparecían los siguientes datos: nombre, raza, sexo, presencia de garrapatas, historial clínico, presencia de signos y observaciones.

D. Equipo y Materiales

- Guantes
- Algodón
- Alcohol
- Bozales de diferentes tamaños
- Sogas
- Jeringuillas 3cc (21G)
- Hojas de afeitar
- Marcador
- Cámara fotográfica
- Tubos EDTA
- Portaobjetos
- Cubreobjetos

- Microscopio
- Tubos de microhematócrito
- Centrífuga
- Tinción Bio-Wright
- Gotero
- Bolígrafo
- Cuestionario

E. Metodología para la toma de muestras

A cada uno de los caninos se le extrajo una muestra sanguínea de 2 ml por punción de la vena cefálica o yugular con jeringa de 3 ml y aguja calibre 21, la cual fue depositada en tubos morados previamente rotulados y fueron almacenados en nevera para su posterior procesamiento en las Clínicas Veterinarias del Dr. Tull y/o Dra. Castro.

F. Procesamiento de Muestra

Cada muestra se procesó el mismo día de la extracción y el procedimiento realizado fue el siguiente:

- Se tomó 1 muestra por cada tubo y paciente, para su colocación en los capilares de microhematócrito, luego pasaron a ser centrifugados por 5 minutos a 4,000 r.p.m., esto con el fin de concentrar los glóbulos blancos en la capa buffer, para aumentar la eficacia del método y facilitar la búsqueda de los gametocitos. Luego se realizó el extendido en la laminilla para su posterior tinción.

- El siguiente paso fue realizar la tinción correspondiente, la tinción utilizada fue la Bio-Wright, tinción ácido base que permite diferenciar los glóbulos blancos más fácilmente, el colorante está compuesto de azul de metileno (que tiñe de color azul las partes ácidas de las células) y eosina (que tiñe las partes alcalinas), disueltos en metanol (que permite la fijación de las células).
- Posteriormente se observaron los extendidos con microscopio óptico en aumentos de 400 y 1000, determinando la presencia del parásito intraleucocitario *Hepatozoon spp.* en los neutrófilos y/o monocitos.
- Por último, la Dra. Quírico validó los resultados de los animales considerados positivos ante el parásito.
- Todos los datos recolectados luego fueron procesados y tabulados.

CAPITULO III

Resultados

En este trabajo investigativo se sometieron a estudio un total de 200 caninos pertenecientes a diferentes áreas de la ciudad de Santo Domingo. Se llevó a cabo la búsqueda del parásito sanguíneo *Hepatozoon spp.*, tomando muestras de sangre y realizando frotis sanguíneos concentrados para aumentar la posibilidad de su observación.

A. Resultados

De los 200 caninos muestreados, 1 resultó positivo (representando un .5%) y 2 resultaron sospechosos ante la presencia del *Hepatozoon spp.*, representando así un 1%.

El primer caso sospechoso, un cachorro de 2 a 3 meses de edad, presentaba debilidad general, mucosas inicialmente pálidas y luego ligeramente ictéricas, abdomen cianótico y distendido y anorexia. (Img 10,11)

El segundo caso sospechoso fue un canino adulto, cuya signología observable eran secreciones oculares y apatía.

Para efectos investigativos, todos los caninos fueron muestreados indistintamente de su sexo, edad o raza, resultando así en lo siguiente: 186 adultos, representando un 93% de la muestra, 14 cachorros, representando un 7%, 77 machos (38.5%), 123 hembras (61.5%), 180 mestizos (90%) y 20 de razas (10%) entre las cuales se encontraban: Golden retriever, Gran danes, Labrador, Chow-Chow, entre otras. (Tabla.1)

La procedencia de los caninos fue: Clínicas Veterinarias 42 caninos (21%),

rescatados 136 caninos (68%), callejeros 22 caninos (11%), todos con garrapatas.

Fueron observados en adición 36 caninos con *Ehrlichia spp.* (18%), 19 caninos con *Anaplasma spp.* (9.5%) y 8 caninos con *Anaplasma spp.* y *Ehrlichia spp.* observados en un mismo frotis sanguíneo, lo que representa un 4% del total muestreados.

CAPITULO IV

Discusión

A. Discusión

La toma de muestras para este estudio se inició el 24 de agosto de 2017 y culminó el 13 de noviembre de 2017, con un total de 200 animales muestreados en la ciudad de Santo Domingo, RD. El método utilizado en la investigación fue la tinción de frotis sanguíneos con Bio-Wright debido a su calidad, fácil manejo y costo efectivo.

En este estudio se obtuvo como resultado un caso positivo a *Hepatozoon spp.* El caso positivo fue un canino adulto de aproximadamente de 1.5 años de edad, el cual no presentaba signología aparente, más allá de una leve deshidratación medida por retracción de la piel. No se logró hacer un PCR debido a que era un canino callejero y su búsqueda para la correspondiente toma de la sangre fue infructuosa. Este resultado fue confirmado por la Dra. Jocelyn Quírico.

Además del positivo, hubo dos casos sospechosos. El primer caso sospechoso que se obtuvo fue un cachorro de 2 a 3 meses de edad quien estaba siendo atendido en La Veterinaria de la Dra. Patricia Méndez. Los signos que se observaron principalmente eran: anorexia, debilidad general, mucosas inicialmente pálidas y luego ligeramente ictéricas, abdomen cianótico y distendido. Al momento de la toma de muestra sanguínea, su sangre estaba diluida. Se realiza el frotis sanguíneo dando un resultado sospechoso ante la presencia del parásito. De igual modo se procede a realización de una prueba 4DX, la cual arrojó un resultado negativo. Al momento de confirmar la presencia del parásito en la Clínica Veterinaria de la Dra. Castro y ante la presencia del Dr. Miguel

Mendoza, la laminilla se partió mientras se ajustaba en el microscopio, quedando así solo la foto de lo observado como sospechoso. Esta foto fue enviada a la Dra. Quírico y al evaluarla nos indicó lo siguiente: “La estructura compatible con el gametocito se parece, pero la veo como dividida, a menos que se esté seccionando por división binaria (si es la forma), que sería bueno verificar.” Con esto quedó el caso sospechoso como uno no determinado.

