

HEPATOZOONOSIS ASOCIADA A OTROS PROCESOS PARASITARIOS

Autor: C. G. Nieto, D. Rosado Maestre, M. García Alonso, S. G. Verdugo e I. Navarrete.

Dirección: Parasitología. Departamento de Medicina y Sanidad Animal. Facultad de Veterinaria. Universidad de Extremadura. 10071 Cáceres.

Palabras claves: Hepatozoonosis. Perro. Dirofilariosis. Leishmaniosis. Babesiosis.

RESUMEN

En el presente trabajo se realizó el estudio de las parasitaciones por *Hepatozoon canis* pura o asociada a otros parásitos en cinco perros procedentes de la provincia de Cáceres (España).

La parasitación mixta *H. canis*, *Leishmania infantum* y *Dirofilaria immitis* mostró una clínica compatible con *Leishmania*, con caquexia, dermatopatías diversas, fiebre, etc. Las pruebas analíticas reflejaron una intensa anemia, leucocitosis con neutrofilia, estado urémico y aumento de la enzima lactato deshidrogenasa (LDH). La proteinemia fue normal, manifestando el trazado electroforético hipoalbuminemia e incremento de γ -globulinas. Por IFI se detectaron títulos específicos anti-*Leishmania* de 1/80. Mediante el método de Knott se apreciaron microfilarias de *D. immitis* y el estudio de frotis sanguíneos teñidos reveló la existencia de gametocitos de *H. canis* en polimorfonucleares neutrófilos y monocitos.

El diagnóstico de hepatozoonosis y dirofilariosis fue totalmente casual por no ser evidentes datos exploratorios compatibles con éstos. Únicamente modificaciones analíticas como anemia, leucocitosis con neutrofilia y los aumentos de las enzimas LDH, CPK Y GOT pueden orientar el diagnóstico.

En la parasitación pura por *H. canis* únicamente los datos analíticos consiguen orientar el diagnóstico mediante la detección de anemia, leucocitosis con neutrofilia y de las enzimas LDH y CPK.

Por último, la parasitación mixta, *Hepatozoon* y *Babesia canis* mostraron resultados similares a los procesos anteriores, siendo las enzimas que reflejan la funcionalidad hepática y muscular las más importantes desde el punto de vista clínico en el diagnóstico de la enfermedad.

SUMMARY

In the present research, the study of the sheer parasitation by *Hepatozoon canis* as well as associated with other parasites is performed in five dogs coming from the province of Cáceres (Spain).

The mixed parasitation by *H. canis*, *Leishmania infantum* and *Dirofilaria immitis* showed clinical signs compatible with *Leishmania* such as cachexia, several skin diseases, febrile syndrome, etc.

The analitical proofs revealed a severa anemia, neutrophilic leukocytosis, blood urea nitrogen elevated and increase of the lactato deshidrogenase enzyme (LDH). The values of serum proteins were normal and the electrophoretic desing exhibited hypoalbuminemia and increase of γ -globulin.

Specific titers of 1/80 against *Leishmania* were detected by the indirect immuno fluorescent test (IFI). By the Knott test microfilarias belonging to *D. immitis* were observed and the study

of stained blood smears revealed the existence of gametocytes of *H. canis* in polymorphonuclears, neutrophils and monocytes.

Diagnosis of hepatozoonosis and dirofilariosis was absolutely fortuitous because of exploratory data compatible with this process weren't obvious.

Only analytical changes as anemia, neutrophilic leukocytosis and the increases of LDH, CPK and GOT enzymes may guide the diagnosis.

In the sheer parasitization by *H. canis* only the analytical data managed to guide the diagnosis through the detection of anemia, neutrophilic leukocytosis and increase of the LDH and CPK enzymes.

Finally, the mixed parasitization by *H. canis* and *Babesia canis* showed similar results as in the previous processes, being the most important thing from the clinical point of view in the diagnosis of the disease, the enzymes that revealed the hepatic and muscular functionality.

INTRODUCCIÓN

La hepatozoonosis canina es, sin lugar a dudas, uno de los procesos parasitarios menos conocidos que afectan a esta especie animal. Asimismo, son escasas las referencias bibliográficas, y sobre todo europeas, que reflejen estudios epidemiológicos, clínicos, etc., de esta parasitosis. Debido en parte a una marcada dificultad diagnóstica, en un elevado porcentaje de ocasiones crea estados de portadores inaparentes con escasa e inespecífica sintomatología.