Hicimos un centrifugado de la muestra de sangre restante con el propósito de realizar un segundo frotis sanguíneo. En este frotis no observamos la presencia del parásito *Hepatozoon spp.* como esperábamos, pero si pudimos observar la presencia de *Ehrlichia spp.* en un monocito, contrastando así con el resultado negativo de la prueba 4DX realizada anteriormente. Se decidió tomar una segunda muestra de sangre para realizarle un PCR, pero el animal muere antes de poder llevarlo a cabo.

El segundo caso sospechoso corresponde a un Rottweiler adulto, cuya única signología observable era secreciones oculares y apatía. Se toma la muestra de sangre para realizarle una prueba 4DX dando como resultado uno negativo. De igual modo se hace el frotis sanguíneo y se observa una estructura sospechosa ante la presencia del parásito *Hepatozoon spp.*, específicamente *Hepatozoon americanum*. La Dra. Quírico evalúa el frotis y nos indica lo siguiente: “Parece la fase de esquizonte pero no es fácil determinar si es o no es el *H. americanum*, puesto que la garrapata que tenemos aquí es la *R. sanguineus*.” Esto nos deja el caso como uno no determinado ante el *H. americanum*.

El número de parásitos adicionales observados en los frotis sanguíneos fue elevado, siendo estos: 36 caninos con *Ehrlichia spp.* (18%), 19 con *Anaplasma spp.* (9.5%) y 8 con *Ehrlichia spp.* y *Anaplasma spp.* algunos confirmados con pruebas 4DX.

CAPITULO V

Conclusión y Recomendaciones

A. Conclusión

El trabajo de investigación realizado para detectar la presencia del protozoo *Hepatozoon spp.*, arrojó un resultado positivo mediante la observación en un frotis sanguíneo de un gametocito parasitando las células blancas de la sangre, en este caso, un neutrófilo. Esto nos permite establecer la presencia del parásito en el país por primera vez.

De igual modo cabe recalcar la observación de dos casos sospechosos. En el primer caso sospechoso, aunque la presencia del *Hepatozoon spp.* no pudo ser determinada y no pudo ser corroborado a través de una prueba más específica como el PCR debido a la muerte del canino, se observó una Ehrlichiosis monocítica en el frotis sanguíneo el cual había arrojado negativo en la prueba de Idexx 4DX. Esto nos deja una puerta abierta a que existe la presencia o la posibilidad de la presencia de otra especie de Ehrlichia en nuestro país. La *Ehrlichia chaffeensis* es otra especie la cual no está contenida en la prueba 4DX, produce una ehrlichiosis monocítica y tiene repercusiones a nivel de Salud Pública, puesto que es una enfermedad zoonótica.

El segundo caso sospechoso, que de igual modo fue uno no determinado, nos crea la incógnita de si existe o no la garrapata *Amblyoma maculatum* en el país, ya que la morfología de la estructura observada parecía corresponder al *Hepatozoon americanum*.

B. Recomendaciones

- 1- Realizar investigaciones sobre la presencia del parásito en otras regiones del país.
- 2- En caso de animales que presenten o no signología parecida a la Ehrlichiosis y ante un resultado negativo de la prueba 4DX, realizar frotis sanguíneos directos o mejor aún concentrados de capa buffy para aumentar la posibilidad del hallazgo del mismo.
- 3- Educar a los clientes de las clínicas veterinarias sobre el control adecuado de las garrapatas en sus mascotas.
- 4- Hacer trabajos investigativos sobre la presencia de los diferentes tipos de garrapatas existentes en el país, ya que teniendo este conocimiento y el de las enfermedades que pueden transmitir las mismas, podríamos llegar a diagnósticos más certeros y por ende, instaurar los tratamientos adecuados.
- 5- Establecer un mayor control de los animales importados al país, haciendo hincapié en la presencia de ectoparásitos.
- 6- Establecer como protocolo la realización de frotis sanguíneos ante un resultado negativo de una prueba 4DX, signología concordante con las presentadas ante enfermedades transmitidas por garrapatas y/o ante hemogramas cuyos resultados sean indicativos de enfermedades transmitidas por las mismas.

CAPITULO VI

Bibliografía

A. Fuentes literarias

1. Etienne C. (2015). *Hepatozoonosis. Clinical Veterinary Advisor - Dogs and Cats, 3rd Edition.* Elsevier.
2. Merck co. (2005). *Hepatozoonosis. El Manual de Veterinaria 9ed.* Kahn C.M. N.p: Merck & co.
3. Tilley, L. P. & Smith F. W.K. (2011). *Hepatozoonosis. Blackwell's Five Minutes Veterinary Consult: Canine Feline 5ed.* Wiley – Blackwell.

B. Fuentes no Literarias

4. Adagio, L., Miguel, M., Meder, A., Rio, F., Giménez, M., Hierro, J., Vaquero, P., Lattanzi, D., Mengelle, P., Petteta, L., Mariani, E., Pallezza, J., Bertoldi, G., Wheeler, J. (2014) *Hepatozoonosis canina. Primeros 4 casos documentados en la Ciudad de General Pico - Provincia de La Pampa – Argentina.* Revista Ciencias Veterinarias.
5. Baneth, G., Samish, M. and Shkap, V. (2007). *Life cycle of hepatozooncanis (apicomplexa: adeleorina: hepatozoidae) in the tick rhipicephalus sanguineus and domestic dog (canis familiaris).* The journal of parasitology, VOL. 93 (2), 283 – 299.
6. Bowman, D. (2014). *Chapter 3: Protista. En: Georgis' Parasitology for Veterinarians. 10 edition.* (109 -110). China. ELSEVIER.
7. Cairó J., Font J., Gorraiz J., Martín N., Pallisera M., Pons C. (1994). *Hepatozoonosis canina. Estudio retrospectivo de 8 casos clinicos.* Girona.

Clínica Veterinaria Canis de Girona.

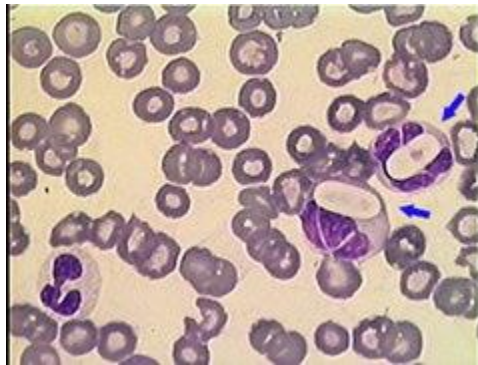
8. Cordero del Campillo M. *Parasitología Veterinaria*. Madrid, España: Ed. Mc Graw-Hill – Internamericana de España; Madrid, España 1999.
9. Correa C. *La ayuda diagnóstica es importante: caso de Hepatozoonspp.* Biosalud. 2013;12(2): 121-126.
10. James sp. *On a parasite found in the white corpuscles of the blood of dogs.* Sci Mem Off Med Sanit Dep Gov India 1905; 14: 1-12.
11. Kelly P., Xu C. Lucas H., Loftis A., Abete J., Stevens A., Jaegersen K., Ackerson K., Gessner A., Kaltenboeck B., Wang C. (2013). *Ehrlichiosis, Babesiosis, Anaplasmosis and Hepatozoonosis in Dogs from St. Kitts, West Indies*. St. Kitts. Ross University School of Veterinary Medicine.
12. Kouros, v., Koutinas, A. *Canine hepatozoonosis: a review of 11 naturally occurring cases.* Bull. HelVet.Med. Seo. 41: 73-81, 1990.
13. Marcela D., Fabian M., Isaias J. (2015). *Diagnóstico de Hepatozooncanis en caninos domésticos de Esperanza*. Argentina. Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales.
14. Ruiz, M.F.; Zimmermann, R. N.; Aguirre, F O.; Bono, M.F.; Widenhorn, N. I. (2013). *Hallazgo de Hepatozooncanis en caninos (canis familiaris) en la ciudad de Esperanza, Santa Fe (Argentina)*. Revista FAVE - Ciencias Veterinarias 12 15- 20. 3.
15. Ruiz, M.F.; Zimmermann, R.N.; Aguirre, F.O.; Torres, B.P.; Forti, M.S. (2013). *Singular hallazgo de Hepatozooncanis*. XIV Jornadas de Divulgación Técnico-Científicas 2013. Jornada Latinoamericana Facultad de Ciencias Veterinarias. UNR.
16. Bayer co. (2009). *Canine Hepatozoonosis – a summery for the practitioner*.

17. Mathew JS, Ewing SA, Panciera RJ, et al. Experimental transmission of Hepatozoon americanum Vincent-Johnson et al., 1997 to dogs by the Gulf Coast Tick, Amblyomamaculatum Koch. Vet Parasitol 1474:1-14, 1998.
18. Douglass Macintire, DVM, DACVIM, DACVECC (2008) Canine hepatozoonosis: Differentiation between H. Canis and H. Americanum (Proceedings). <http://veterinarycalendar.dvm360.com/canine-hepatozoonosis-differentiation-between-h-canis-and-h-americanum-proceedings?id=&sk=&date=&pageID=2>
19. Morales MJ., Serrano M., Sánchez A. (1993) Hepatozoonosis canina. <https://ddd.uab.cat/pub/clivetpeqani/11307064v13n4/11307064v13n4p243.pdf>

CAPÍTULO VII

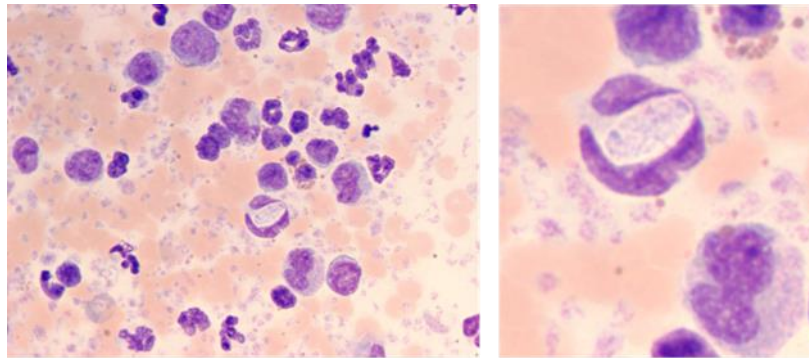
Anexos

Imagen 1. Gametocitos del *Hepatozoon canis*.



Fuente: www.medvet.umontreal.ca

Imagen 2: Gametocitos de *Hepatozoon americanum*.



Gamont within a circulating white blood cell from
a dog with American canine hepatozoonosis

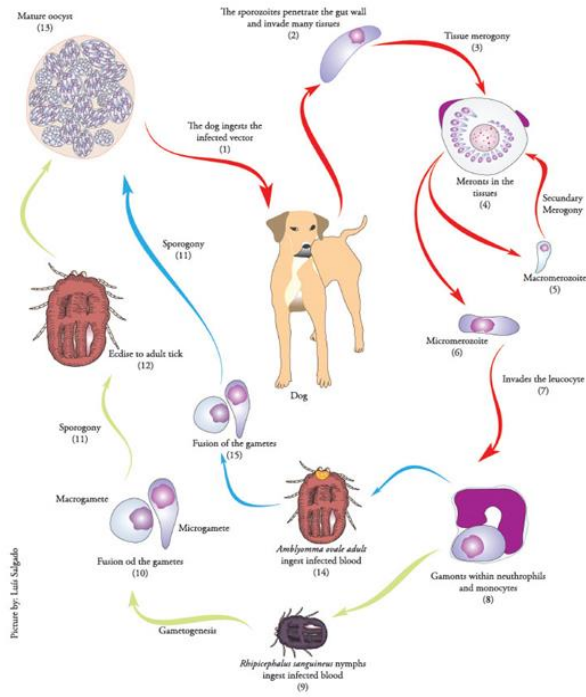
Fuente: <https://www.pinterest.com/pin/248120260697525511/>

Figura 3: Ciclo biológico de la garrapata.