Esta parasitosis es conocida en países vecinos al nuestro como Portugal (1), Francia (2), Italia (3), y, en general, presenta una amplia distribución geográfica: Europa, Asia, Africa y América (4, 5, 6), siempre ligado a la presencia de su vector *Rhipicephalus sanguineus*, garrapata especialmente frecuente en los países de la Cuenca Mediterránea.

La patología, epidemiología y diagnóstico de las parasitosis por *H. canis* han sido ampliamente descritos (4, 5, 7, 9), presentándose como un parasitismo generalmente asintomático que puede evolucionar, sin embargo, como una enfermedad febril con anemia, ictericia, anorexia, dolores musculares, enteritis hemorrágica, esplenomegalia, formación de pápulas dérmicas, etc., de tal manera que en los casos más graves puede sobrevenir la muerte en uno-dos meses.

Las lesiones no son nada características: esplenomegalia ligera, adenopatías, congestión pulmonar y hepática. En los mustélidos la localización miocárdica del parásito determina la formación de granulomas que contienen macrófagos, linfocitos y plasmocitos parasitados.

En caso de sospecha se investiga la presencia del meronte en médula ósea o en el bazo por punción, y cuando se presentan dolores musculares se puede recurrir a la biopsia muscular (10), pero el diagnóstico más eficaz es la investigación de los gamontes en el interior de los polinucleares de sangre periférica.

La presencia de *H. canis* en el perro puede estar acompañado de otros parásitos hemáticos o tisulares, habiéndose citado la asociación con infecciones por *Erlichia* (11), *Toxoplasma* (12), *Babesia*, *Dirofilaria* y *Leishmania* sp. (6, 13).

El objetivo del presente trabajo es el estudio comparativo de los parámetros hemáticos y séricos de la hepatozoonosis (*H. canis*) y su asociación a otros procesos como dirofilariosis, babesiosis o leishmaniosis.

A partir de aquí determinaremos qué parámetros son representativos de la hepatozoonosis y cuales otros pueden ser consecuencia de la asociación con otras parasitosis.

MATERIAL Y MÉTODOS

Como consecuencia de la realización de diferentes estudios de tipo epidemiológico para la búsqueda de *Leishmania*, en los cuales se analizaron más de un millar de perros, se ha podido constatar la presencia de *H. canis* en Extremadura y asociado a otras parasitosis.

El presente estudio se ha realizado sobre cinco perros, uno de los cuales presentaba parasitación pura por *Hepatozoon canis*, uno asociado a *Leishmania infantum* y *Dirofilaria immitis*, dos a *Dirofilaria immitis* y uno asociado a *Babesia canis* (Tabla I).

Sobre todos ellos se realizaron estudios de tipo clínico y fisiopatológico, determinando diversos parámetros hemáticos (GR, Hto, Hb, GB y fórmula leucocitaria) y séricos (urea, creatinina, GOT, GPT, CPK, LDH, bilirrubina total, proteínas totales, etc.), como

un intento de determinar las funcionalidades hepática, renal, muscular, etc., en los perros afectados por dichos parásitos.

La toma de muestra se realizó a partir de extracciones de sangre entera y con anticoagulante de la vena cefálica anterior. Para el estudio de las formas tisulares de *H. canis*, muestras de tejido lesional fijadas en formolína al 10% tamponada.

El diagnóstico de dirofilariosis se realizó mediante examen en fresco, método de Knott y morfometría de las microfilarias circulantes.

El diagnóstico de *Babesia canis* se realizó mediante frotis sanguíneos teñidos con May Grunwald Giemsa.

Para el diagnóstico de leishmaniosis se practicaron métodos directos de observación de amastigotes a partir de aspirados de ganglios linfáticos y de forma indirecta,

Tabla I.—Valores hematológicos y séricos de las diferentes parasitosis estudiadas.