Fuente: <http://www.veterinariaenweb.com.ar>

Figura 4. Ciclo de vida del *Hepatozoon canis* y *Hepatozoon americanum*.



Fuente: <http://www.scielo.br>

Imagen 5: Rhipicephalus sanguineus.



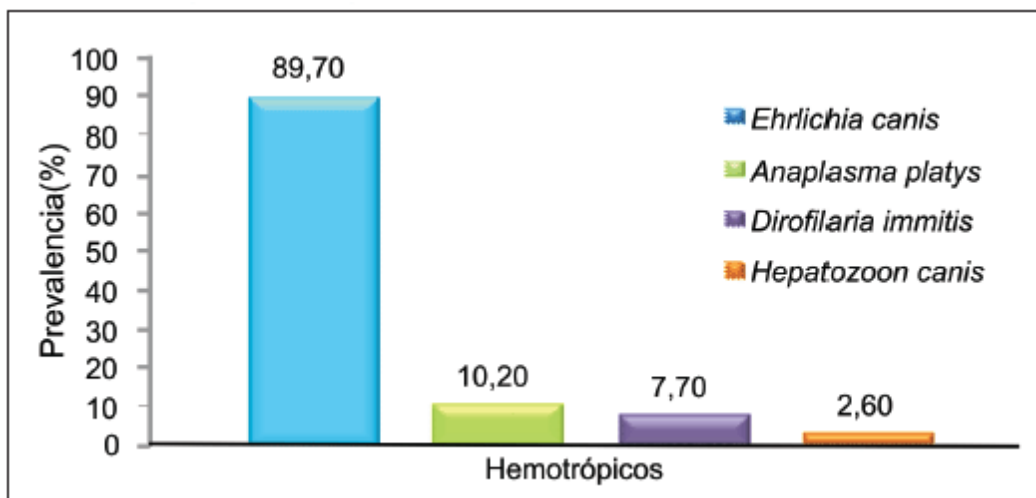
Fuente: <http://www.pestnet.org>

Imagen 6: Amblyoma maculatum.



Fuente: <https://c1.staticflickr.com>

Imagen 7. Prevalencia enfermedades transmitidas por garrapatas en Venezuela.



Fuente: <http://www.scielo.org.ve>

Imagen 8: Gametocito de *Hepatozoon canis* encontrado dentro de un Neutrófilo.
Muestra #3076

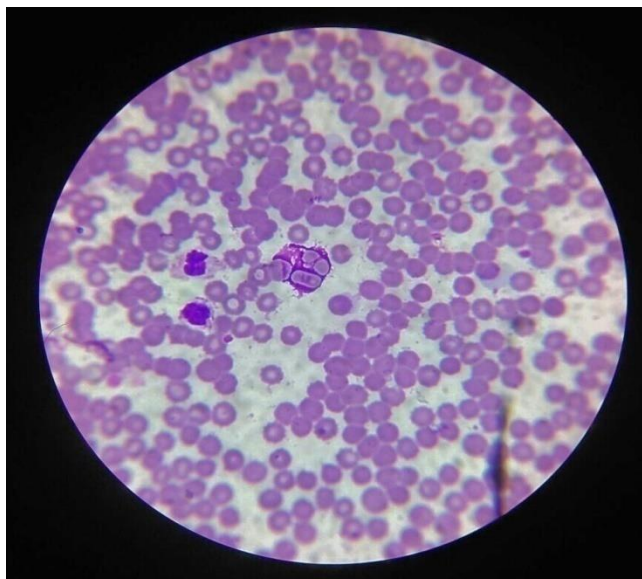


Imagen 9: Caso sospechoso ante la presencia del *Hepatozoon spp.*
Muestra #198

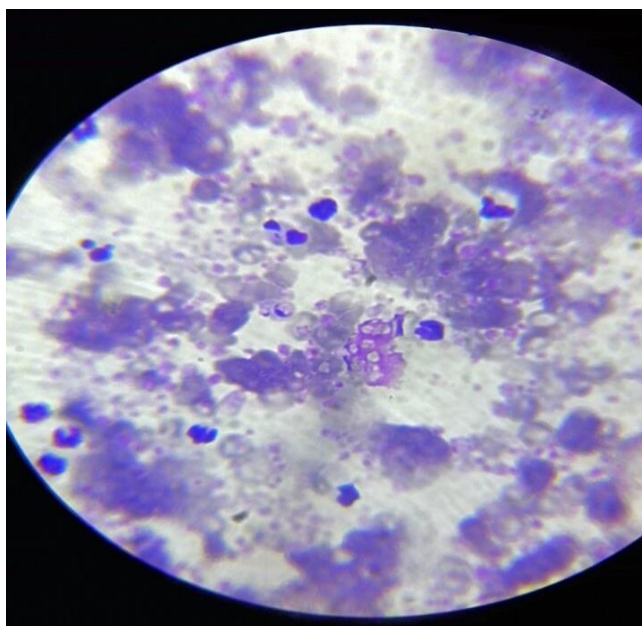


Imagen 10: Caso sospechoso con Ehrlichia monocítica.