	Hepatozoon <i>Leishmania</i>	Hepatozoon <i>Dirofilaria</i>	Hepatozoon <i>Dirofilaria</i>	Hepatozoon <i>Babesia</i>	
	Hepatozoon	Dirofilaria	Perro I	Perro II	
HEMATOLOGIA					
Hematíes (mm ³)	4.300.000	1.800.000	4.650.000	5.800.000	4.930.000
Valor hematocrito (%)	26	31	35	41	39
Hemoglobina (g/dl)	7	7,5	7,8	8	8,1
Leucocitos (mm ³)	13.720	14.900	23.400	11.160	19.200
FORMULA LEUCOCITARIA					
Bastonados (n.º/µl)	0	4	0	0	2
Segmentados (n.º/µl)	72	85	72	70	79
Eosinófilos (n.º/µl)	14	3	14	9	5
Basófilos (n.º/µl)	0	0	0	0	0
Linfocitos (n.º/µl)	13	6	14	18	11
Monocitos (n.º/µl)	1	2	0	3	3
PARAMETROS SERICOS					
Urea (mg/dl)	32	44	32	13	44
GOT (U/l)	36	16	39,7	33,3	97
GPT (U/l)	24,55		28,6	34,7	29
LDH (U/l)	188	1.300	276	134	305
CPK (U/l)	913		159	140	633
Creatinina (mg/dl)	0,6	530	0,9	0,8	
Bilirrubina total (mg/dl)	0,42	0,685	0,26	0,27	
Proteínas totales (g/dl)	7,5	6,8	6,8	7,1	

mediante detección de anticuerpos circulantes anti-*Leishmania* por inmunofluorescencia indirecta.

RESULTADOS

A) HEPATOZOONOSIS + LEISHMANIOSIS + DIROFILARIOSIS

Esta parasitación mixta corresponde a un perro de raza Podenco procedente de rehala, de dos años de edad.

Mostraba una clínica compatible con leishmaniosis en la que destacaba una caquexia con evidencia de los relieves óseos, apatía, debilidad y anorexia. Presentaba una forma viscerocutánea en estado avanzado de enfermedad con dermatitis descamativa, depilaciones y ulceraciones en relieves óseos. También padecía edema en extremidades, con incapacidad locomotriz del tercio posterior y cifosis dorsolumbar.

Las pruebas analíticas realizadas reflejan un intenso proceso anémico de tipo hipocrómico. El número total de leucocitos se presenta algo elevado, destacando el aumento de neutrófilos (Tabla I).

Otros resultados reflejan estado urémico y aumento de la enzima lactato deshidrogenasa y de la bilirrubina conjugada. La prue-

ba de formogelificación es positiva a los dos minutos. Mientras que la proteinemia se observó normal (7,8 g/dl), el trazado electroforético manifiesta una clara hipoalbuminemia (20%) e incremento de la globulina alfa-2 (11,3%) y sobre todo de las β y γ -inmunoglobulinas (25,5% y 39,1%, respectivamente). El cociente A/G se presenta disminuido (0,24%).

En la analítica de orina destaca la aparición de pigmentos en cantidad moderada (bilirrubina), presencia de proteínas (300 mg/dl) y ligero aumento del urobilinógeno (1 UE/dl).

Desde el punto de vista diagnóstico tras la realización de examen en fresco de sangre y el empleo del método de Knott se apreciaron microfilarias de *Dirofilaria immitis*. El estudio de frotis sanguíneos teñidos reveló la existencia de numerosos gametocitos de *H. canis* (de $11 \times 6 \mu\text{m}$) en el interior de polimorfonucleares neutrófilos y monocitos. El grado de parasitemia observada ha sido la mayor de todos los casos diagnosticados (Fig. 2).

La biopsia por aspiración del ganglio popliteo confirmó la parasitación por *Leish-*

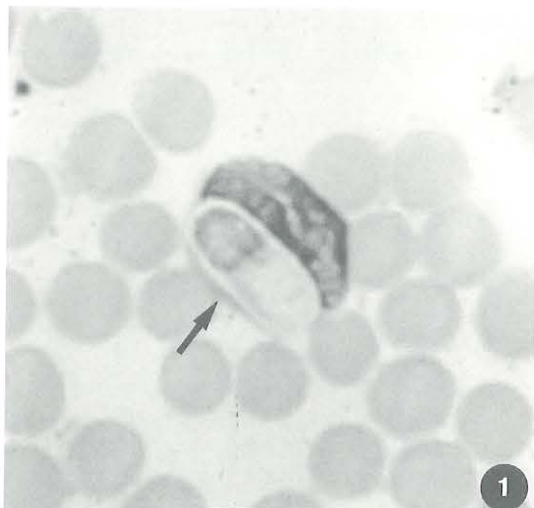


Figura 1.—Gametocito de *H. canis* en polimorfonuclear neutrófilo (→) de frotis de sangre periférica (Giemsa, Obj. 100X).

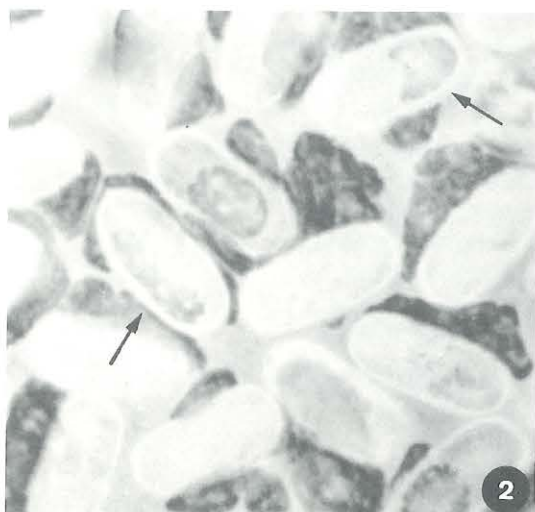


Figura 2.—Numerosos gametocitos de *H. canis* (→) en neutrófilos y monocitos de frotis sanguíneos correspondiente a triple parasitación por *Hepatozoon*, *Leishmania* y *Dirofilaria* (Giemsa, Obj. 100X).

mania, observándose una escasa cantidad de amastigotes, y apreciando así mismo un título de anticuerpos anti-*Leishmania* de 1/80 por IFI.

Tras la necropsia reglada los cortes histológicos procedentes de bazo (Figs. 3, 4, 5 y 6) permitieron la observación de diferentes formas de esquizonte y piogranuloma característicos de la hepatozoonosis.

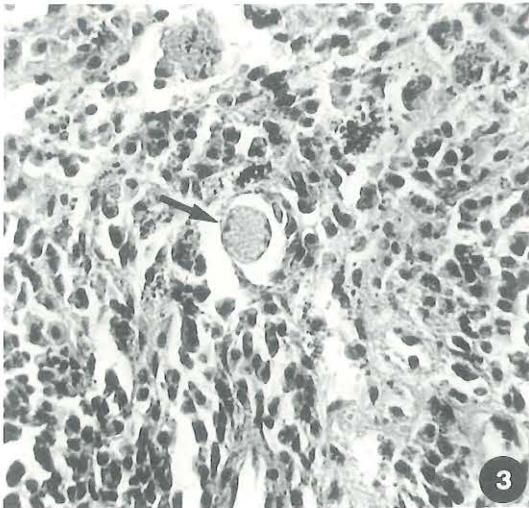


Figura 3.—Esquizonte (→) con citoplasma espumoso y escasos núcleos periféricos. Bazo (Hematoxilina-eosina, Obj. 20X).

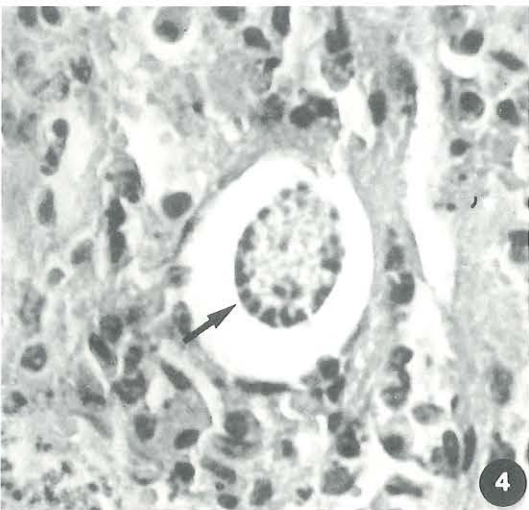


Figura 4.—Esquizonte con muchos núcleos (→) situados periféricamente (Hematoxilina-eosina, 40X).