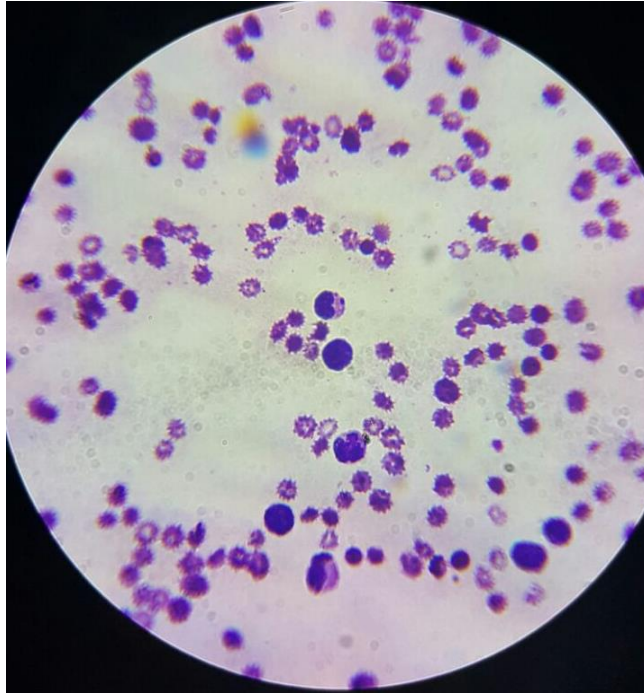


Imagen 11: Prueba 4dx negativa a Ehrlichia spp. del cachorro sospechoso.



Imagen 12-14 Cachorro primer caso sospechoso.

Imagen 12



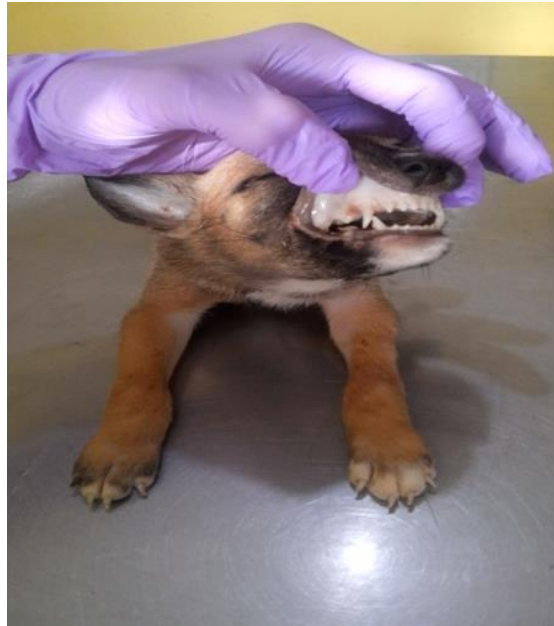
Esclerótica ligeramente icterica

Imagen 13



Abdómen cianotico y distendido

Imagen 14



Mucosa oral pálida

Imagen 15: Muestra de sangre de cachorro sospechoso



Imagen 16: Toma de muestra por vía de la vena cefálica.



Imagen 17: Toma de muestra por vía de la vena yugular.



Imagen 18: Materiales para el procesamiento de la muestra y frotis sanguíneos.

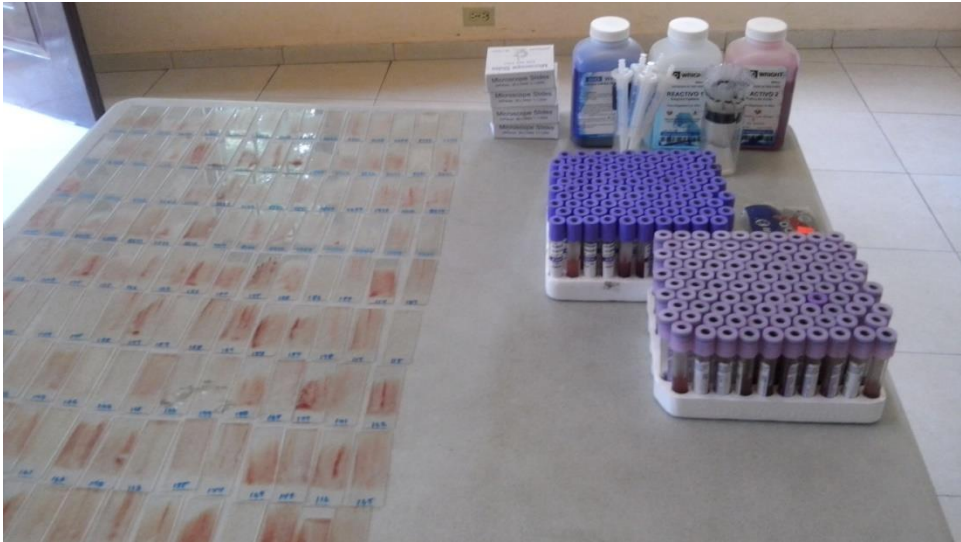


Imagen 19: Frotis sanguíneos terminados y guardados.