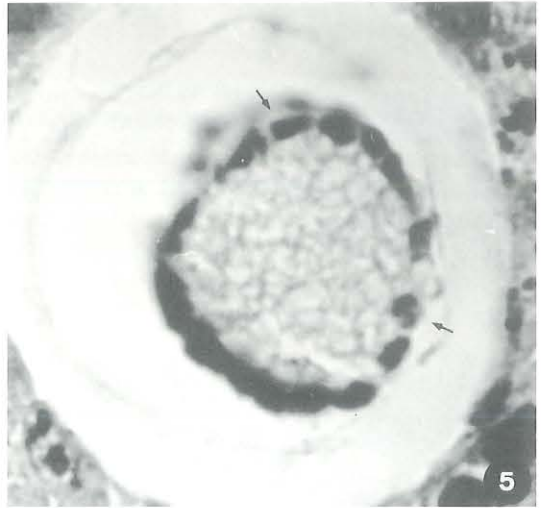


Figura 5.—Detalle de esquizonte mostrando numerosos merozoitos (→) periféricos separados (Hematoxilina-eosina, Obj. 100X).



Figura 6.—Piogranuloma esplénico (→) de perro con hepatozoonosis. Gran acumulación de neutrófilos (Hematoxilina eosina, Obj. 10X).

B) HEPATOZOONOSIS + DIROFILARIOSIS

En una rehala localizada en Cáceres, y concretamente en el extrarradio de la capital, detectamos un elevado índice de parasitación por *D. immitis*, diagnosticando también tres casos de hepatozoonosis, una pura, y dos asociada a *Dirofilaria*.

Los signos clínicos que nos hicieron sospechar de una posible hepatozoonosis no fueron observados, siendo totalmente casual

su diagnóstico a partir de frotis sanguíneos (Figs. 7 y 8).

Los resultados analíticos muestran una ligera anemia, con sensible disminución de la concentración de hemoglobina. En uno de los enfermos la leucocitosis es acusada, y en ambos destaca la neutrofilia y eosinofilia. El estudio bioquímico sí denota modificaciones importantes, como son el marcado aumento de la actividad de la LDH, CPK y GOT,

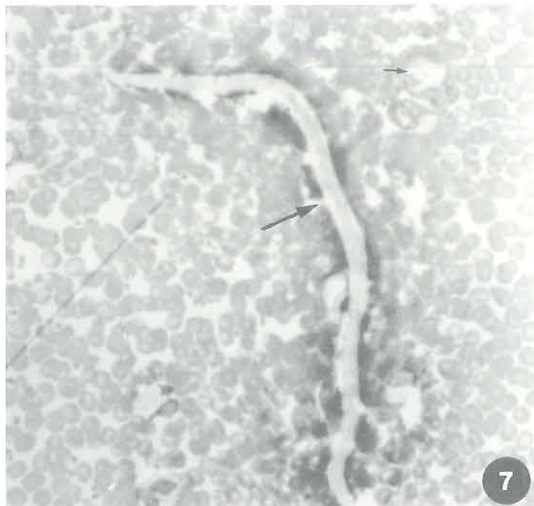


Figura 7.—Microfilaria de *Dirofilaria immitis* (→) y gametocito de *H. canis* (→) procedente de frotis sanguíneos de dicha parasitación mixta (Giemsa, Obj. 20X).

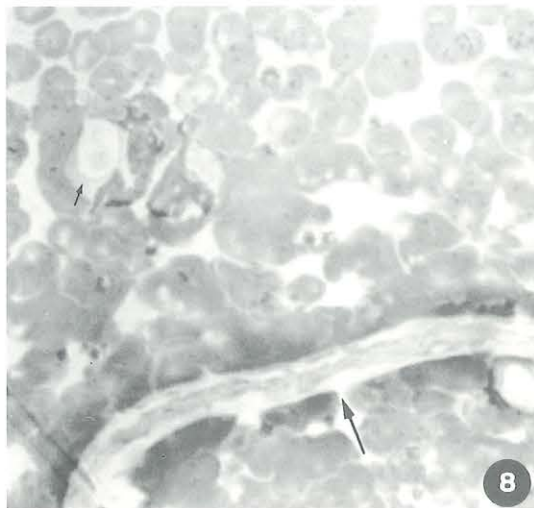


Figura 8.—Detalle de gametocito en neutrófilo (→) y microfilaria (→) de *D. immitis* (Hematoxilina-eosina, Obj. 10X).

encontrándose la GPT en el nivel fisiológico más alto (Tabla I).

El estudio radiográfico manifestó una ligera reacción periosteal a nivel del espacio interóseo, con unas líneas periosteales de cúbito y radio rugosos y algo exuberantes.

C) HEPATOZOONOSIS

En el proceso puro por *H. canis* observamos, igualmente, como cambios hematológicos anemia con disminución de glóbulos rojos y hemoglobina, ligera leucocitosis con neutrofilia y eosinofilia. En suero sanguíneo es apreciable un ligero incremento del nitrógeno ureico y el específico y marcado aumento de las enzimas LDH Y CPK marcadores de la funcionalidad hepática y muscular, encontrándose así mismo tasas ligeramente elevadas de la GOT.

La parasitemia observada fue mínima, siendo muy escasos los gametocitos observados (Fig. 1).

D) HEPATOZOONOSIS + BASESIOSIS

El último caso diagnosticado corresponde a un perro Pastor Alemán de unos cinco meses de edad, con una parasitación mixta por *Hepatozoon* y *Babesia canis*. Los resultados hematológicos son similares a los procesos anteriores, siendo las enzimas que reflejan la funcionalidad hepática, y sobre todo muscular, las más alteradas, como se puede observar por el incremento de GOT, LDH y CPK.

DISCUSIÓN

En función de los datos obtenidos queremos señalar diversos aspectos relacionados con esta enfermedad.

En primer lugar apuntar que la hepatozoonosis es un proceso usual en los perros de jaurías de Extremadura donde es frecuente la presentación de su vector: *Rhipicephalus sanguineus*, tal y como señala García *et al.* (14).

Comprobamos la mayor frecuencia de diagnóstico de *H. canis* cuando éste se en-

cuentra asociado a otros procesos parasitarios, al igual que Rioux *et al.* (13), Elías y Homans (6) y Harmelin *et al.* (12).

Los casos estudiados denotan la existencia de cursos de tipo subclínico, los cuales crean estados de portador inaparente de difícil diagnóstico, y que únicamente en casos con exacerbada sintomatología, o bien por la presencia de otros patógenos, se llega a su diagnóstico.

Sin embargo, parasitaciones puras por *H. canis* van a dar lugar a síntomas, tales como anorexia, letargia, emaciación, dificultad locomotriz o conjuntivitis mucopurulenta, que son los más relevantes y coinciden con los observados por numerosos autores (15, 16, 17, 18). Los resultados analíticos muestran anemia, disminución de la concentración de hemoglobina, leucocitosis neutrofílica y eosinofílica al igual que los autores anteriores.

En ocasiones, los estudios radiográficos manifiestan una ligera reacción periosteal a nivel de espacio interóseo, al igual que señalan Craig *et al.* (15) y Gossett *et al.* (11).

Lo más significativo de esta parasitación pura son las alteraciones en las enzimas que reflejan la funcionalidad hepática y muscular, estando incrementados la GOT, LDH y CPK, por lo que las alteraciones en las enzimas hepáticas y musculares nos pueden inducir al diagnóstico de esta enfermedad. También observamos que otros parámetros séricos, como urea y proteínas totales, están aumentados en un 5% o más y la creatinina está disminuida en torno al 5%.

Es importante, ante el diagnóstico de una hepatozoonosis, realizar diagnósticos paralelos para la búsqueda de otros agentes productores de enfermedad. Así, en nuestro caso, procedimos a la búsqueda de filáridos, *babesias* y *leishmanias* por ser éstas muy frecuentes en nuestra zona.

La realización de una analítica complementaria y exploración exhaustiva nos demostraría qué síntomas son propios de la enfermedad y cuáles son de las enfermedades a los que se asocia.

Así, en la parasitación mixta por *Hepatozoon*, *Leishmania* y *Dirofilaria*, encontramos alteraciones en parámetros hemáticos y séricos que son más debido a *Leishmania* que a la hepatozoonosis como tal, entre ellos destacamos el proceso anémico tan marcado, proteinuria, la elevadísima tasa de creatinina, el *test* de formogelificación positivo, la hipoalbuminemia y la hiperglobulinemia.

Lo más relevante de esta enfermedad es el carácter oportunista de la misma, así como el aumento de los parámetros séricos GOT, LDH y CPK, la anemia, disminución en la concentración de hemoglobina y la leucocitosis neutrofílica.