Imagen 20: Prueba 4DX con resultado positivo a *Ehrlichia canis* y *Anaplasma spp.*



Imagen 21: Prueba 4DX con resultado positivo a *Ehrlichia canis*



Formulario Trabajo de Grado en *Hepatozoon spp.*

ETMV Abdiel Reyes, Wilmarie Miranda – UNPHU

Fecha muestreo: _____

No. de caso: _____

Clínica o lugar donde fue tomada la muestra:

Clínica Veterinaria Dra. Castro

Veterinaria, Patricia Méndez

Clínica Veterinaria Dr. Tull

Otros _____

Nombre del paciente: _____

Raza: _____

Mestizo

Sexo: Macho Hembra

Edad: Cachorro (< 1 año)

Adulto

Signos Clínicos:

Asintomático

Mucosas pálidas

Supuración óculo-nasal

Anorexia

Ictericia

Abatimiento

Deshidratación

Caquexia

Otros

Observaciones:

Tabla 1: Registro de caninos muestreados

REGISTRO DE TOMA DE MUESTRAS					
PROCEDENCIA	EDAD	SEXO	RAZA	# CONTROL	OBSERVACIONES EN FROTIS
Clínica Veterinaria	Adulto	Macho	Mestizo	8248	
Clínica Veterinaria	Adulto	Macho	Mestizo	9003	
Clínica Veterinaria	Adulto	Macho	Rottweiler	1310	
Clínica Veterinaria	Adulto	Hembra	Boston terrier	8863	
Guetto to Garden	Adulto	Macho	Poodle	4949	Ehrlichia
Clínica Veterinaria	Adulto	Hembra	Gran Danés	4720	Ehrlichia/Anaplasma
Clínica Veterinaria	Adulto	Hembra	Gran Danés	3176	
Clínica Veterinaria	Adulto	Hembra	Mestizo	9201	
Clínica Veterinaria	Adulto	Macho	Yorkie	9030	
Clínica Veterinaria	Adulto	Macho	Mestizo	0523	
Clínica Veterinaria	Adulto	Macho	Mestizo	4104	Ehrlichia
Clínica Veterinaria	Adulto	Hembra	Mestizo	1191	
Clínica Veterinaria	Adulto	Hembra	Mestizo	9438	
Clínica Veterinaria	Adulto	Hembra	Rottweiler	4264	Anaplasma
Clínica Veterinaria	Adulto	Macho	Mestizo	9828	
Clínica Veterinaria	Adulto	Hembra	Mestizo	9454	
Clínica Veterinaria	Adulto	Macho	Rottweiler	0399	Caso sospechoso #2 Hepatozoon spp. Ehrlichia monocítica
Clínica Veterinaria	Adulto	Hembra	Mestizo	4401	
Clínica Veterinaria	Adulto	Hembra	Mestizo	7995	
Clínica Veterinaria	Adulto	Macho	Pug	1188	
Clínica Veterinaria	Adulto	Macho	Pug	0450	Anaplasma
Clínica Veterinaria	Adulto	Macho	Yorkie	0601	
Clínica Veterinaria	Adulto	Macho	Fila	3418	
Clínica Veterinaria	Adulto	Macho	Mestizo	0069	
Clínica Veterinaria	Adulto	Hembra	Mestizo	2821	
Clínica Veterinaria	Cachorro	Macho	Mestizo	9805	Ehrlichia
Clínica Veterinaria	Adulto	Macho	Boxer	2511	
Clínica Veterinaria	Adulto	Hembra	ChowChow	9903	
Clínica Veterinaria	Adulto	Macho	Chihuahua	8352	
Clínica Veterinaria	Adulto	Hembra	Mestizo	4568	
Clínica Veterinaria	Adulto	Hembra	Poodle	1413	
Clínica Veterinaria	Adulto	Macho	Mestizo	1965	Ehrlichia

Clínica Veterinaria	Cachorro	Macho	Mestizo	1997	
Clínica Veterinaria	Cachorro	Hembra	Mestizo	0718	
Clínica Veterinaria	Adulto	Macho	Chihuahua	5172	Ehrlichia
Clínica Veterinaria	Adulto	Hembra	Mestizo	6035	Ehrlichia/Anaplasma
Clínica Veterinaria	Adulto	Macho	French Bulldog	2593	
Clínica Veterinaria	Adulto	Hembra	Mestizo	3859	Ehrlichia
Clínica Veterinaria	Adulto	Hembra	Mestizo	0748	
Clínica Veterinaria	Adulto	Hembra	Mestizo	8110	Ehrlichia
Clínica Veterinaria	Adulto	Hembra	Yorkie	6553	
Clínica Veterinaria	Adulto	Hembra	French Bulldog	9001	
Unidad Protectora de Animales	Adulto	Macho	Mestizo	7885	Anaplasma
Unidad Protectora de Animales	Adulto	Macho	Mestizo	9570	
Unidad Protectora de Animales	Adulto	Macho	Mestizo	3144	Ehrlichia
Unidad Protectora de Animales	Adulto	Macho	Mestizo	0141	
Unidad Protectora de Animales	Adulto	Hembra	Mestizo	2376	Ehrlichia
Unidad Protectora de Animales	Adulto	Hembra	Mestizo	0047	
Unidad Protectora de Animales	Adulto	Macho	Mestizo	5038	
Unidad Protectora de Animales	Adulto	Macho	Mestizo	3512	
Unidad Protectora de Animales	Adulto	Macho	Mestizo	9743	
Unidad Protectora de Animales	Adulto	Hembra	Mestizo	8371	Anaplasma
Unidad Protectora de Animales	Adulto	Macho	Mestizo	1710	
Unidad Protectora de Animales	Adulto	Hembra	Mestizo	5136	
Unidad Protectora de Animales	Adulto	Hembra	Mestizo	4656	Ehrlichia
Unidad Protectora de Animales	Adulto	Hembra	Mestizo	1950	
Unidad Protectora de Animales	Adulto	Hembra	Mestizo	1199	
Unidad Protectora de Animales	Adulto	Macho	Mestizo	6344	
Unidad Protectora de Animales	Adulto	Macho	Mestizo	8892	
Unidad Protectora de Animales	Adulto	Hembra	Mestizo	8700	
Unidad Protectora de Animales	Adulto	Hembra	Mestizo	6030	

Unidad Protectora de Animales	Adulto	Hembra	Mestizo	1700	
Unidad Protectora de Animales	Adulto	Hembra	Mestizo	6994	Ehrlichia/Anaplasma
Unidad Protectora de Animales	Adulto	Macho	Mestizo	0661	
Unidad Protectora de Animales	Adulto	Hembra	Mestizo	0714	Ehrlichia
Unidad Protectora de Animales	Adulto	Hembra	Mestizo	9958	
Unidad Protectora de Animales	Adulto	Hembra	Mestizo	2646	
Unidad Protectora de Animales	Adulto	Macho	Mestizo	0824	
Unidad Protectora de Animales	Adulto	Hembra	Mestizo	1249	
Unidad Protectora de Animales	Adulto	Hembra	Mestizo	8481	
Unidad Protectora de Animales	Adulto	Hembra	Mestizo	6259	
Unidad Protectora de Animales	Adulto	Hembra	Mestizo	7406	
Unidad Protectora de Animales	Adulto	Hembra	Mestizo	8934	Ehrlichia
Unidad Protectora de Animales	Adulto	Macho	Mestizo	2079	
Unidad Protectora de Animales	Adulto	Hembra	Mestizo	3140	
Unidad Protectora de Animales	Adulto	Hembra	Mestizo	8386	
Unidad Protectora de Animales	Adulto	Hembra	Mestizo	5046	
Unidad Protectora de Animales	Adulto	Hembra	Mestizo	0753	
Unidad Protectora de Animales	Adulto	Macho	Mestizo	8214	
Unidad Protectora de Animales	Adulto	Hembra	Mestizo	2758	
Unidad Protectora de Animales	Adulto	Hembra	Mestizo	0214	
Unidad Protectora de Animales	Adulto	Hembra	Mestizo	1793	
Unidad Protectora de Animales	Adulto	Hembra	Mestizo	2218	
Unidad Protectora de Animales	Adulto	Macho	Mestizo	9731	
Unidad Protectora de Animales	Adulto	Macho	Mestizo	4791	
Unidad Protectora de Animales	Adulto	Macho	Mestizo	3882	

Unidad Protectora de Animales	Adulto	Macho	Mestizo	5196	
Unidad Protectora de Animales	Adulto	Macho	Mestizo	4891	
Unidad Protectora de Animales	Adulto	Hembra	Mestizo	0592	
Unidad Protectora de Animales	Adulto	Macho	Mestizo	1854	
Unidad Protectora de Animales	Adulto	Hembra	Mestizo	5313	
Unidad Protectora de Animales	Adulto	Hembra	Mestizo	2759	
Unidad Protectora de Animales	Adulto	Hembra	Mestizo	4988	
Unidad Protectora de Animales	Adulto	Macho	Mestizo	4051	
Unidad Protectora de Animales	Adulto	Macho	Mestizo	7828	
Unidad Protectora de Animales	Adulto	Macho	Mestizo	1918	
Unidad Protectora de Animales	Adulto	Hembra	Mestizo	9471	Ehrlichia
Unidad Protectora de Animales	Adulto	Hembra	Mestizo	7783	
Unidad Protectora de Animales	Adulto	Hembra	Mestizo	4667	
Callejero	Adulto	Macho	Mestizo	3076	<i>Caso positivo a Hepatozoon spp.</i>
Unidad Protectora de Animales	Adulto	Hembra	Mestizo	100	
Guetto to Garden	Adulto	Hembra	Mestizo	101	
Guetto to Garden	Adulto	Macho	Mestizo	102	
Guetto to Garden	Cachorro	Hembra	Mestizo	103	Ehrlichia/Anaplasma
Guetto to Garden	Adulto	Hembra	Mestizo	104	
Guetto to Garden	Adulto	Hembra	Mestizo	105	
Callejero	Adulto	Hembra	Mestizo	106	Ehrlichia
Unidad Protectora de Animales	Adulto	Hembra	Mestizo	107	
Unidad Protectora de Animales	Adulto	Hembra	Mestizo	108	
Unidad Protectora de Animales	Adulto	Hembra	Mestizo	109	
Unidad Protectora de Animales	Adulto	Hembra	Mestizo	110	
Unidad Protectora de Animales	Adulto	Hembra	Mestizo	111	
Guetto to Garden	Adulto	Macho	Mestizo	112	Ehrlichia
Guetto to Garden	Adulto	Macho	Mestizo	113	Ehrlichia

Unidad Protectora de Animales	Adulto	Macho	Mestizo	114	
Unidad Protectora de Animales	Adulto	Macho	Mestizo	115	Ehrlichia
Unidad Protectora de Animales	Adulto	Macho	Mestizo	116	
Unidad Protectora de Animales	Adulto	Hembra	Mestizo	117	
Unidad Protectora de Animales	Adulto	Hembra	Mestizo	118	
Guetto to Garden	Adulto	Hembra	Mestizo	119	Ehrlichia
Unidad Protectora de Animales	Adulto	Hembra	Mestizo	120	
Unidad Protectora de Animales	Cachorro	Hembra	Mestizo	121	
Unidad Protectora de Animales	Adulto	Hembra	Mestizo	122	
Callejero	Cachorro	Hembra	Mestizo	123	Anaplasma
Guetto to Garden	Adulto	Hembra	Mestizo	124	
Unidad Protectora de Animales	Adulto	Hembra	Mestizo	125	
Guetto to Garden	Adulto	Hembra	Mestizo	126	
Callejero	Adulto	Macho	Mestizo	127	Ehrlichia/Anaplasma
Unidad Protectora de Animales	Adulto	Hembra	Mestizo	128	
Guetto to Garden	Adulto	Hembra	Mestizo	129	
Unidad Protectora de Animales	Adulto	Hembra	Mestizo	130	
Guetto to Garden	Adulto	Hembra	Mestizo	131	Anaplasma
Guetto to Garden	Adulto	Hembra	Mestizo	132	
Guetto to Garden	Adulto	Macho	Mestizo	133	
Unidad Protectora de Animales	Cachorro	Macho	Mestizo	134	Ehrlichia
Guetto to Garden	Adulto	Hembra	Mestizo	135	
Guetto to Garden	Adulto	Macho	Mestizo	136	
Unidad Protectora de Animales	Adulto	Hembra	Mestizo	137	
Guetto to Garden	Adulto	Macho	Mestizo	138	Ehrlichia
Guetto to Garden	Adulto	Hembra	Mestizo	139	
Callejero	Adulto	Hembra	Mestizo	140	
Guetto to Garden	Adulto	Hembra	Mestizo	141	Anaplasma
Callejero	Adulto	Hembra	Mestizo	142	
Callejero	Adulto	Hembra	Mestizo	143	
Guetto to Garden	Adulto	Macho	Mestizo	144	
Unidad Protectora de Animales	Cachorro	Hembra	Mestizo	145	