BIBLIOGRAFÍA

- (1) SILVA LEITAO (1945): *Hepatozoon canis* James, 1905. 1.^a Memoria. *An. Inst. Med. Trop.* 2: 217-226.
- (2) JOYEUX, C.; SAUTET, J.; CABASSU, J. (1937): Presence de l'*Hepatozoon canis* James chez des chiens de Marseille. *Bull. Soc. Path. Exot.* 30: 680.
- (3) BASILE (1911): L'Hemogregarina *canis* in Italia. *Roma. Rend. Acc. Lincei* (Ser. 5), XX (2): 730-733.
- (4) WENYON, C.M. (1926): Protozoology. Vol. II. Bailliere, Tindall and Cox. Edit. London, pp. 1085-1095.
- (5) NEVEU LEMAIRE, M. (1943): Traite de Protozoologie Médicale et Veterinaire. Vigot Frères, Edit. París, pp. 523-525.
- (6) ELÍAS, E.; HOMANS, P.A. (1988): *Hepatozoon canis* infections in dogs: clinical and haematological findings; treatment. *J. Small Amin. Pract.* 29: 55-62.
- (7) EUZEBY, J. (1987): Protozoologie Médicale Comparée. Vol. II: Myxozoa, Microspora, Acetospora, Apicomplexa. 1: Coccidioses (sensu lato). Edit. Collection Marcel Merieux, Lyon, pp. 462-468.
- (8) LANE, J.R.; KOCAN, A.A. (1983): *Hepatozoon* sp. infections in bobcats. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 183 (11): 1323-1324.
- (9) Mc CULLY, R.M.; BASSON, P.A.; BOGALKE, R.D.; DEVOS, U.; YOUNG, E. (1975): Observations on naturally acquired Hepatozoonosis of wild carnivores and dogs in the Republic of South Africa. *Onderstepoor J. Vet. Res.* 42: 117-134.
- (10) CRAIG, T.H. (1984): Hepatozoonosis. En: Clinical Microbiology and Infections Diseases of the dog and cat. Craig, E.G., Ed. W.B. Saunders Company. Philadelphia, pp. 771-780.
- (11) GOSSETT, K.; GAUNT, S.; AJA, D. (1984): Hepatozoonosis and Ehrlichiosis in a dog. *J. Anim. Hosp. Association* 265-267.

- (12) HARMELIN, A.; DUBEY, J.P.; YAKOBSON, B.; NYSKA, A.; ORGAD, U. (1992): Concurrent *Hepatozoon canis* and *Toxoplasma gondii* infections in a dog. *Vet. Parasitol.* 43: 131-136.
- (13) RIOUX, J.A.; GOLVAN, Y.J.; HOUIN, R. (1964): Une observation d'infestation mixte à *Hepatozoon canis* (James 1905) et *Leishmania canis* chez un chien de Sète (Herauld). *Ann. Parasit.* 39, 2: 131-135.
- (14) GARCÍA, P.; ACEDO, M.C.; LÓPEZ, J.J.; SANCHIA, M.C.; MORILLAS, F. (1990): Identificación de *Hepatozoon canis* (James, 1905) en España. Estudio epidemiológico de una enzootia en la Carolina (Jaén, España). *Invest. Agr.: Prod. Sanid. Anim.* 5 (3): 1990.
- (15) CRAIG, T. M.; SHALLWOOD, J.E.; KNAUER, K.W. (1978): *Hepatozoon canis* infection in dogs: clinical, radiographic and hematologic findings. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 173: 967-972.
- (16) GAUNT, P.S.; GAUNT, S.D.; CRAID, J.M. (1983): Extreme neutrophilic leukocytosis in a dog with hepatozoonosis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 182: 409-410.
- (17) BARTON, C.L.; RUSSO, E.A.; CRAID, J.M.; GREEN, R.W. (1984): Canine hepatozoonosis: a retrospective study of 15 naturally occurring cases. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 125-134.
- (18) ABDULLAHI, S.U.; ADEYANJU, J.B.; ASIEVO, K.A.N.; NWOSU, J.E. (1986): *Hepatozoon canis* infection in dogs: A retrospective study of 117 naturally occurring cases in Northern Nigeria. *Trop. Vet.* 4: 59-66