Guetto to Garden	Adulto	Macho	Mestizo	146	Ehrlichica/Anaplasma
Callejero	Adulto	Macho	Mestizo	147	
Guetto to Garden	Adulto	Hembra	Mestizo	148	
Unidad Protectora de Animales	Adulto	Macho	Mestizo	149	
Unidad Protectora de Animales	Adulto	Hembra	Mestizo	150	Anaplasma
Unidad Protectora de Animales	Cachorro	Hembra	Mestizo	151	
Unidad Protectora de Animales	Adulto	Macho	Mestizo	152	
Guetto to Garden	Adulto	Macho	Mestizo	153	
Guetto to Garden	Adulto	Hembra	Mestizo	154	
Guetto to Garden	Adulto	Macho	Mestizo	155	
Callejero	Adulto	Hembra	Mestizo	156	Anaplasma
Guetto to Garden	Adulto	Hembra	Mestizo	157	Ehrlichia
Unidad Protectora de Animales	Cachorro	Macho	Mestizo	158	
Guetto to Garden	Adulto	Macho	Mestizo	159	
Guetto to Garden	Adulto	Hembra	Mestizo	160	Ehrlichia
Guetto to Garden	Adulto	Hembra	Mestizo	161	
Guetto to Garden	Adulto	Macho	Mestizo	162	Ehrlichia
Unidad Protectora de Animales	Adulto	Hembra	Mestizo	163	
Unidad Protectora de Animales	Adulto	Hembra	Mestizo	164	
Callejero	Adulto	Hembra	Mestizo	165	
Guetto to Garden	Adulto	Macho	Mestizo	166	Anaplasma
Callejero	Cachorro	Macho	Mestizo	167	
Guetto to Garden	Adulto	Hembra	Mestizo	168	
Guetto to Garden	Adulto	Hembra	Mestizo	169	Ehrlichia
Guetto to Garden	Adulto	Macho	Mestizo	170	
Unidad Protectora de Animales	Adulto	Hembra	Mestizo	171	Anaplasma
Unidad Protectora de Animales	Adulto	Hembra	Mestizo	172	
Unidad Protectora de Animales	Adulto	Hembra	Mestizo	173	Ehrlichia/Anaplasma
Callejero	Cachorro	Macho	Mestizo	174	
Unidad Protectora de Animales	Adulto	Macho	Mestizo	175	
Guetto to Garden	Adulto	Macho	Mestizo	176	
Guetto to Garden	Adulto	Macho	Mestizo	177	
Callejero	Adulto	Hembra	Mestizo	178	
Callejero	Adulto	Macho	Mestizo	179	Ehrlichia

Callejero	Adulto	Hembra	Mestizo	180	
Guetto to Garden	Adulto	Hembra	Mestizo	181	
Callejero	Adulto	Macho	Mestizo	182	
Guetto to Garden	Adulto	Hembra	Mestizo	183	
Unidad Protectora de Animales	Adulto	Hembra	Mestizo	184	
Callejero	Adulto	Hembra	Mestizo	185	Ehrlichia/Anaplasma
Callejero	Adulto	Hembra	Mestizo	186	
Callejero	Adulto	Hembra	Mestizo	187	
Callejero	Adulto	Hembra	Mestizo	188	Ehrlichia
Callejero	Adulto	Macho	Mestizo	189	
Guetto to Garden	Adulto	Macho	Mestizo	190	
Unidad Protectora de Animales	Adulto	Hembra	Mestizo	191	Ehrlichia
Guetto to Garden	Adulto	Hembra	Mestizo	192	
Guetto to Garden	Adulto	Hembra	Mestizo	193	
Unidad Protectora de Animales	Adulto	Hembra	Mestizo	194	
Guetto to Garden	Adulto	Hembra	Mestizo	195	
Callejero	Cachorro	Hembra	Mestizo	196	
Unidad Protectora de Animales	Adulto	Hembra	Mestizo	197	
Clínica Veterinaria	Cachorro	Hembra	Mestizo	198	Caso sospechoso #1 <i>Hepatozoon spp.</i>
Unidad Protectora de Animales	Adulto	Hembra	Mestizo	199	

Tabla 2: Animales muestreados

Hembras	123	Mestizos	180
Machos	77	Raza	20
Cachorros	14		
Adultos	186		
<i>Ehrlichia canis</i>	36		
<i>Anaplasma spp.</i>	19		
<i>Ehrlichia canis</i> + <i>Anaplasma spp.</i>	8		

A QUIEN PUEDA INTERESAR

Por este medio hago constar que el hallazgo del parásito protozoario *Hepatozoon spp.* para el trabajo de grado: “Investigación por Medio de Frotis Sanguíneo del Protozoo *Hepatozoon spp.* en caninos en la *Ciudad de Santo Domingo, R.D.*” fue en efecto observado y evidenciado por los estudiantes Wilmarie Miranda y Abdiel Reyes, bajo mi supervisión.

Dado en Santo Domingo, RD a los 23 días del mes de noviembre de 2017.

Dra. Jocelyn Quirico

Ms. Parasitología y Enfermedades Parasitarias

Sustentante

Asesor

Jurado

Jurado

Jurado

Director Escuela
Medicina Veterinaria

Fecha: _____

Calificación: _____